



**Centro de Investigación en Alimentación
y Desarrollo, A.C.**

**“EFECTO DEL LAVADO Y ADICIÓN DE UN
CRIOPROTECTANTE COMERCIAL SOBRE LA VIDA DE
ANAQUEL DE MINCE DE SUBPRODUCTOS DE TILAPIA
(*Oreochromis niloticus*) ALMACENADO EN
CONGELACIÓN”**

Por:

IBQ. WENDY LIZBETH LIZÁRRAGA MATA

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

HERMOSILLO, SONORA

DICIEMBRE DE 2014

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Wendy Lizbeth Lizárraga Mata, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.



Dra. Celia Olivia García Sifuentes
Director de Tesis



Dra. Susana María Scheuren Acevedo
Asesor



M.C. María Elena Lugo Sánchez
Asesor



M.C. Libertad Zamorano García
Asesor

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) por permitirme formar parte de su programa de estudios de posgrado.

À **Dios** porque con su luz me ha guiado y me ha dado la fortaleza de concluir esta etapa profesional.

A mi directora de tesis **Dra. Celia Olivia García Sifuentes** por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto, compartir sus conocimientos y apoyarme en todo, mil gracias.

A mi comité de tesis **M.C. Libertad Zamorano García, M.C. Ma. Elena Lugo Sánchez y Dra. Susana Ma. Scheuren Acevedo** les agradezco todo el apoyo brindado, mil gracias por compartir sus conocimientos y por su gran disposición para atenderme siempre que lo necesité.

Al Laboratorio de Bioquímica y Calidad de Productos Pesqueros formado por un gran grupo de trabajo **Dr. Ramón Pacheco Aguilar, Dr. Juan Carlos Ramírez Suárez, Dra. Teresa Gollas, Dr. Marcel Martínez, M.C. Guillermina García y M.C. Gisela Carvallo** a todos muchas gracias por sus enseñanzas.

Gracias a **Maricruz Armenta, Brenda Encinas y Aristeo Villalobos** por su valioso apoyo técnico.

Al laboratorio de la **Dra. Ana M. Calderón** por facilitarnos el acceso al uso de su equipo para la realización de las determinaciones de proteína, en especial al **Q.B. René Valenzuela** por su valiosa asesoría.

Al laboratorio de análisis proximal en especial al **M. C. Luis Enrique González** por permitirnos realizar las determinaciones de lípidos y por su valiosa asesoría.

A los miembros del panel sensorial **M. C. Ma. Elena Lugo, M.C. Guillermina García, M.C. Gisela Carvalho, Q.B. Rebeca Esquerro, Q.B. Mónica Villegas, Q.B. Norma García, Q.B. Maria del Carmen Granados, M.C. José Antonio Ponce, Q.B. René Valenzuela** por su disposición en la realización de la evaluación sensorial del presente estudio.

A mis compañeros de laboratorio y equipo lover **Hugo Ramírez, Luis Mora y Andrés Álvarez** por hacer más amenos los días de arduo trabajo. Por apoyarme en esas labores que requerían de su fuerza y empeño. **Aarón Salazar** gracias por el apoyo y los consejos que me diste durante tu estancia en pesqueros.

A mi amigo **Julio César López Romero** por siempre estar al pendiente de como marchaban las cosas.

A mis compañeros de maestría, en especial a **Luisana Guirado, Daniel Wicochea y Christian Gómez** por las largas horas de trabajo en el laboratorio que me permitieron conocerlos más y esos agradables ratos compartidos.

De manera muy especial quiero agradecer a las personitas más especiales e importantes de mi vida **mi familia** por todo el amor y el apoyo que siempre me brindan. Por no dejarme caer cuando las cosas se ponían difíciles y celebrar conmigo los logros obtenidos. Por darme la fortaleza que necesité para estar lejos de ustedes y hacerme sentir que estaban a mi lado, con todo mi corazón les digo mil gracias.

Quiero expresar mi agradecimiento a una personita muy importante en mi vida **Joel Mejía Urquidy**, mil gracias por tu cariño, apoyo y comprensión. Gracias por recordarme que todo es mejor cuando uno sonrío y le hace frente a los momentos difíciles. Gracias por todos los mensajes de cariño y aliento, por siempre tratar de hacerme sonreír y recordarme que no podía desviarme de mi objetivo. Pero sobre todo gracias por ser mi cómplice en todo te quiero tu eres mi amor.

A mis romies **Alejandra Chávez, Jonathan Díaz, Javier Vázquez y Fernando Cuevas** por sopórtame en los buenos y malos ratos mil gracias. Gracias por todo el apoyo que me brindaron durante mi estancia en Hermosillo. También quiero agradecer a mi romie por casi dos meses **Stephanie Navarro** por todo su apoyo moral y laboral, mil gracias.

A mi gran amiwis **Trinidad López** mi compañera de aventuras y locuras, mil gracias por todos los momentos que hemos compartido, por esos agradables cafecitos que nos inspiraban a expresar desde una alegre historia hasta el arte de estudiar la maestría que en ocasiones nos hacía hasta soltar la de cocodrilo. Gracias le doy a Dios por poner en mi camino a personitas como tú te quiero chipi.

No podía faltar un agradecimiento muy especial al grupo de SOPORTE EMOCIONAL formado por dos grandes amigos, colegas y camaradas **Silvia Castañeda y Manuel Maldonado** no cabe duda que el maíz nos unió. Gracias por escucharme, soportarme, aplaudirme y hacer más amenos los días los quiero.

A todas esas personas que pusieron su granito de arena para la realización del presente trabajo les quiero decir muchas gracias.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a **mi familia** que son las personas que me dan la fuerza que me impulsa en todo momento. Gracias por creer en mí y estar a mi lado en las buenas experiencias y en los momentos difíciles de esta etapa de mi vida profesional. Gracias a dios por darme como padres a dos personas maravillosas **Javier de Jesús Lizárraga Apodaca** y **Esther Mata Espinoza** son mi ejemplo a seguir, los amo. Gracias por sus consejos, enseñanzas, lecciones y sobre todo por su amor que me ha guiado en este camino. Este logro es gracias a su ejemplo, apoyo y comprensión desde temprana edad me han inculcado que las cosas se hacen lo mejor que se puede y de manera constante para lograr el éxito en lo que emprendemos. De manera muy especial y con todo mi amor les dedico este trabajo.

A mis hermanos **Esther Graciela Lizárraga Mata** y **José Ricardo Lizárraga Mata** gracias por estar al pendiente de mí y ser mis cómplices en todo momento. Son ejemplo de esfuerzo y dedicación en los proyectos que cada quien ha emprendido. Siempre hacen que los días difíciles sean más amenos con sus pláticas y risas, me transmiten su optimismo y me dan ánimos cuando más lo necesito. Este logro también es de ustedes, los amo niños.

Al miembro más pequeño de esta hermosa y unida familia a la que me enorgullece pertenecer a mi sobrino el niño más guapito **Lennin Amador Lizárraga** que ha llegado a nuestras vidas para llenarnos de alegría y dibujar miles de sonrisas. Con mucho amor esto es para ti Lennin.

Dios los bendiga familia, los amo.

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABLAS	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Pesquería de Tilapia	3
2.1.1 Producción Mundial	3
2.1.2 Producción en México.....	5
2.1.3 Comercialización	7
2.2 Tilapia Nilótica (<i>Oreochromis niloticus</i>)	8
2.3 Subproductos de la Industria Pesquera	10
2.4 Mince.....	12
2.4.1 Procesamiento.....	12
2.4.2 Características Nutricionales	15
2.4.3 Utilización	16
2.5 Factores que Afectan la Vida de Anaquel	18
2.5.1 Oxidación Lipídica	19
2.5.2 Crecimiento Microbiano	21
2.5.3 Manejo Ante y Postmortem.....	23
2.6 Proceso de Congelación	24
2.6.1 Factores que Afectan la Calidad de los Alimentos Congelados.....	27
2.6.2 Utilización de Crioprotectantes en Mince.....	31
III. HIPÓTESIS.....	34
IV. OBJETIVOS	35
4.1 Objetivo General	35
4.2 Objetivos Específicos	35
V. MATERIALES Y MÉTODOS	36
5.1 Obtención de Materia Prima.....	36
5.2 Obtención de Mince	36
5.3 Cálculo de Rendimientos.....	39
5.4 Establecimiento del Tiempo de Congelación del Mince	39
5.5 Evaluación de la Vida de Anaquel.....	40
5.5.1 Evaluación Físicoquímica	40
5.5.1.1 Composición Proximal.....	40

5.5.1.2 Pérdidas por Goteo	40
5.5.1.3 Color.....	40
5.5.1.4 pH.....	41
5.5.1.5 Bases Volátiles Totales.....	41
5.5.1.6 Índice de Peróxidos (IP)	41
5.5.1.7 Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)	42
5.5.2 Evaluación Microbiológica	43
5.5.2.1 Mesófilos Aerobios	43
5.5.2.2 Coliformes Fecales.....	43
5.5.2.3 Staphylococcus aureus	44
5.5.2.4 Salmonella spp.....	44
5.5.2.5 Listeria monocytogenes	45
5.5.3 Evaluación Sensorial	45
5.6 Análisis Estadístico	46
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
6.1 Rendimientos del Proceso de Obtención de Mince	47
6.2 Tiempo de Congelación de Mince de Esqueletos de Tilapia	50
6.3 Evaluación de la Vida de Anaquel de los Mince	54
6.3.1 Cambios Físicoquímicos de los Mince	54
6.3.1.1 Cambios en la composición proximal.....	54
6.3.1.2 Pérdidas por goteo.....	61
6.3.1.3 Cambios de color en los mince	63
6.3.1.4 Cambios en los valores de pH	74
6.3.1.5 Cambios en los valores de bases volátiles totales (BVT-N).....	77
6.3.1.6 Cambios en los valores de índice de peróxidos (IP)	80
6.3.1.7 Cambios en los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	82
6.3.2 Evaluación Microbiológica de los Mince	85
6.3.2.1 Evaluación de los mince sin congelar.....	85
6.3.2.2 Evaluación de los mince durante su almacenamiento.....	85
6.3.3 Evaluación Sensorial de los Mince	93
6.3.3.1 Olor	93
6.3.3.2 Color.....	96
6.3.3.3 Textura	98
VII. CONCLUSIONES.....	101
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	102
ANEXO 1	112
ANEXO 2	113

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura</i>		<i>Página</i>
1	Producción mundial de tilapia periodo 1993-2012.	4
2	Producción de tilapia en México periodo 2002-2012.	6
3	Anatomía externa de la tilapia.	9
4	Diagrama de flujo de procesamiento de mince.	13
5	Curvas de enfriamiento a) agua pura y b) solución acuosa.	25
6	Diagrama de flujo del procesamiento de mince de esqueletos de tilapia.	37
7	Deshuesador mecánico BiBUN, modelo NDX103 (BIBUN corp. Fakuyama, Japón).	48
8	Curvas de congelación de los mince de esqueletos de tilapia obtenidos.	53
9	Pérdidas por goteo en los mince durante su almacenamiento en congelación a -20°C.	62
10	Cambios en los parámetros de color Luminosidad “L” (1) y matiz rojo-verde “a” (2) en minces de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	65
11	Cambios en los parámetros de color matiz amarillo-azul “b” (1) y croma (2) en minces de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	68
12	Cambios en los parámetros de color ángulo de matiz (θ) (1) y diferencia total de color (ΔE) (2) en minces de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	71
13	Percepción o apariencia de color en los minces de esqueletos de tilapia al tiempo 0 y 180 de almacenamiento en congelación.	73

LISTA DE FIGURAS (continuación)

<i>Figura</i>		Página
14	Cambios de pH en los mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	76
15	Cambios en BVT-N en mince de esqueletos de tilapia almacenados a -20°C.	78
16	Valores de formación de peróxidos en los mince de esqueletos de tilapia durante su almacenamiento en congelación a -20°C.	81
17	Cambios en los valores de TBARS en los mince de esqueletos de tilapia durante su almacenamiento a -20°C.	83
18	Recuento de bacterias mesófilas aerobias en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	88
19	Recuento de coliformes fecales en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	91
20	Evaluación sensorial de los cambios en olor en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	94
21	Evaluación sensorial de los cambios en color en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	97
22	Evaluación sensorial de los cambios en textura en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C.	99

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Composición proximal de músculo de tilapia nilótica.	17
2	Tiempos de congelación de los mince de esqueletos de tilapia.	51
3	Composición proximal de los mince durante el almacenamiento en congelación.	60
4	Evaluación microbiológica de los mince sin congelar.	86

RESUMEN

Durante el fileteado de la especie tilapia se obtiene hasta un 70% de subproductos que incluyen esqueletos, cabezas, vísceras y piel. Los esqueletos se pueden aprovechar para la producción de mince. En el presente estudio se evaluó el efecto del lavado (dos lavados sucesivos con agua fría en una relación 1:3 mince/agua) y adición de un crioprotectante comercial (CAFODOS® al 0.1% y ALTESA® al 1.0% diluidos en agua fría) sobre la vida de anaquel (físicoquímica, microbiológica y sensorial) de mince obtenido de esqueletos de tilapia y almacenado en congelación a -20°C por 6 meses. Los tratamientos obtenidos fueron: Mince sin lavar sin crioprotectante, mince sin lavar con crioprotectante, mince lavado sin crioprotectante y mince lavado con crioprotectante. Durante la etapa de lavado se logró remover 91% de lípidos ($p < 0.05$). Además se observó que los minces presentaron estabilidad en la composición proximal durante 6 meses de almacenamiento en congelación ($P > 0.05$). En lo que respecta al color de los minces se observó un aumento en los valores de “L” y “ θ ”, y una disminución en los valores de “a”, “b” y croma por efecto del lavado ($p < 0.05$). Mientras que por efecto del crioprotectante se observó disminución en los valores de “L” y “ θ ” ($p < 0.05$). Se logró una disminución de 59% en los valores de TBARS por efecto del lavado y de 19% por efecto de la adición de crioprotectante ($p < 0.05$). Los análisis microbiológicos evidenciaron una reducción de 0.6 UFC/g log en los conteos de bacterias mesófilas y de 60 NMP/g en coliformes fecales por efecto del lavado ($p < 0.05$), manteniéndose dentro de los límites establecidos por las normas oficiales. De acuerdo a la evaluación sensorial se detectaron cambios ligeros en los atributos de olor, color y textura ($p < 0.05$). Los resultados físicoquímicos, microbiológicos y sensoriales mostraron que el lavado promovió mayor estabilidad en la vida de anaquel de mince de esqueletos de tilapia que el crioprotectante comercial seleccionado, a las concentraciones utilizadas.

Palabras clave: Mince, subproductos de tilapia, lavado, crioprotectante, vida de anaquel.

ABSTRACT

During the tilapia filleting process considerable amounts of by-products are generated including frames, heads, viscera and skin. Frames contain meat that could be used to produce mince. The present study evaluated the effect of washing and the addition of a commercial cryoprotectant (0.1% CAFODOS® and 1.0% ALTESA®) on the shelf life (physicochemical, sensorial and microbiological) of mince, from tilapia by-products stored at -20 °C for 6 months. The treatments were as follow: mince without washing and cryoprotectant, mince whithout washing with cryoprotectant, washed mince with no cryoprotectant and washed mince with cryoprotectant. As a result of the washing phase, 91% of lipids was removed from the mince ($p < 0.05$). The mince proximal composition was stable during the storage time and frozen conditions ($P > 0.05$). The mince color evaluation showed that parameters such as “L” and “θ” increased while the values of “a”, “b” and chroma decreased due to the washing treatment ($p < 0.05$). The washed mince decreased 59% of the TBARS values. The cryoprotectant effect on the mince resulted in a decrease of “L”, “θ” and TBARS values ($p < 0.05$). The microbiological analysis demonstrated a significant reduction on mesophiles count (0.6 CFU/g log) and the fecal coliforms (60 MPN/g) due to the effect of washing treatments ($p < 0.05$), keeping the microbial values under the permitted official limits. The sensory evaluation showed slight changes on the odour, color and texture parameters ($p < 0.05$). Therefore, the physicochemical, microbiological and sensorial results demonstrated that the washing treatment reinforce the shelf life stability of mince from tilapia by-products compared to the cryoprotectant concentrations treatment used in the present study.

Keywords: Mince, tilapia by-products, washing, cryoprotectant, shelf-life

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente la producción de acuicultura juega un rol importante en cubrir la demanda de alimentos a nivel mundial como resultado de la problemática que enfrenta la pesca de captura. Se estima que la acuicultura contribuye en un 40% en la producción pesquera total, en el cual predomina el cultivo de especies de agua dulce, principalmente por la aportación de la tilapia nilótica cultivada en Asia, que está ampliamente distribuida en todo el mundo (FAO, 2012). En México hay distintos programas gubernamentales que promueven el cultivo de esta especie, lo que la ha posicionado en el quinto lugar a nivel nacional, pero de acuerdo a su valor comercial se clasifica en tercer lugar (CONAPESCA, 2012). El filete es uno de los productos que se comercializan a nivel nacional e internacional (FAO, 2011), cuyo procesamiento genera un número importante de productos considerados anteriormente de desecho, pero que actualmente manejamos como co-productos y/o subproductos. En este sentido, el incremento de la producción y demanda de los productos pesqueros genera inevitablemente una gran cantidad de subproductos.

La tilapia posee bajo rendimiento de filete (30-33%) comparado con otras especies de interés comercial, es decir durante el fileteado de esta especie se genera hasta un 70% de subproductos, que en su mayoría son destinados a la producción de harinas, aceites para acuicultura y piensos para ganado (Borderías y Sánchez, 2011; Bechtel, 2003). No obstante; en los países desarrollados como China, el aprovechamiento de los subproductos va encaminado a la obtención de productos de valor agregado, principalmente productos congelados como salchichas, hamburguesas y productos empanados, donde la materia prima principal es el mince de pescado (Villareal, 2009).

Mexico esta en proceso de desarrollo, inovación y aprovechamiento de subproductos de origen acuático, sin embargo las opciones y procesos idóneos para ciertas especies son escasos o no existen. De esta manera, debido a la importancia de generar información que permita el aprovechamiento de los subproductos a partir de tilapia (*Oreochromis niloticus*) el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del lavado y adición de un crioprotectante comercial sobre la vida de anaquel de mince de subproductos de tilapia almacenado en congelación.

II. ANTECEDENTES

2.1 Pesquería de Tilapia

2.1.1 Producción Mundial

La producción mundial de cultivo de especies acuáticas comestibles fue de 59.9 millones de toneladas en 2010, lo cual supuso un aumento de 7.5% con respecto a los 55.7 millones de toneladas de 2009. En el transcurso de medio siglo aproximadamente, la acuicultura ha pasado de ser casi insignificante a equipararse totalmente con la producción pesquera de captura. Desde mediados del decenio de 1990, la acuicultura ha sido el motor de crecimiento de la producción pesquera total, puesto que la producción mundial de la pesca de captura se ha estabilizado. Su contribución a la producción pesquera mundial total aumentó constantemente, pasando de 20.9% en 1995 a 32.4% en 2005 y a 40.3% en 2010 (FAO, 2012).

En acuicultura se utiliza agua dulce y salobre, así como todo el vigor del agua marina como ambiente de cultivo. La producción de peces de agua dulce ha aumentado en los dos últimos decenios, impulsada principalmente por el rápido desarrollo de la tilapia nilótica y otras especies de Egipto. Los principales productores son China, seguido de Egipto, Indonesia, Tailandia y Filipinas (FAO, 2010).

El cultivo de tilapia se está convirtiendo en un sustituto cada vez mayor de las especies tradicionales de músculo blanco (Murthy *et al.*, 2011). De manera que, en los últimos años la producción de tilapia nilótica en el mundo ha ido en aumento (Figura 1), para el 2012 fue aproximadamente 3.1 millones de toneladas (FAO, 2012).

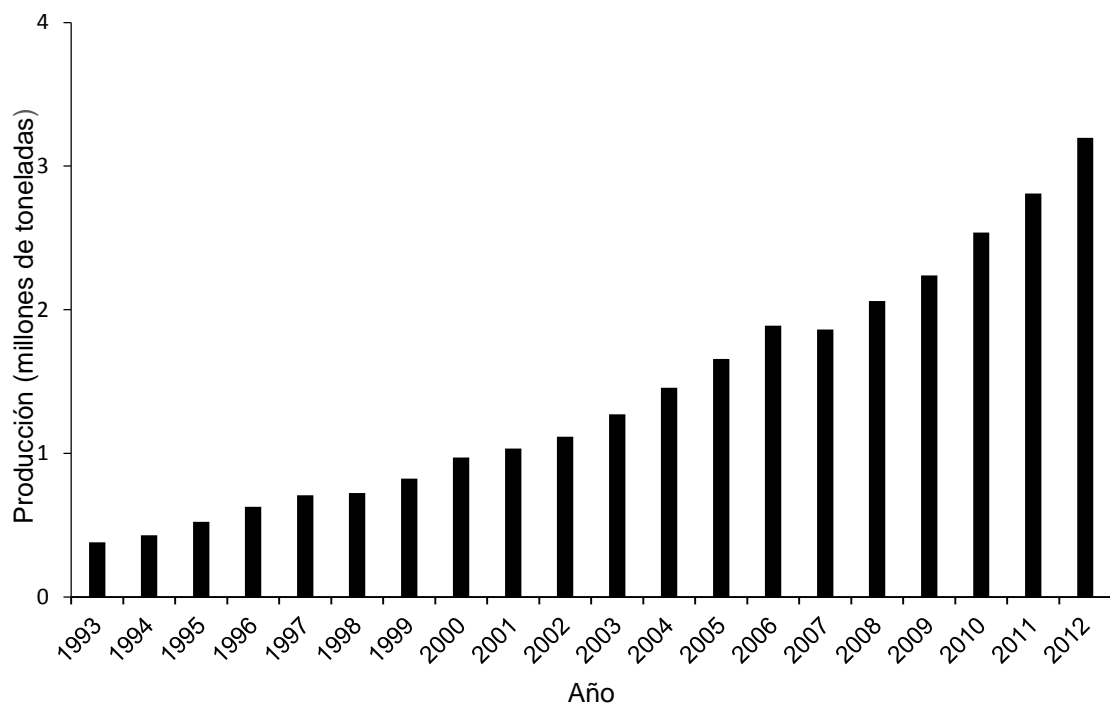


Figura 1. Producción mundial de tilapia periodo 1993-2012 (FAO, 2012).

Actualmente, la tilapia ha llegado a posicionarse como una de las principales especies de cultivo con una producción superior a otras especies de importancia comercial como el bagre y el salmón (Fitzsimmons, 2013). En la última década América Latina presenta una de las tasas más rápidas de crecimiento en el cultivo de tilapia. En 1985 contribuyó con menos del 5% de la producción mundial, en 1995 aumentó aproximadamente a 10% y para el 2005 esta participación aumentó a más del 20%, debido al crecimiento en casi todos los países de Latinoamérica, especialmente en Brasil, Colombia, México, Ecuador, Honduras, Cuba y Costa Rica (Zimmermann, 2010).

2.1.2 Producción en México

En México durante los últimos años la acuicultura ha presentado una tasa de crecimiento promedio de 3.4%. Para el año 2011, su volumen representó el 15.8% de la producción pesquera nacional. En esta actividad, se tiene como principales especies de cultivo camarón, tilapia, ostión y carpa. En lo que respecta a la especie tilapia ésta se sitúa en el quinto lugar de la producción nacional, alcanzando una producción de 71,135 toneladas en 2011. La tasa media de crecimiento anual para el cultivo de tilapia fue 1.4% en el periodo 2002-2012 (Figura 2) mostrando estabilidad en la producción (CONAPESCA, 2011). En 2012 el volumen total en peso vivo fue de 72,779 toneladas lo que representó un incremento en la producción con respecto al año anterior, por lo que actualmente la tilapia se encuentra posicionada en el cuarto lugar de la producción pesquera y en segundo lugar por su valor comercial. México cuenta con 4,623 granjas de tilapia, ubicadas en todo el país, siendo los principales productores Michoacán, Veracruz, Chiapas, Nayarit, Jalisco, Tamaulipas y Sinaloa; entre estos se aporta más del 70 % de la producción nacional (CONAPESCA, 2012).

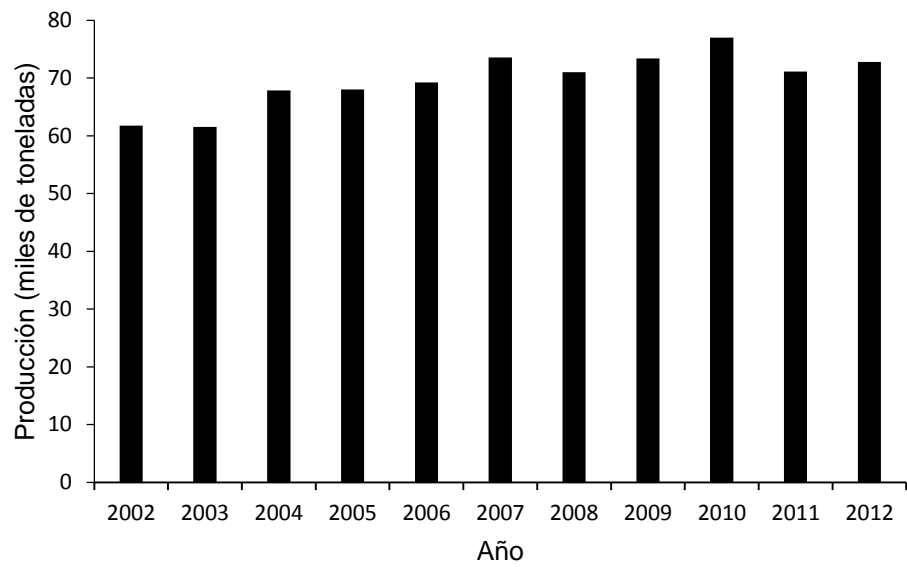


Figura 2. Producción de tilapia en México periodo 2002-2012 (CONAPESCA, 2012).

2.1.3 Comercialización

China, principal productor de tilapia expandió sus exportaciones en 22 000 toneladas de 2010 a 2011, que en su mayoría corresponden a filete y productos empanados. Casi la mitad de las exportaciones chinas de tilapia fueron colocadas en el mercado estadounidense. Estados Unidos es el principal importador de tilapia a nivel mundial, con 215,378 toneladas de tilapia que fueron importadas durante el año 2011, de las cuales China suministro el mayor porcentaje seguido por Taiwán, Indonesia y Ecuador (FAO, 2011).

El sector de la tilapia en América Latina continúa aumentando su competitividad, principalmente por la comercialización de productos frescos e inocuos orientados hacia los grandes mercados de EEUU y la Comunidad Europea; a la par continúa incrementándose la demanda de tilapia en los mercados internos de Brasil, México y Colombia principalmente. La evolución del mercado de la tilapia en México, se ha dirigido a tres segmentos de comercialización con objetivos distintos: 1) tilapia entera fresca, la cual representa la forma de consumo tradicional, 2) tilapia en filete fresca, la cual se destina al consumo de filete o molida para ceviche, y 3) tilapia congelada entera y/o en filete, normalmente de origen importado (Mojica *et al.*, 2010). La demanda de tilapia continúa creciendo tanto en el mercado nacional como en el internacional. Los filetes siguen siendo el factor de mayor crecimiento, mientras que la demanda de pescado entero sigue firme (FAO, 2011).

2.2 Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Tilapia es el nombre común aplicado a un número de especies de peces pertenecientes a la familia *Cichlidae*, es nativa de África y el Medio Oriente, y ha sido distribuida por todo el mundo, convirtiéndose en el segundo grupo de peces comestibles más importantes del mundo. Las tilapias poseen una gama de atributos que los hacen ideales para la acuicultura. Crecen rápidamente, se reproducen con facilidad, se adaptan fácilmente a diversas condiciones ambientales y aceptan los alimentos artificiales sin complicaciones (Duan *et al.*, 2011). Las tilapias que más destacan por su valor comercial son la tilapia nilótica, la tilapia mozámbrica y la tilapia azul. La tilapia nilótica es la más comúnmente utilizada en acuicultura (Ninan *et al.*, 2010).

La anatomía de la tilapia en forma general se presenta en la Figura 3; tiene su cuerpo comprimido, aletas dorsales y anal cortas, aleta caudal redondeada, así como también piel cubierta de escamas, boca ancha y bordeada de labios gruesos (CONAPESCA, 2011b). La profundidad del pedúnculo caudal es igual a su longitud, presenta escamas cicloideas, protuberancia ausente en la superficie dorsal de la boca. La longitud de la quijada superior no muestra dimorfismo sexual. El primer arco branquial tiene entre 27 y 33 filamentos branquiales. La línea lateral se interrumpe. Tiene espinas rígidas y blandas continuas en aleta dorsal; la aleta dorsal con 16 ó 17 espinas y entre 11 y 15 rayos. La aleta anal tiene 3 espinas y 10 u 11 rayos; la aleta caudal trunca. Las aletas pectoral, dorsal y caudal adquieren una coloración rojiza en temporada de desove; y la aleta dorsal con numerosas líneas negras (FAO, 2008).

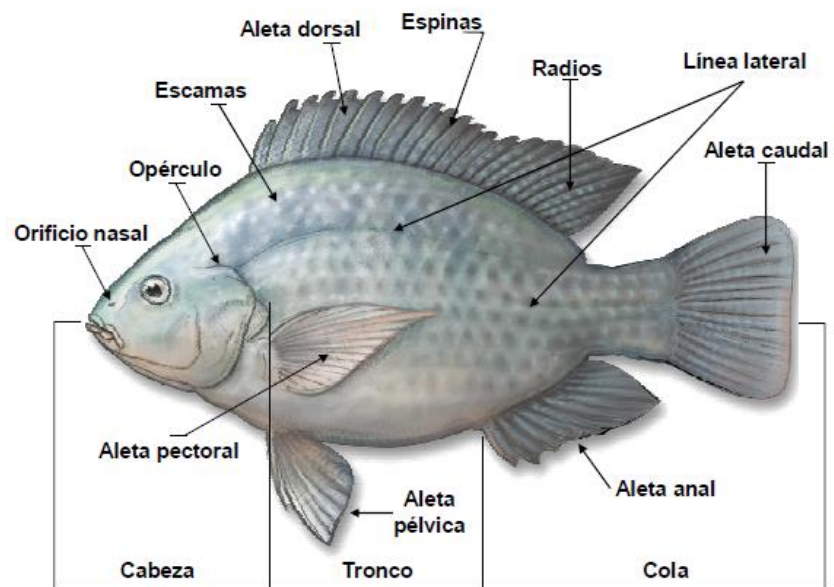


Figura 3. Anatomía externa de la tilapia. Fuente: CONAPESCA (2011b).

2.3 Subproductos de la Industria Pesquera

La industria del procesamiento de productos pesqueros genera una gran cantidad de subproductos. Estos incluyen cabezas, colas, vísceras y columna vertebral y pieles. Los subproductos generados varían con la especie de pescado, su método de captura y el procesamiento utilizado (Shahidi, 2007; Rustad *et al.*, 2011).

La manera en que están constituidos los subproductos es a partir del procesamiento del pescado entero. El músculo constituye los filetes, que se consideran como producto principal, mientras la cabeza, espinas, columna vertebral, recortes, piel y vísceras forman parte de los subproductos, que son los materiales remanentes de la transformación primaria del pescado y que pueden representar alrededor de un 50-65% del peso del pescado entero (Rustad *et al.*, 2011; He *et al.*, 2013).

Es posible clasificar los subproductos de diferentes maneras. Una de las formas utilizadas es clasificarlos de acuerdo a su uso, esto es: para fertilizantes, alimentación animal, consumo humano e ingredientes especiales (Rustad, 2003). La mayor parte de los subproductos del procesamiento de pescado son destinados a la producción de harinas, aceites para acuicultura y piensos para ganado. En general la transformación de subproductos en harinas de pescado y fertilizantes ofrece menor rentabilidad que la obtención de productos de valor agregado (Bechtel, 2003; Shahidi, 2007).

En los países desarrollados, la innovación en el valor agregado converge en los alimentos de fácil preparación y una gama más amplia de productos de alto valor añadido, principalmente frescos, congelados, empanados, ahumados y enlatados para que se comercialicen como comidas de calidad uniformemente preparadas. (FAO, 2012).

Los subproductos también pueden ser divididos en dos grandes grupos: 1) subproductos de fácil degradación, que incluyen fracciones con alta concentración de enzimas endógenas (vísceras y/o sangre). 2) subproductos relativamente estables (cabezas, esqueletos, piel y huesos) (Rustad *et al.*, 2011).

La acuicultura, por otra parte, tiene ventajas sobre la pesca de captura debido a que el cultivo permite un mayor control; por lo tanto, los subproductos obtenidos durante el procesamiento de estas especies con componentes de alta calidad que pueden ser transferidos de manera eficiente para su posterior utilización para consumo humano (Slizyte *et al.*, 2005; Rustad *et al.*, 2011).

Los procesos para la obtención de filetes de pescado fresco, pescado salado y ahumado generan la mayor cantidad de subproductos (50-75%), las conservas de pescado se consideran la segunda fuente de subproductos (30-65%), el procesamiento de crustáceos y moluscos también genera importantes cantidades de subproductos (20-50%) (Ferraro *et al.*, 2010). El fileteado es un método primario de procesamiento de pescado en muchos países alrededor del mundo. Los subproductos que se generan durante una operación típica de fileteado están formados por la estructura del esqueleto, intestinos, y también una gran cantidad de músculo comestible que no puede ser fácilmente retirado de la estructura del pescado por procesos convencionales (Shahidi, 2007).

El rendimiento del fileteado depende de la especie, sexo, talla y la estructura anatómica. Los pescados con cabezas grandes dan rendimientos más bajos. En los peces de cultivo el rendimiento puede verse afectado por condiciones tales como alimentación, temperatura del agua, tipo de estanque, entre otros. De las especies cultivadas comercialmente, tilapia (*Oreochromis sp.*) tiene los rendimientos de filete más bajos (33%) comparado con Salmón (*Salmon salar*) (>50%), bagre (*Ictalurus punctatis*) (>38%) y lubina rayada (*Morone saxatilis*) (>40%) (Borderías y Sánchez-Alonso, 2011).

2.4 Mince

El mince de pescado es definido como carne de pescado separada mecánicamente y no lavada. La fuente original de mince eran los recortes que se obtenían de las operaciones de fileteado manual o mecánica utilizados para consumo humano. Un gran impulso a la utilización de mince vino con el desarrollo de los separadores de carne mecánicos, en los cuales se puede obtener mince a partir de pescado entero, filete y subproductos del fileteado (Hall, 1997; Shahidi, 2007). El mince es primeramente congelado en forma de bloques para ser usado posteriormente en la formulación de alimentos, productos de valor agregado o ingredientes especiales (Majumdar *et al.*, 2012).

Actualmente, los bloques de mince congelados se están produciendo principalmente de especies como abadejo de Alaska (*Theragra chalcogramma*), merluza del Pacífico (*Merluccius productus*), merluza norteamericana (*Merluccius bilinearis*) y merluza argentina (*Merluccius bilinearis*) por la rentabilidad que ofrecen. Otras materias primas potencialmente usadas incluyen salmón rosado y abadejo de Alaska descabezado-eviscerado, recortes y esqueleto abadejo de Alaska, bacalao, bagre, salmón, tilapia, y por ultimo especies de bajo valor comercial como macarela y arenque (Alasalvar *et al.*, 2011).

2.4.1 Procesamiento

El mince se obtiene mediante un proceso de separación mecánica, comúnmente se usa pescado descabezado y eviscerado (H&G) sujeto a deshuesado mecánico, aunque algunos procesos utilizan filetes e inclusive recortes remanentes del fileteado. En la Figura 4 se muestra el diagrama de flujo del mince de pescado. El separador mecánico que consta de una cinta de goma y un tambor perforado, se alimenta en forma continua de la materia prima

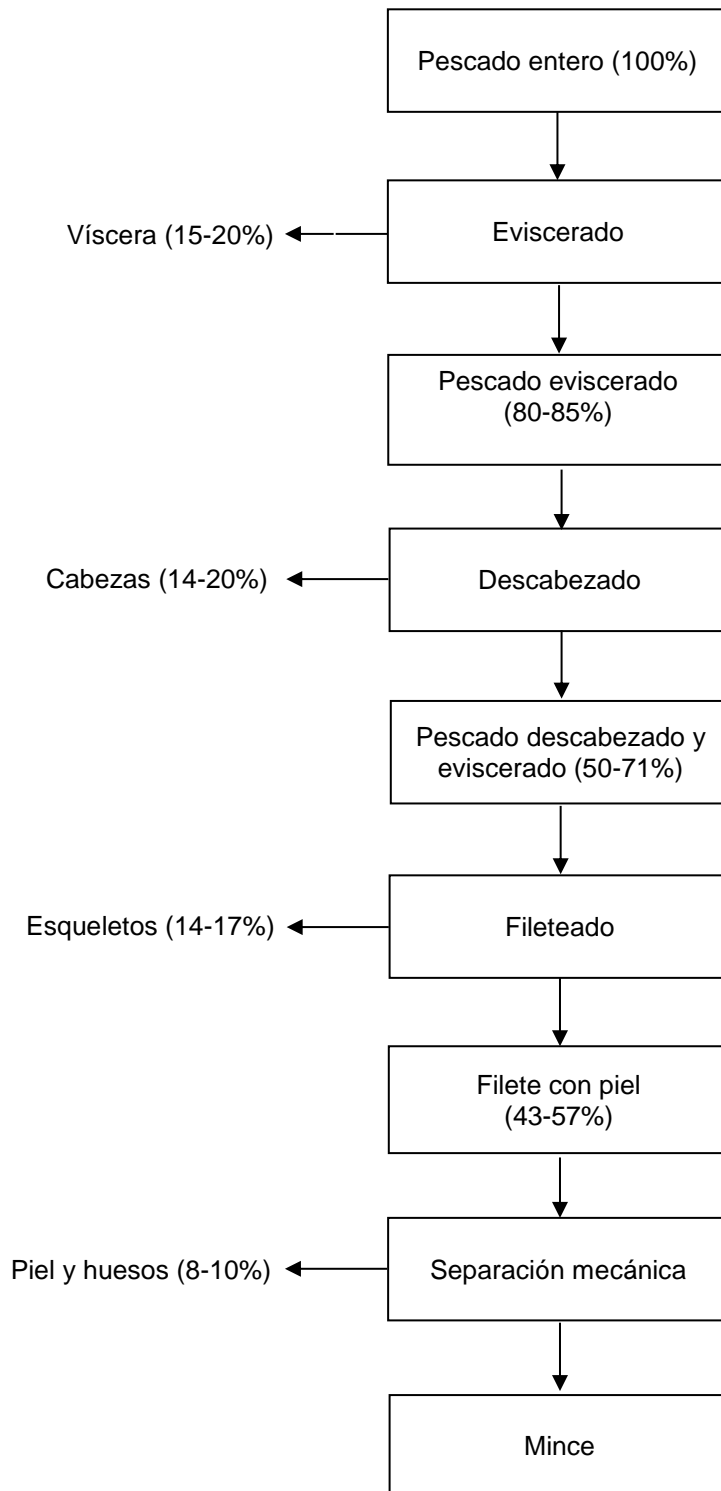


Figura 4. Diagrama de flujo de procesamiento de mince (Shahidi, 2007).

empleada de manera que la superficie de corte esté en contacto con la superficie perforada, el tamaño de las perforaciones de la superficie del separador y la presión sobre la materia prima se ajustarán a las características del producto final que se desea obtener. Las pieles y los huesos permanecen en el exterior del tambor, mientras el mince se recoge desde el interior (Shahidi, 2007).

Los separadores de carne mecánicos cuentan con una amplia gama de diseños, el grupo más común es el que opera en un sistema de correa y tambor perforado, los pescados son introducidos en una tolva y se transfieren mediante una cinta transportadora de goma hacia un tambor con perforaciones de 3 a 5 mm, dependiendo del tamaño de los pescados. El tamaño de 5 mm es probablemente el tamaño más utilizado debido a las características de textura del producto final (Shahidi, 2007). En el diseño de los separadores mecánicos, el tamaño y la textura del pescado, así como las condiciones de operación (tamaño de las perforaciones y la presión utilizada), son factores que afectan la estabilidad y funcionalidad del mince obtenido, lo que repercute en la calidad final de los productos que se elaboren posteriormente.

Algunos otros equipos diseñados son variantes del sistema de correa y tambor perforado en los que se busca mejorar las condiciones de operación para obtener mejores rendimientos y propiedades funcionales y por lo tanto, obtener mince de mayor calidad (Sen, 2005).

Adicionalmente, en algunas investigaciones se ha evaluado la aplicación de la etapa de lavado en el procesamiento de mince como alternativa para mantener su estabilidad. La finalidad del lavado es la remoción de sangre, pigmentos, impurezas, lípidos, proteínas sarcoplásmicas y enzimas, ya que la presencia de dichos componentes pudiera comprometer la estabilidad del mince (Oliveira *et al.*, 2012). Para la especie tilapia nilótica se han aplicado dos lavados en una relación 1:3, mince/agua, mediante la aplicación de estas condiciones se ha

logrado obtener mince de tilapia con estabilidad por 6 meses de almacenamiento en congelación (-16 °C y -18 °C) (Biscalchin-Grýschek *et al.* 2003; Oliveira *et al.*, 2012; Kirschnik *et al.*, 2013).

2.4.2 Características Nutricionales

El pescado se considera una fuente importante de nutrientes para la dieta humana por sus componentes, dentro de los que encontramos proteínas de alta calidad, vitaminas liposolubles, micronutrientes y ácidos grasos poliinsaturados. Actualmente, la fracción lipídica del pescado ha recibido mayor atención, debido a su alto contenido de ácidos grasos Omega-3 que están asociados a la prevención de enfermedades (Majumdar *et al.*, 2012).

La calidad nutritiva de cualquier proteína alimentaria se determina por diversos factores: el contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales, la energía suministrada y la digestibilidad de la proteína. La evaluación de la calidad de las proteínas se puede llevar a cabo en base a la cantidad de aminoácidos limitantes, el contenido de aminoácido limitante afecta la utilización neta de la proteína, y es la relación de la masa de aminoácidos convertidos a proteínas frente a la de aminoácidos suministrados. El índice de calidad nutricional de la proteína de pescado es de 14, resulta superior al índice de proteína de pollo, proteína de leche y proteína de trigo (11, 3.8 y 1.8 respectivamente). El pescado es una fuente de proteína rica en aminoácidos esenciales: lisina, metionina, cisteína, treonina y triptófano. Las propiedades nutricionales del mince de pescado son similares a las de la materia prima utilizada. Por lo tanto, el mince contiene proteínas de alta calidad, además de vitaminas solubles en agua, minerales y grasas (Gonzales y Brown, 2006; Shahidi, 2007; Usydus *et al.*, 2009).

El valor nutricional del músculo puede ser probado en base a su composición proximal, con los porcentajes de referencia para proteína de 15-20% y porcentajes bajos de grasa de 1.0-4.0%. La composición proximal de músculo de tilapia nilótica se muestra en la Tabla 1, se puede observar un porcentaje de proteína de 17.9 y un porcentaje de grasa bajo de 1.0. Un gran número de variables pueden afectar la composición de musculo de pescado, incluyendo especie, tamaño, tiempo de captura y otros factores ambientales. En general, el contenido de proteína en el musculo de pescado varía de 11-24%, valores que hacen referencia a la calidad de la proteína de pescado (Bechtel, 2003; Chaijan, 2011).

Oliveira *et al.* (2010) reportaron la calidad nutricional de salchichas elaboradas a partir de mince de subproductos de fileteado de tilapia; entre los aminoácidos esenciales, la lisina fue el aminoácido que se encontraba en mayor porcentaje 8.07 g/100 g de salchicha y fue mayor al reportado para filete de tilapia 6.07 g/100 g. Los valores de lisina para el músculo de pescado se encuentran en un rango de 7.9 a 9.8 g/100 g. La digestibilidad de las salchichas fue de 90% y un índice químico de 1.06, lo cual indica la buena calidad nutricional de las proteínas del mince de subproductos de tilapia, resaltando la importancia de utilizarlo como materia prima en el desarrollo de nuevos productos.

2.4.3 Utilización

Los productos pesqueros listos para cocinar, con mínimo procesamiento o incluso listos para consumo son cada vez más populares entre los consumidores, debido a un cambio en el estilo de vida, que se dirigen al consumo de alimentos que se preparen en un mínimo tiempo y que sean saludables. Esta nueva tendencia ha provocado el desarrollo de productos que satisfagan las necesidades planteadas (Rosnes *et al.*, 2011; Amagliani *et al.*, 2012).

Tabla 1. Composición proximal de músculo de tilapia nilótica

Componente	%
Humedad	80.1
Proteína	17.9
Grasa	1.0
Ceniza	0.7

Fuente: (Chaijan, 2011).

El mince es una materia prima importante para el desarrollo de productos formulados de valor agregado como salchichas, hamburguesas, albóndigas, productos empanados en diferentes presentaciones como los nuggets. Algunos autores han reportado el uso del mince de tilapia para la elaboración de productos de valor agregado: 1) bolas de pescado que mostraron estabilidad fisicoquímica y sensorial durante 4 meses de almacenamiento en congelación (Ninan *et al.*, 2010), 2) hamburguesas almacenadas a -18°C con estabilidad por 8 meses (Tokur *et al.*, 2004), 3) salchichas (Oliveira *et al.*, 2012), 4) hidrolizados proteicos (Yarnpakdee *et al.*, 2012). Así como también, elaboración de nuggets utilizando mince de macarela (*Scomber scombrus*) o hamburguesas de carpa (*Rhamdia quelen*) (Bochi *et al.*, 2008; Tolasa *et al.*, 2011).

En México en la medida que aumenta la producción de tilapia se registra un incremento mayor en la generación de subproductos del fileteado de la misma, los cuales comúnmente son transformados en harina de pescado (Borderías y Sánchez, 2011; Bechtel, 2003). Mientras que en otros países de Latinoamérica ya se han estandarizado procesos de elaboración de hamburguesas precocidas, jamón, empanizados y enlatados a base de tilapia y/o mince de tilapia. (Villarreal, 2009).

2.5 Factores que Afectan la Vida de Anaquel

El pescado se deteriora durante su procesamiento y almacenamiento postmortem como resultado de diferentes mecanismos como la degradación autolítica, contaminación microbiana y la oxidación lipídica (Majumdar *et al.*, 2012). El almacenamiento en congelación es una de las técnicas más importantes de conservación del músculo de pescado. No obstante, se siguen produciendo cambios fisicoquímicos y estructurales (Leelapongwattana *et al.*, 2005). La alteración del músculo de pescado durante el almacenamiento en congelación incluyen la degradación parcial de las proteínas, interacción de los

lípidos con aminoácidos libres y/o los productos de oxidación con las proteínas y la acción de la enzima oxido de trimetilamina desmetilasa (TMAOasa).

La vida de anaquel del mince depende de muchos factores (intrínsecos y extrínsecos), los más importantes son la especie, hábitat, madurez, enzimas, contenido lipídico, temperatura de almacenamiento, la manipulación previa al procesamiento, el deshuesado mecánico y aditivos utilizados. Algunos estudios sobre la vida de anaquel de mince de diferentes especies tropicales reportan condiciones aceptables hasta por 8 meses a -20°C (Sen, 2005).

El proceso de separación mecánica del pescado desestabiliza los tejidos debido a la ruptura celular y la exposición de los lípidos al oxígeno atmosférico. Lo que provoca activación de las lipoxigenasas y la liberación de la hemoglobina de los eritrocitos que actúa como pro-oxidante, en músculo oscuro, condiciones que hacen al mince un producto susceptible al deterioro (Biscalchin-Grýschek *et al.*, 2003; Tolasa *et al.*, 2011).

2.5.1 Oxidación Lipídica

La oxidación de lípidos ocurre durante el almacenamiento en congelación del pescado, incluso en aquellos con un bajo contenido de grasa, debido a la presencia de un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), y tiene una influencia importante en la aceptabilidad del producto final (Tironi *et al.*, 2010). El mecanismo principal de la oxidación es la autooxidación, un proceso autocatalítico iniciado por la formación de radicales libres en los lípidos insaturados seguido de la reacción con el oxígeno (Giménez *et al.*, 2011).

La oxidación lipídica conduce a la formación de radicales libres e hidroperóxidos, compuestos primarios de la oxidación y se descomponen en alcoholes, aldehídos y cetonas compuestos formados en una segunda fase de oxidación. Dentro de las consecuencias de la formación de los productos

secundarios están el desarrollo de olores desagradables, rancidez y decoloración del músculo de pescado. Por otra parte, los compuestos resultantes de la oxidación pueden modificar las proteínas induciendo el entrecruzamiento, lo que resulta en una modificación de los aminoácidos de interés nutricional y una disminución de la funcionalidad de las proteínas (Eymard *et al.*, 2009).

Majumdar *et al.* (2012) reportaron un incremento en el contenido de ácidos grasos libres en mince de carpa plateada y lo atribuyen a las enzimas hidrolíticas presentes en el mince que permanecen activas durante el almacenamiento en congelación a -18°C . La formación de ácidos grasos libres por sí misma no conduce a una pérdida de las propiedades nutricionales pero su evaluación resulta importante en el sentido que participa en el desarrollo de la rancidez. Se ha propuesto que los ácidos grasos libres tienen un efecto pro-oxidante en la matriz lipídica, lo cual se explica en base a un efecto catalítico del grupo carboxilo en la formación de radicales libres mediante la descomposición de hidroperóxidos.

En un estudio sobre el control de la oxidación lipídica en mince de sardina mediante el uso combinado de concentrado de proteína de leche y ácido cafeico, Tolasa *et al.* (2011) observaron que el grupo control al cual no se le adicionaron antioxidantes presentó valores de TBARS significativamente más altos incluso en la medición al tiempo cero, esto indica que la oxidación ocurre inmediatamente por el proceso mecánico de obtención del mince. De acuerdo con los valores de TBARS obtenidos la adición del concentrado de proteína de leche fue efectivo en la reducción de la oxidación lipídica, mientras que la combinación del concentrado y el ácido cafeico no fue efectiva, lo que podría deberse a la interferencia del concentrado de proteína de leche en la actividad antioxidante del ácido cafeico.

Oliveira *et al.* (2012) evaluaron las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de salchichas elaboradas con mince de subproductos del fileteado de tilapia nilótica y reportaron que las salchichas elaboradas con 100% de mince no lavado presentaron condiciones óptimas. Sin embargo, el estudio no evaluó oxidación lipídica importante en evaluación de la estabilidad del mince, ya que es uno de los factores más importantes relacionados con el deterioro de los productos pesqueros.

2.5.2 Crecimiento Microbiano

El crecimiento microbiológico es otra herramienta importante en la medición de la estabilidad de un producto de origen acuático durante su vida de anaquel. Por otro lado, la inocuidad y estabilidad microbiológica de un producto de origen acuícola provee información importante para establecer las medidas de control necesarias para proteger la salud de los consumidores. Varios factores de riesgo están asociados con los productos de acuicultura e influyen en la seguridad e inocuidad de los alimentos: localización, especie de cultivo, manejo ante y postmortem, hábitos de preparación y consumo de los alimentos entre otros (Amagliani *et al.*, 2012).

Los agentes biológicos implicados en la contaminación de productos acuícolas consisten en bacterias, virus y parásitos, que causan enfermedades, conocidas como enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) que van desde gastroenteritis leve hasta enfermedades que ponen en riesgo la vida de los consumidores. Algunos de estos patógenos están presentes de forma natural en el medio ambiente acuático, mientras que otros pueden ser introducidos por contaminación procedente de heces fecales de otros animales y humanas (Amagliani *et al.*, 2012).

El crecimiento bacteriano es igualmente una de las principales causas de deterioro de pescado. El monitoreo de cierto grupo de bacterias es utilizado como un índice de calidad y que está normado por la legislación local e internacional (NOM, FDA, etc). Un pescado fresco de calidad presenta recuentos de bacterias que varían de 3 a 4 log UFC/g si se trata de la superficie del pescado. En el caso de las branquias los conteos normalmente son en uno o dos órdenes superiores, mientras que en el intestino pueden llegar hasta 9 log UFC/g. La microflora bacteriana produce enzimas que causan proteólisis, desaminación y descarboxilación resultando en una acumulación de metabolitos y pérdida de las sustancias del sabor (Suvanich *et al.*, 2000).

El mince de pescado es más susceptible a la descomposición microbiana que el pescado entero debido a su procesamiento y físicamente por ser un producto que presenta mayor área de superficie, por lo tanto es más vulnerable a los factores ambientales. Dentro de los factores de riesgo implicados en el procesamiento del mince de pescado que pueden comprometer la estabilidad microbiológica podemos mencionar el descabezado, desangrado y eviscerado, las características de la materia prima utilizada, la temperatura y el contenido de humedad del pescado, así como carencia de buenas prácticas de manufactura (BPM) como por ejemplo: la poca higiene del personal a cargo. Como consecuencia hay un incremento en la presencia de microorganismos que afectan la vida de anaquel del mince de pescado (Aberoumand, 2010).

El proceso de separación mecánica del mince de pescado es igualmente un riesgo de contaminación microbiológica. El mince preparado con esqueletos de pescados puede ser de calidad microbiológica inferior al mince obtenido de filetes, recortes y pescado eviscerado, si no se tiene un manejo adecuado (BPM) durante el procesamiento (Sen, 2005). Suvanich *et al.* (2000) determinaron los cambios microbiológicos de mince obtenido de esqueletos de bagre almacenado a -20°C el cual tuvo recuentos iniciales de bacterias aerobias de 5.5 log UFC/g. Sugieren que los altos conteos observados pueden

ser resultado de la contaminación por vísceras durante el proceso y de elevadas temperaturas alcanzadas en la elaboración del mince. Buenas prácticas de manufactura, y mantener la cadena de frío durante el procesamiento y almacenamiento serian clave importante en la calidad de este producto.

2.5.3 Manejo Ante y Postmortem

La especie y el manejo de los peces de cultivo presenta ciertas diferencias con los peces de captura. En los peces de cultivo la primera operación previa al sacrificio de los peces es separarlos cuidadosamente de las jaulas a unidades más pequeñas sin causar más del estrés necesario. En tilapia viva el tratamiento con 6 ppm de ozono en el agua durante una hora prolonga la vida útil por 12 días y mejora las características de calidad durante el almacenamiento a 0°C por 30 días. Esta mejora puede deberse probablemente a una reducción inicial de bacterias de descomposición y prevención de posterior contaminación. Una segunda operación es la inanición durante el tiempo necesario para asegurar que los contenidos intestinales sean evacuados. Si se considera el proceso al cual son destinados los peces, por ejemplo el fileteado, la interrupción de la alimentación de 1 a 3 días previos al sacrificio puede ser un factor determinante en la calidad del producto final, ya que la inanición evita la exposición de los filetes a heces intestinales y enzimas digestivas capaces de causar autólisis postmortem que puede provocar olores y sabores desagradables (Borderías y Sánchez-Alonso, 2011).

Desde el punto de vista bioquímico si el pescado es sacrificado después de una gran actividad muscular, sus células contendrán más ácido láctico por la vía de la respiración anaeróbica, por lo que la síntesis de adenosin trifosfato (ATP) se detiene y el rigor mortis se establece antes como consecuencia de una caída de pH (Borderías y Sánchez-Alonso, 2011). Un manejo inadecuado postmortem

induce a la activación de enzimas endógenas y microbianas que promueve la degradación de proteínas y en consecuencia una pérdida de funcionalidad que limita su utilización (Pacheco-Aguilar *et al.*, 2000).

2.6 Proceso de Congelación

La congelación es uno de los métodos más ampliamente utilizados en la conservación de los alimentos, lo que es atribuido al hecho que los alimentos retienen sus propiedades nutricionales y organolépticas. La congelación implica la remoción de calor del alimento, teniendo como resultado la conversión del agua en hielo y en consecuencia, la reducción de la actividad acuosa. La conservación de los alimentos por congelación ocurre por diversos mecanismos. A temperaturas por debajo de 0°C hay una reducción significativa del crecimiento microbiano debida a la falta de disponibilidad de agua. Las reacciones enzimáticas y de oxidación, que normalmente ocurren en los alimentos también se reducen por la utilización de bajas temperaturas. (Marella y Muthukumarappan, 2013; Singh y Heldman, 2014).

El proceso de congelación inicia cuando un alimento es expuesto a un medio con baja temperatura y pierde calor como resultado de la transferencia de calor desde el alimento hacia el medio que lo rodea. La superficie del alimento experimenta cambios más rápidos que la parte interna del producto, por esta razón las curvas típicas de enfriamiento son medidas empleando termopares situados en el centro térmico del alimento, que es considerado el punto que se enfría más lento y representa también el centro geométrico del alimento (Marella y Muthukumarappan, 2013). Para poder entender el proceso de congelación de los alimentos es necesario conocer sus principios básicos. En la Figura 5 se presentan las curvas de enfriamiento a) agua pura y b) solución acuosa, desde el punto de vista físico los alimentos presentan el comportamiento de una solución acuosa (Blond y Le Meste, 2004; Zaritzky, 2012). El proceso de congelación puede ser dividido en tres etapas:

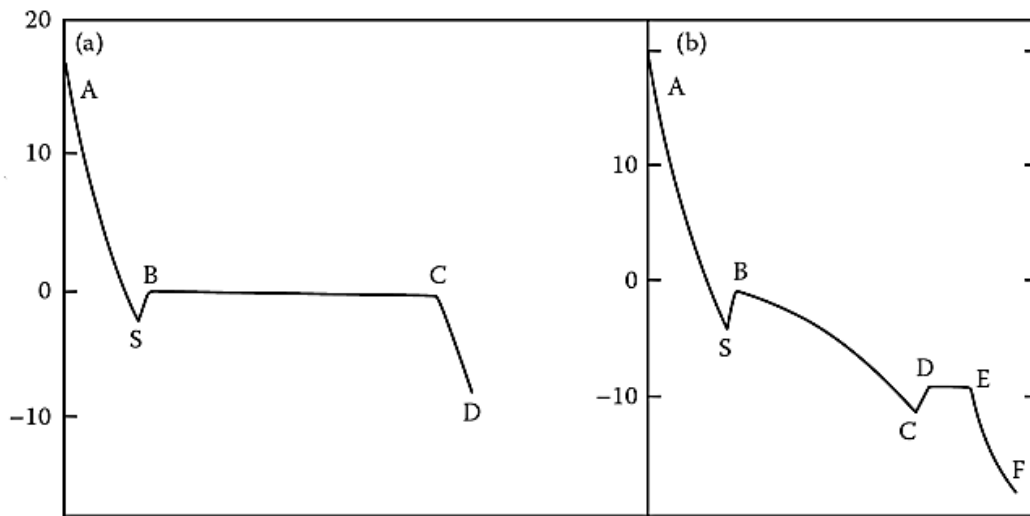


Figura 5. Curvas de enfriamiento a) agua pura y b) solución acuosa. Fuente: Zaritzky (2012).

a) Enfriamiento. En esta etapa el calor sensible es removido del agua pura, por lo tanto, la temperatura comienza a descender de manera lineal desde la temperatura por encima del punto de congelación hasta alcanzar la temperatura por debajo del punto de congelación inicial, se dice que el líquido es subenfriado (A-S). El subenfriamiento es un estado metaestable del líquido en el que puede permanecer por algún tiempo, antes de que inicie la nucleación. Una vez que la nucleación da inicio y se forman los primeros cristales, la temperatura aumentará hasta el punto de congelación (B) debido a la liberación de calor de cristalización. El punto de congelación del agua pura es 0°C (Nesvadba, 2008; Marella y Muthukumarappan, 2013). En el enfriamiento de una solución acuosa al igual que en el agua pura se da un decremento de la temperatura por la remoción del calor sensible. Sin embargo, la temperatura de subenfriamiento (S) y la temperatura del punto de congelación son menores que en el agua pura debido a la presencia de solutos (Walstra, 2003; Zaritzky, 2012).

b) Transición de fase. Una vez que el agua pura alcanza el punto de congelación, la temperatura se mantendrá hasta que se complete el cambio de fase (B-C). La transición de fase implica la remoción de calor latente para la conversión de agua en hielo a través del proceso de cristalización. La cristalización consiste en dos etapas principales; la nucleación y el crecimiento de los cristales. La etapa de nucleación se define como la formación de un nuevo cristal, ya sea en una solución libre de cristales, denominada nucleación primaria, o en presencia de cristales anteriormente formados, definida como nucleación secundaria. Una vez formados los núcleos, el siguiente paso del proceso de cristalización es el crecimiento de los cristales, en el agua pura la meseta formada por los puntos B-C representa el tiempo durante el cual hay crecimiento de los cristales. (Kiani y Sun, 2011; Zaritzky, 2012; Singh y Heldman, 2014).

En una solución acuosa la transición de fase (B-C) implica un incremento gradual en la concentración de solutos y en consecuencia la disminución del punto de congelación, por lo tanto la curva no es horizontal durante la transición de fase, en este caso se puede observar una pendiente negativa. La concentración de solutos aumenta durante el proceso de congelación y eventualmente llega a la temperatura eutéctica, definida como la temperatura más baja a la cual una solución saturada (fase líquida) puede existir en equilibrio con los cristales de hielo (fase sólida). Además, se observa la liberación de calor latente de la cristalización de solutos en el punto C causando un ligero aumento en la temperatura del punto C al punto D. Es en el punto D donde la solución alcanza el equilibrio, y permanece con composición y temperatura constante de D a E (Zaritzky, 2012)

c) Reducción a la temperatura de almacenamiento. Es el periodo durante el cual la temperatura es reducida desde la temperatura donde toda el agua congelable es convertida a hielo hasta la temperatura final predeterminada, debido a la remoción de calor sensible (C-D para el agua pura y E-F en una solución acuosa). Es la etapa más rápida ya que toda el agua ha sido anteriormente transformada en hielo, y el hielo se enfría a una tasa aproximadamente el doble que la del agua, debido a que tiene un calor específico menor. En los alimentos la temperatura final puede ser considerada cuando se alcanza la temperatura de almacenamiento en cualquier parte del producto, incluyendo el centro térmico. Con la finalidad de mantener una optima calidad, los alimentos son generalmente almacenados a temperaturas de -20°C y -25°C . (Persson y Løndahl, 1993; Walstra, 2003; Blond y Lee, 2004).

2.6.1 Factores que Afectan la Calidad de los Alimentos Congelados

Los factores principales que afectan la calidad de los alimentos durante su almacenamiento en congelación pueden ser divididos en dos categorías: los factores asociados al procesamiento o cambios físicos y los relacionados con la

composición del alimento. Los primeros, son en su mayoría relacionados con la formación de cristales de hielo; mientras que los segundos se deben a las reacciones químicas que pueden afectar características organolépticas como el sabor, textura, apariencia, color y las propiedades nutricionales (Blond y Le Meste, 2004).

La formación de cristales de hielo puede afectar la calidad de los alimentos congelados, se ha observado que una congelación lenta provoca la formación de pocos núcleos, por lo tanto los cristales crecen a un tamaño relativamente grande, y en consecuencia, se presentan daños significativos en la estructura del alimento. Por otro lado, en proceso de congelación rápida se forman un mayor número de núcleos y, en consecuencia un mayor número de cristales de menor tamaño que se distribuyen uniformemente en el alimento, por lo tanto, menor daño en el producto congelado (Jiang y Lee, 2004; Kiani y Sun, 2011).

Los cambios físicos que se pueden producir durante el almacenamiento en congelación son migración de humedad, quemaduras por frío y recristalización (Zaritzky, 2012)

a) Migración de humedad. Un cambio físico importante que se produce durante el almacenamiento en congelación es la migración de humedad. Los gradientes de temperatura dentro del alimento congelado provocan la reubicación del agua como consecuencia de la dependencia de la presión de vapor del agua con la temperatura. El vapor de agua tiende a transferirse a regiones con menor presión de vapor, este es el fenómeno por el cual la humedad tiende a acumularse en la superficie del alimento. La migración de agua puede causar cambios en el contenido de agua o cambios en el tamaño de los cristales, lo que conocemos como recristalización. Dentro de la migración con cambios en el contenido de agua se encuentran las pérdidas de agua por deshidratación que se deben a la diferencia de temperatura entre el alimento congelado y el medio que lo rodea (Blond y Le Meste, 2004; Zaritzky, 2012).

b) Quemaduras por frío. Otro defecto importante en los alimentos almacenados en congelación que tiene lugar en superficies deshidratadas son las quemaduras por frío y ocurre cuando los alimentos son almacenados sin empaques adecuados. Las quemaduras por frío se manifiestan en superficies deshidratadas opacas en las que aparecen manchas de color marrón. Son causadas por la sublimación de hielo en la región superficial de los tejidos, donde la presión de vapor de hielo es mayor que la presión de vapor del ambiente (Blond y Le Meste, 2004; Zaritzky, 2012; Marella y Muthukumarappan, 2013). De acuerdo con la NMX-529-SCFI-2004 las quemaduras en pulpa de pescado congelada se refieren a la pérdida de humedad en los tejidos superficiales, que dan lugar a sequedad, porosidad y oxidación. Las quemaduras por frío dan lugar al aumento de la superficie de contacto del oxígeno provocando un incremento en las reacciones de oxidación ocasionando alteraciones irreversibles en el color, textura y sabor.

c) Recristalización. Uno de los objetivos de calidad de la industria del procesamiento de alimentos congelados es lograr la formación de cristales de hielo homogéneos y conservarlos durante el almacenamiento. Sin embargo, los cristales pequeños son termodinámicamente menos estables, es por ello que durante el almacenamiento el tamaño y por lo tanto el número de los cristales, forma y orientación tiende a cambiar. Este proceso se conoce como recristalización y básicamente implica que pequeños cristales desaparezcan, cristales grandes crezcan y fusión de cristales se lleven a cabo. La recristalización con el crecimiento de los cristales comprime las fibras musculares e incluso rompe la estructura celular, resultando en un mayor contacto de catalizadores de la oxidación como la mioglobina con los componentes del músculo (Blond y Le Meste, 2004; Zaritzky, 2012).

Con respecto a los cambios que suceden durante el almacenamiento en congelación, relacionados a la composición de los alimentos; durante el proceso de congelación la mayoría de las reacciones químicas y bioquímicas que tienen

lugar en los tejidos animales son detenidas. Sin embargo, algunas sólo son reducidas. La temperatura y la concentración de solutos en la fase no congelada son los principales factores responsables de los cambios químicos. La concentración de solutos por congelación provoca que los reactantes estén más próximos provocando el incremento de las velocidades de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. Además, la ruptura de organelos celulares y en consecuencia la liberación de componentes celulares también afecta las velocidades de reacción. Las reacciones que normalmente no ocurren cuando las células están intactas pueden ocurrir como consecuencia del proceso de congelación por ejemplo hidrólisis enzimática (Zaritzky, 2012).

Los cambios químicos más importantes que ocurren durante la congelación y el almacenamiento en congelación son: 1) reacciones enzimáticas, 2) desnaturalización y oxidación de proteínas, 3) oxidación de lípidos y 4) degradación de proteínas. De los diferentes tipos de reacciones las que tiene mayor efecto en la degradación de los alimentos congelados son la desnaturalización de proteínas y la oxidación de lípidos (Zaritzky, 2012).

a) Desnaturalización de proteínas. Largos periodos de almacenamiento en congelación producen efectos en la estructura y propiedades químicas de las proteínas del músculo, una de las reacciones que más prevalecen es el complejo fenómeno llamado desnaturalización de proteínas. La pérdida de funcionalidad, particularmente la capacidad de formación de gel en el pescado congelado, se debe a la desnaturalización y agregación de proteínas miofibrilares. Los factores que se han asociado a la desnaturalización de proteínas durante la congelación y el almacenamiento en congelación son la concentración de sales, pH, fuerza iónica, tensión superficial y cambios físicos como la formación de cristales de hielo y la deshidratación (Reynolds *et al.*, 2002).

La desnaturalización de proteínas es dependiente de la temperatura, el máximo grado de desnaturalización se observa en el rango de temperatura de -1 a -5°C y se considera es minimizada a temperaturas de almacenamiento más frías (Jiang y Lee, 2004).

b) Oxidación de lípidos. Otras de las reacciones químicas generalmente asociada con la calidad de los alimentos almacenados en congelación es la oxidación lipídica, considerada una de las mayores causas de reducción de la vida de anaquel en congelación. Durante la oxidación lipídica se presenta la formación de radicales libres e hidroperóxidos, considerados productos primarios que pueden descomponerse en otros compuestos secundarios como alcoholes, aldehídos y cetonas. Estos compuestos secundarios son los responsables del desarrollo de sabor y olor a rancio, cambios en el color y cambios en textura. Adicionalmente los compuestos secundarios pueden reaccionar con proteínas y provocar el entrecruzamiento, y en consecuencia afectar la funcionalidad (Jiang y Lee, 2004; Eymard *et al.*, 2009).

2.6.2 Utilización de Crioprotectantes en Mince

Los crioprotectantes son compuestos que mejoran la calidad y extienden la vida de anaquel de los alimentos congelados. El término crioprotectantes incluye todos los compuestos que ayudan a prevenir el deterioro de los alimentos durante su almacenamiento en congelación, generalmente son de bajo peso molecular (MacDonald y Lanier, 1997). Estos pueden ser azúcares, polialcoholes, aminoácidos, ácidos carboxílicos y polifosfatos. Sin embargo, muchos de los compuestos son de limitada utilización por sus altos costos, no son permitidos por regulaciones o por sus efectos negativos en las características sensoriales. Aunque el crioprotectante más comúnmente utilizado es la mezcla 1:1 sucrosa/sorbitol y tripolifosfato de sodio, estos presentan una principal desventaja que es la impartición de sabor dulce, lo que

ha llevado a la búsqueda de otros crioprotectantes (Herrera y Mackie, 2004; Zhou *et al.*, 2006; Nopianti *et al.*, 2012; Sanjuás *et al.*, 2012).

Los ácidos orgánicos ofrecen algunas ventajas para su utilización dentro de las cuales encontramos que son fácilmente adquiridos, de bajo valor comercial y pueden ser utilizados en un amplio rango de concentración por ser declarados como seguros. Los ácidos ascórbico y cítrico, así como sus sales son queladores de metales y acidulantes en los sistemas biológicos además de actuar como sinergistas con otros antioxidantes. Los ácidos orgánicos como acético, ascórbico, láctico y cítrico, así como sus sales se han empleado en el control del crecimiento microbiano, para mejorar atributos sensoriales y extender la vida de anaquel en varios alimentos incluyendo carne, aceite de pescado, mince y filetes (Sallam, 2006; Sanjuás *et al.*, 2011; Kilinc *et al.*, 2009).

El modo de acción en el control microbiano se debe a que son solubles en lípidos en su forma no disociada, lo que les permite cruzar de la membrana al citoplasma microbiano, donde los ácidos tienden a disociarse y liberar iones hidrógeno en particular aniones. Como resultado los microorganismos son forzados a exportar el exceso de iones para mantener el pH fisiológico por lo que su crecimiento se ve limitado. Por otra parte, el exceso de iones hidrógeno en el citoplasma puede causar condiciones de pH en las que no es posible el crecimiento microbiano (Sanjuás *et al.*, 2012). Las sales acetato, lactato y citrato de sodio poseen actividad antimicrobiana contra los patógenos *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Clostridium botulinum* (Kilinc *et al.*, 2009).

En la estabilización de mince durante la congelación, es importante la adición de antioxidantes para prevenir la oxidación de lípidos, proceso que es iniciado por la presencia de oxígeno, enzimas y metales. En este sentido, la adición de un compuesto quelante que secuestre los iones de hierro que se encuentran en la mioglobina puede promover la estabilidad del mince. Entre los quelantes los

más comúnmente utilizados son el ácido cítrico y los fosfatos. El ácido cítrico y sus sales actúan como quelantes, además se ha demostrado que pueden actuar como sinergista con antioxidantes primarios y son eliminadores de oxígeno durante el procesamiento de mince (Badii y Howell, 2002; Aubourg *et al.*, 2004; Medina *et al.*, 2009; Tolasa *et al.*, 2011)

Además de la oxidación lipídica el mince congelado presenta problemas asociados con la pérdida de funcionalidad, por lo tanto el crioprotectante empleado debe poseer las características para prevenir ambos problemas asociados al almacenamiento en congelación del mince. Kuwahara y Konno (2010), evaluaron el efecto de la adición de citrato de sodio en mince de carpa para prevenir la desnaturalización de la miosina durante la congelación y encontraron que este compuesto previene la desnaturalización y el efecto fue similar cuando se emplea sorbitol, que es el crioprotectante más comúnmente utilizado. Por lo que sugieren que el citrato de sodio se podría utilizar en sustitución de los crioprotectantes que imparten sabor dulce.

En este sentido se continua con la búsqueda y empleo de sustancias crioprotectantes que ayuden a prevenir el deterioro de los alimentos durante su congelación y al mismo tiempo, no impartan sabores u olores indeseables.

III. HIPÓTESIS

El lavado y la adición de un crioprotectante comercial promoverá mayor estabilidad en la vida de anaquel de mince obtenido de subproductos de fileteado de tilapia almacenado en congelación.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto del lavado y la adición de un crioprotectante comercial sobre la vida de anaquel de mince obtenido de subproductos de fileteado de tilapia almacenado en congelación.

4.2 Objetivos Específicos

1. Establecer el tiempo de congelación de mince obtenido de subproductos de fileteado de tilapia.
2. Evaluar cambios fisicoquímicos de mince obtenido de subproductos de fileteado de tilapia, con y sin lavado previo y, con y sin adición de un crioprotectante comercial, así como la vida de anaquel (fisicoquímica, microbiológica y sensorial) durante su almacenamiento en congelación.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Obtención de Materia Prima

En el presente estudio se utilizaron esqueletos de tilapia (*Oreochromis niloticus*) obtenidos por un productor local, fueron colocados en hieleras y trasladados a las instalaciones de CIAD A.C., en un periodo no mayor a las 24 horas posterior al fileteado. A su recepción los esqueletos fueron lavados a presión con agua fría potable, utilizando una adecuación de una hidrolavadora Karcher Modelo K. 2.250 conectada a un contenedor rotoplas. Se eliminaron manualmente las vísceras remanentes del proceso de fileteado, se enjuagaron y se empacaron en bolsas plásticas, se colocaron en capas hielo-esqueletos empacados-hielo dentro de hieleras y se almacenaron en una cámara de 0 °C para su posterior procesamiento (tiempo transcurrido no mayor a 24 h).

5.2 Obtención de Mince

La Figura 6 muestra el diagrama de flujo del proceso de obtención de mince de esqueletos de tilapia. El mince se obtuvo a partir de los esqueletos previamente lavados y enfriados a 1 °C. Para obtener el músculo, para el mince sin lavar y lavado los esqueletos se procesaron en un deshuesador mecánico Bibun, modelo NDX103 (Bidun corp. Fakuyama, Japón) con perforaciones de 4 mm, el mince obtenido se dividió en dos lotes para usarse sin y con lavado, con el fin de evaluar los diferentes tratamientos propuestos en el presente experimento y alcanzar los objetivos planteados. Los tratamientos fueron: a) mince sin lavar sin crioprotectante (MSLSC), b) mince sin lavar con crioprotectante (MSLCC), c)

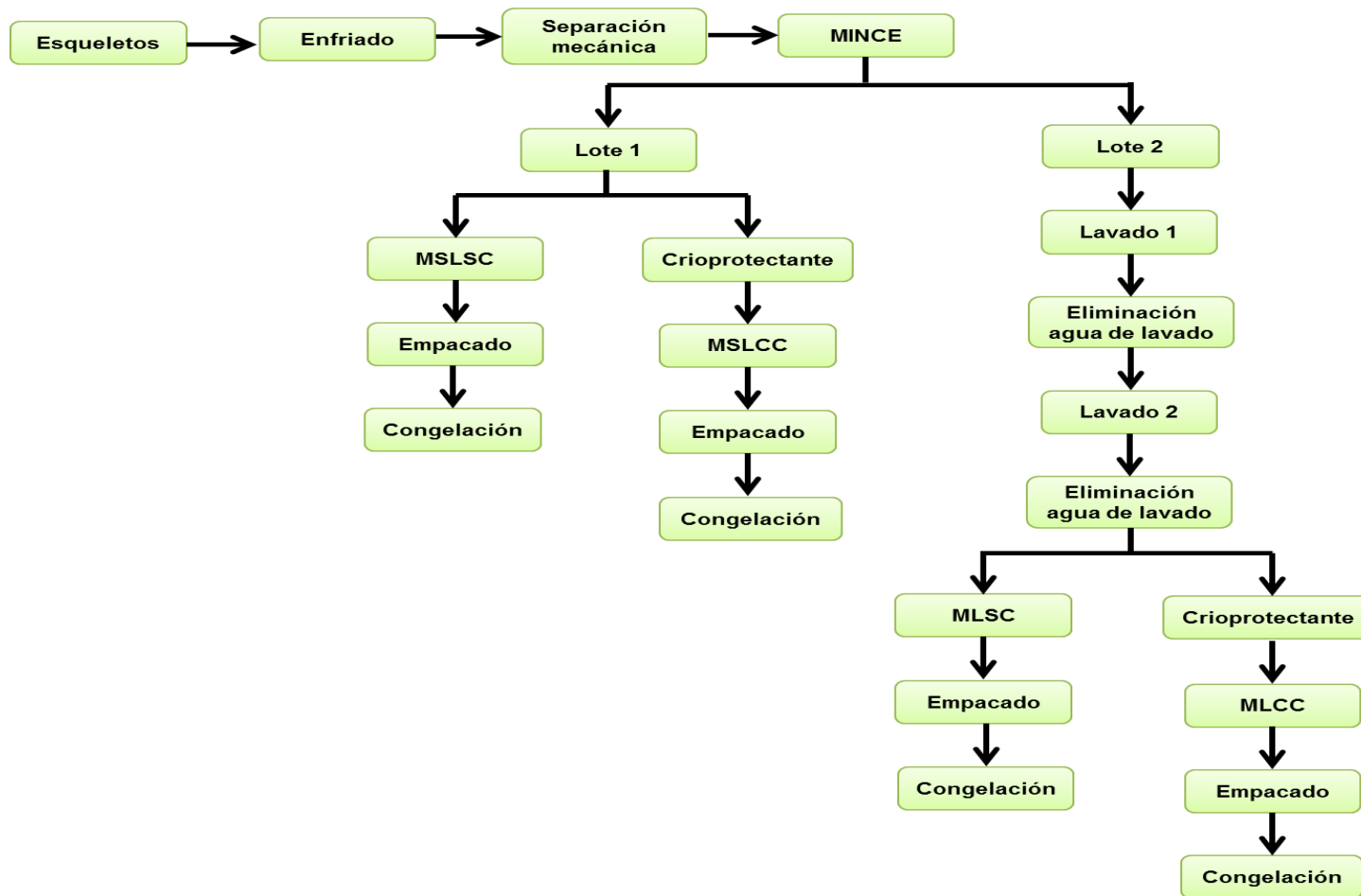


Figura 6. Diagrama de flujo del procesamiento de mince de esqueletos de tilapia. MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

mince lavado sin crioprotectante (MLSC) y d) mince lavado con crioprotectante (MLCC).

El primer lote de mince elaborado se utilizó para los tratamientos sin lavar, el tratamiento MSLSC se empacó en porciones de 1 kg y 4 cm de espesor en bolsas para vacío Prime Source® y se colocó en charolas camaroneras de 28X21X5 cm de polietileno de alta densidad para su congelación. Para el tratamiento MLCC, se incorporó manualmente una mezcla de crioprotectante (CAFODOS® al 0.1% y ALTESA® al 1.0% diluidos en agua fría) a base de ácido cítrico y citrato de sodio. Posteriormente, se empacó y se sometió a congelación.

Al segundo lote de mince obtenido se le aplicó la etapa de lavado, la cual consistió en dos lavados sucesivos con agua fría (0 a 4 °C) en una relación 1:3 (mince/agua), agitación por 2 minutos y reposo de 5 minutos (Oliveira *et al.*, 2012). Durante cada lavado se removieron los lípidos flotantes de manera manual utilizando un colador. Después de los dos lavados, el mince lavado se recuperó removiendo el agua de lavado con un secador de tornillo (Bibun, modelo SR1000 Bidun corp. Fakuyama, Japón). Una vez obtenido el mince lavado se procedió a preparar el MLSC y MLCC. El tratamiento MLSC fue directamente empacado y sometido a congelación, para el tratamiento MLCC se incorporó la mezcla de crioprotectante anteriormente descrita, se empacó y se sometió a congelación.

Todos los tratamientos fueron congelados y almacenados en una cámara de congelación a -20 °C por 6 meses, para su evaluación fisicoquímica, microbiológica y sensorial en los días 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180.

5.3 Cálculo de Rendimientos

Durante el procesamiento se determinó el peso total de esqueletos procesados, el peso total de mince sin lavar y el peso total de mince lavado. Los rendimientos de obtención de mince (RM) y de mince lavado (RL) fueron calculados en base a las siguientes fórmulas:

$$RM = \frac{\text{Peso mince recuperado}}{\text{Peso total de esqueletos}} \times 100$$

$$RL = \frac{\text{Peso mince lavado}}{\text{Peso mince sin lavar}} \times 100$$

5.4 Establecimiento del Tiempo de Congelación del Mince

Para establecer el tiempo de congelación del mince de cada uno de los tratamientos, se elaboró una curva de enfriamiento. El experimento se llevó a cabo en una cámara de congelación por convección de -20 °C ubicada en la planta piloto del Laboratorio de Bioquímica y Calidad de Productos Pesqueros. Se monitoreo la temperatura a través del tiempo utilizando termopares de penetración tipo T marca Ecklund Harrison de cobre constantan para alimentos conectados a un indicador de temperatura para termopares marca Barnant modelo 690 0000. El termopar fue colocado en el centro térmico del bloque de mince y se introdujo a la cámara de congelación. Se registró la temperatura cada 5 minutos hasta que el centro térmico del bloque alcanzó los -18 °C. Se colocaron termopares en diferentes puntos de la cámara para el registro de la temperatura ambiente, los datos se analizaron mediante el software DATE TRACE.

5.5 Evaluación de la Vida de Anaquel

5.5.1 Evaluación Fisicoquímica

5.5.1.1 Composición Proximal. Se evaluó la composición proximal de los mince durante su almacenamiento en congelación. El contenido de humedad por el método de estufa a 105 °C durante 8 horas, según el método 950.46 (AOAC, 2000), las determinaciones del contenido proteico y nitrógeno no proteico (NNP) se efectuaron por el método microkjeldahl (Woyewoda et al., 1986) y utilizando un analizador de nitrógeno total Leco FP-528 (Leco Corp., Saint Joseph, MI). El factor de conversión a proteína fue 6.25 y se reportó como contenido de proteína bruta. El porcentaje de lípidos se determinó por Goldfish (método 920.39) y la cuantificación de cenizas de acuerdo al método 938.08 (AOAC, 2000).

5.5.1.2 Pérdidas por Goteo. Las pérdidas por goteo del efecto de la descongelación en los mince. Dos bloques de mince de 3.5X2.5 cm fueron colocados en bolsas ziploc™ y se registró el peso inicial. Posteriormente fueron descongelados por el método de inmersión en agua descrito en el CODEX STAN 165-1989. Una vez descongelados los bloques de mince se les retiró el agua que perdían durante la descongelación y se registró nuevamente el peso. Los resultados fueron reportados como porcentaje de pérdida de peso.

5.5.1.3 Color. El color se midió en los mince descongelados en un baño de agua a $21 \pm 1.5^\circ\text{C}$ (MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC) mediante el sistema de colorimetría de triestímulo para lo cual se utilizó un colorímetro portátil Konica Minolta CR-400 (Konica Minolta, Inc., Japón). Se obtuvieron los valores de “L” (luminosidad), “a” (matiz rojo-verde) y “b” (matiz amarillo-azul). A partir de estos valores, se calculó el ángulo de matiz ($\theta = b/a$), el croma $(a^2 + b^2)^{1/2}$ y la diferencia total de color $(\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2})$.

5.5.1.4 pH. Se determinó mediante la técnica de inmersión en solución 1:9 (mince:agua destilada), la muestra se homogenizó a una velocidad de 13,500 rpm utilizando un homogenizador de tejidos Ultra-Turrax modelo T-25 Basic (IKA® Works, Inc. Wilmington, NC, USA) de acuerdo con la metodología descrita por Woyewoda et al. (1996). Se utilizó un potenciómetro 240 Corning (Acton, MA, USA).

5.5.1.5 Bases Volátiles Totales. Las bases volátiles totales se determinaron a los mince congelados mediante el método de óxido de magnesio (Woyewoda et al., 1986). Diez g de mince fueron colocados en un matraz de destilación con 300 mL de agua destilada, una vez homogenizada la muestra se adicionaron 2 g de óxido de magnesio, 20 perlas de vidrio y 10 mL de agente antiespumante. Posteriormente la solución se destiló, las bases volátiles se colectaron en un matraz con ácido bórico al 2%. Finalmente la solución de ácido bórico fue titulada con ácido sulfúrico 0.05 N, las bases volátiles se expresaron como miligramos de nitrógeno por 100 g de muestra.

5.5.1.6 Índice de Peróxidos (IP). El índice de peróxidos se determinó en un extracto lipídico de los mince sin tratamiento de lavado (MSLSC y MSLCC) de acuerdo a lo descrito por Woyewoda *et al.* (1986). Para la extracción de lípidos se colocó 50 g de mince congelado en un vaso de licuadora y se adicionó metanol-cloroformo en proporción 2:1. Posteriormente se homogenizó por 2 min, al homogenizado se le adicionó cloroformo-agua en proporción 1:1 y se homogenizó nuevamente por 1 min. La muestra se centrifugó a 4 °C por 10 min a 2830 x g utilizando una centrifuga refrigerada BECKMAN modelo J2-21 (Beckman Instruments Inc. Palo alto, CA). El sobrenadante fue transferido a un embudo de separación cubierto de la luz, se removió el aire mediante flujo de nitrógeno por 30 s y se dejó en reposo para posteriormente recuperar la fase cloroformo con los lípidos. Finalmente, el cloroformo se evaporó mediante el uso de un rotavapor BÜCHI modelo RE-121 y a vacío para recuperar los lípidos.

Se pesaron de 2 a 5 g de lípidos extraídos en un matraz de 250 mL y se agregaron 30 mL de una solución ácido acético- cloroformo (3:2 v/v) para disolverlos. Posteriormente se adicionó 1 mL de una solución de yoduro de potasio (KI) y se agitó por 2 min con el uso de una placa cerámica modelo C-MAG HS 4 (IKA® Works, Inc. Wilmington, NC, USA). Finalmente se adicionó 1 mL del indicador almidón y se tituló con tiosulfato de sodio 0.01 N. El índice de peróxidos fue expresado como miliequivalentes de peróxido por kg de lípidos.

5.5.1.7 Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS). Las sustancias reactivas al ácido tibarbitúrico se determinaron en muestras congeladas de cada tratamiento en base a la metodología propuesta por Woyewoda *et al.* (1986), la cual se basa en la reacción del malonaldehído con 2-tiobarbitúrico (TBA) y formación de un complejo color rojo con absorbancia a 538 nm. Para la determinación se homogenizaron 10 g de muestra con 35 mL de agua destilada por 2 min. El homogenizado se colocó en un matraz de fondo plano de 500 mL que contenía 100 mg de propil galato y EDTA para controlar la oxidación y perlas de ebullición, llevándose hasta un peso de 105 g con agua destilada. Se adicionaron 95 mL de HCl 4 N e inmediatamente el matraz se conectó al equipo de destilación. La muestra se destiló hasta recuperar 50 mL de destilado. Posteriormente se colocaron 5 mL del destilado en un tubo de ensayo y se mezclaron con 5 mL de TBARS, el tubo se calentó en un baño de agua por 45 min, tiempo en el cual se sumergían los tubos en hielo para detener la reacción. Se determinó la absorbancia a una longitud de onda de 538 nm utilizando un espectrómetro de UV-visible (CARY 50 BIO VARIAN).

Los valores de TBARS se calcularon empleando una curva estándar de 1, 1, 3,3-tetraetoxipropano (TEP), se tomaron alícuotas de 0, 0.4, 0.8, 1.0, 1.2, 1.6 y 2 mL equivalentes a 0, 0.004, 0.008, 0.01, 0.012, 0.016 y 0.02 moles de TEP, respectivamente. Las TBARS presentes en la muestra se calcularon como los μ moles de malonaldehído o sustancias que reaccionan con TBA por kilogramo de muestra.

5.5.2 Evaluación Microbiológica

El análisis microbiológico se llevó a cabo primeramente en los tratamientos sin congelar (MSLSC, MSLCC, MLCC, MLSC) para determinar la calidad inicial de los mince. Para ello, se evaluó la presencia de mesófilos aerobios, coliformes fecales y los patógenos *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*. La evaluación de los mince continuó posteriormente durante el tiempo de almacenamiento en congelación, tomando muestras los días 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 180. Para este caso, solamente se evaluaron mesófilos aerobios y coliformes fecales. Finalmente, se evaluó como medida de control la ausencia de los patógenos anteriormente descritos al concluir el periodo de almacenamiento. La preparación de la muestra consistió en colocar 25 g de mince en una bolsa estéril y adicionar 225 mL de búfer de fosfatos. Esta muestra se utilizó para realizar las diluciones correspondientes (NOM-110-SSA1-1994) usadas en las pruebas.

5.5.2.1 Mesófilos Aerobios. La determinación de mesófilos aerobios se realizó empleando el método para la cuenta de bacterias aerobias en placa descrito en la NOM-092-SSA1-1994. Se inoculó 1 mL de las diluciones realizadas durante la preparación de la muestra en cajas Petri, posteriormente se adicionaron 15 mL del medio Agar Triptona con extracto de levadura y se mezcló para lograr la incorporación del inóculo. Finalmente, las placas se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24-48±2 h. Concluido el tiempo de incubación se contaron las placas con un intervalo de 25 a 250 colonias. Los resultados fueron expresados como UFC/g.

5.5.2.2 Coliformes Fecales. El análisis de coliformes se llevó a cabo por la técnica del número más probable (NMP) en cumplimiento de la NOM-112-SSA1-1994. El procedimiento consistió en inocular 1 mL de las diluciones correspondientes en una serie de 3 tubos con campanas de fermentación y 10 mL caldo Lauril sulfato como medio presumtivo. Posteriormente, los tubos se

incubaron a 35 °C por 24±2 h para observar si había turbidez y formación de gas, en el caso contrario se prolongaba la incubación hasta las 48±2 h. Esta primera parte de la técnica corresponde a una prueba presuntiva de la presencia de coliformes. En los tubos que se observó formación de gas se procedió a la prueba confirmativa; se tomó una azada de cada uno de los tubos que dieron positivo y se sembró en igual número de tubos con 10 mL caldo lactosa bilis verde brillante y caldo para *Escherichia coli* (EC), posteriormente fueron incubados bajo la mismas condiciones de la prueba presuntiva y este último se incubó a 42 °C durante 24±2 h. Los resultados fueron expresados como el NMP correspondiente a la serie de tubos que dieron positivo (turbidez y gas) en la prueba confirmativa.

5.5.2.3 *Staphylococcus aureus*. Para determinar la presencia de *Staphylococcus aureus* se siguió el método establecido en la NOM-115-SSA1-1994. Se depositó 0.1 mL de la dilución sobre la superficie de la placa con agar Baird-Parker y se distribuyó empleando varillas descartables en ángulo recto, manteniendo las placas en posición hasta que el inóculo fue absorbido por el agar. Las placas se incubaron en posición invertida a 35 °C por 45 a 48 h. Después de la incubación, se seleccionaron las placas que tenían entre 15 y 150 colonias típicas (negras, circulares, brillantes con un halo claro alrededor de la colonia). Para confirmar las colonias de *Staphylococcus aureus* se realizó la prueba de coagulasa. Los resultados se reportaron como UFC/g.

5.5.2.4 *Salmonella spp.* La detección de *Salmonella spp.* se realizó en base al procedimiento establecido en la NOM-114-SSA1-1994. Para lo cual primeramente se llevó a cabo la etapa de preenriquecimiento. La muestra de 25 g se homogenizó con 225 mL de caldo lactosado para incubarse a 35 °C por 24±2 h. Del cultivo de preenriquecimiento se transfirió 1 mL en tubos que contenían 10 mL de caldo de tetrionato estos fueron incubados a 35 °C por 18 a 24 h. Posterior a la incubación con medios de enriquecimiento selectivos, se estrió en placas con agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y agar verde brillante

(VB), las placas fueron incubadas a 35 °C por 24±2 h. Finalizado el tiempo de incubación se investigaron las colonias típicas de *Salmonella* las cuales son: colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. Los resultados fueron reportados como presencia o ausencia de *Salmonella* en 25 g de muestra.

5.2.2.5 *Listeria monocytogenes*. Se determinó de acuerdo a la NOM-143-SSA1-1995, el procedimiento de enriquecimiento consistió en tomar 25 g de muestra y homogenizarla con 225 mL de UVM Caldo Selectivo De Enriquecimiento para *Listeria* a 35 °C por 24 h. Posterior a la incubación se resembró en medio base Oxford (OXA) y se incubó a 35 °C por 24 h. Una vez concluido el periodo de incubación se investigaron colonias negras con halo negro. Los resultados fueron reportados como presencia o ausencia de *Listeria* en 25 g de muestra.

5.5.3 Evaluación Sensorial

Se realizó un análisis descriptivo para evaluar los cambios durante el almacenamiento en una escala de 16 puntos, donde 0= sin cambios (atributos característicos de la muestra) y 16= cambios extremos (cambios por contaminación o descomposición) de acuerdo a la NMX-F-529-2004, los parámetros evaluados fueron olor, color y textura (ANEXO). La muestra fue cortada en bloques de 3.5X2.5 cm, colocada dentro de bolsas ziplocTM y descongelada por el método de inmersión en agua descrito en el CODEX STAN 165-1989, el cual consistió en que los bloques de mince fueron colocados en un baño de agua a 21±1.5°C hasta su descongelación. La evaluación fue realizada por un grupo de 8 panelistas semi-entrenados (personal de CIAD, A.C.).

5.6 Análisis Estadístico

Se utilizó un diseño completo al azar con un arreglo factorial 2X2X8, donde los factores fueron X1 (lavado), X2 (crioprotectantes) y X3 (tiempo) en los niveles con y sin para los factores lavado y crioprotectantes y días de almacenamiento para el factor tiempo. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza por modelos lineales generales. Cuando se encontró efecto de los factores, se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey-Kramer con un nivel de significancia del 5% utilizando el programa estadístico NCSS (2007).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Rendimientos del Proceso de Obtención de Mince

Es importante mencionar que previo al proceso de obtención de mince se realizaron estudios preliminares para establecer las mejores condiciones de rendimiento, para lo cual se evaluaron tres condiciones de operación: 1) Se estableció la tensión de la correa mediante el ajuste de los rodillos principal y medio que dan soporte a la misma. 2) Se ajustó el rodillo principal hasta lograr la posición más cercana entre el tambor y la correa, y 3) Ajuste del rodillo medio a una posición intermedia que se refiere a la tensión ejercida sobre los esqueletos y una velocidad de 19.5 rpm de acuerdo a las especificaciones del equipo (Figura 7).

Con las condiciones seleccionadas no se obtuvo el mayor rendimiento pero estas condiciones fueron las que se utilizaron porque al obtener un rendimiento >50% se observó una mayor extracción de lípidos y estos podrían comprometer la estabilidad del mince, por lo tanto se seleccionaron las condiciones de operación para obtener un rendimiento de 47%.

El rendimiento obtenido durante el proceso de separación mecánica del mince de esqueletos de tilapia del presente estudio fue de 45%, obteniéndose solo un 2% de mermas en el equipo utilizado. El rendimiento de mince obtenido en el presente estudio fue similar a lo reportado por Wendel *et al.* (2008) para mince de esqueletos de merluza (44%), así como 14 y 13% menor a lo reportado para mince de esqueletos de tilapia (Kirschnik *et al.*, 2013) y mince de esqueletos de bagre (Suvanich *et al.*, 2000) respectivamente.

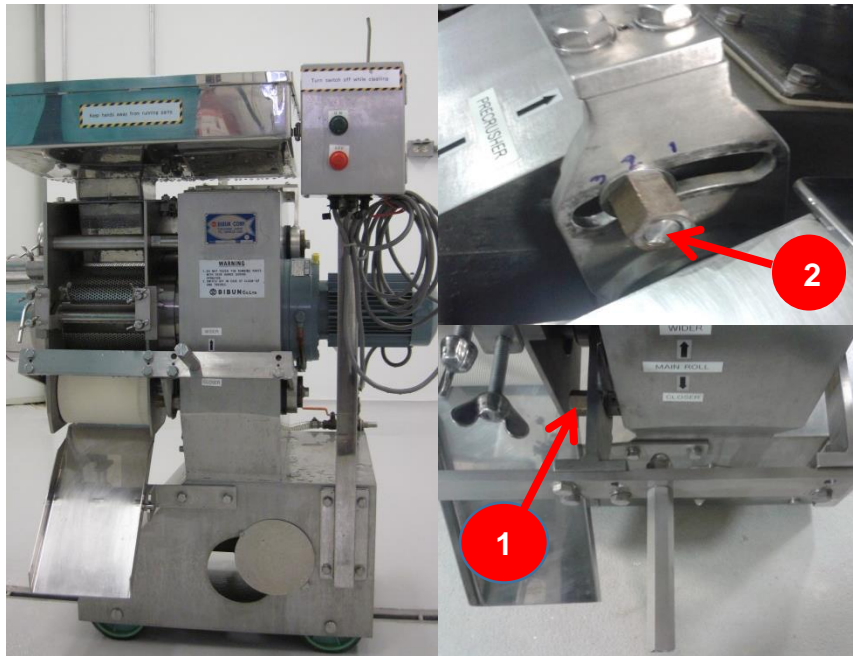


Figura 7. Deshuesador mecánico BIBUN, modelo NDX103 (BIBUN corp. Fakuyama, Japón). 1) tornillo para ajuste de rodillo principal y 2) tornillo para ajuste de rodillo medio.

Complementando lo anterior, Wendel *et al.* (2008) obtuvieron un 43% como máximo extraíble de carne de merluza mediante separación manual, con ello también sugirieron que con rendimientos superiores a 43%, otros componentes no deseables pueden ser extraídos, por ejemplo huesos, piel, vísceras y alto contenido de lípidos.

El rendimiento de mince puede variar con la especie, madurez, tamaño, condiciones de almacenamiento, así como el tratamiento previo a la separación mecánica (Suvanich *et al.*, 2000). Al respecto, Biscalchin-Grýschek *et al.* (2003) evaluaron la influencia de la especie y talla sobre los rendimientos obtenidos en la separación mecánica de pescado entero, los autores obtuvieron un rendimiento 9% menor en tilapia nilótica comparado con tilapia roja y no observaron diferencias en los rendimientos entre tilapias de 200 a 500 g. Por otra parte, Wendel *et al.* (2008) reportaron el rendimiento de esqueletos sin tratamiento previo a la separación mecánica y esqueletos que fueron lavados antes del deshuesado obteniendo en estos últimos un rendimiento 4% menor. Esta disminución podría ser debida a la remoción de vísceras remanentes del proceso de filetado durante el lavado de los esqueletos.

Otro factor que afecta el rendimiento de procesamiento de mince es el equipo utilizado, en el caso de los equipos BIBUN (Figura 7) que son separadores del tipo correa y tambor el rendimiento se ve afectado por el tamaño de las perforaciones, la velocidad y tensión de la correa (Suvanich *et al.*, 2000).

Otro punto importante a considerar para el cálculo de rendimientos fue durante el proceso de lavado del mince. El rendimiento obtenido durante esta etapa fue de 62%, que resultó inferior a lo reportado por Kirschnik *et al.* (2013) quien obtuvo 85%; sin embargo el método de separación sólido-líquido que utilizaron los autores fue manual, para lo cual emplearon una tela de nylon donde el tamaño de poro fue muy estrecho y no definido. A diferencia de dichos autores, en el presente estudio la separación sólido-líquido fue realizada a nivel piloto

empleando un secador de tornillo con un tamaño de poro de 1 mm probablemente más abierto que el de la tela de nylon. Por ello, en el presente experimento se presentó también 16% de mermas. Este alto porcentaje de mermas puede ser disminuido en un proceso continuo, proceso normal a nivel semi-industrial e industrial, donde no se justifica la utilización de una separación manual.

6.2 Tiempo de Congelación de Mince de Esqueletos de Tilapia

De acuerdo con la norma oficial NOM-027-SSA1-1993, la congelación es un método de conservación físico que se efectúa con equipo apropiado para lograr una reducción de la temperatura a -18°C en el centro térmico de un producto determinado; ésto, con la finalidad de reducir los cambios enzimáticos y microbiológicos. Por lo anterior es importante conocer el tiempo de congelación de mince de subproductos de tilapia.

Los tiempos de congelación de los diferentes tratamientos se muestran en la Tabla 2. Se observó que en todos los tratamientos se alcanzó la temperatura en el centro térmico (-18°C) en menos de 14 horas. Además, se observó que el tratamiento MSLSC tardó 2.5 horas más en llegar a la temperatura de -18°C que el tratamiento MLSC, lo cual se debe a que el MSLSC tiene mayor contenido de solutos y por lo tanto, un efecto en el descenso de temperatura debido al fenómeno de concentración de solutos que tiene lugar durante el proceso de congelación.

Según Kolbe (2005), la congelación de bloques de pescado debe ser suficientemente rápida (horas vs días) para evitar la desnaturalización o daño de los bloques por la formación de cristales grandes. En un estudio en surimi de merzula, se evaluaron diferentes métodos de congelación, observándose que luego de 18 meses de almacenamiento el surimi con el método de congelación lenta (tiempo de congelación 24 horas) presentó menor textura que el surimi

Tabla 2. Tiempos de congelación de los minces de esqueletos de tilapia

Tratamiento	Temperatura de entrada (°C)	Tiempo de congelación (h)	Velocidad de congelación (°C/h)
MSLSC	8.1	13.5	1.9
MSLCC	9.8	12.7	2.2
MLSC	9.2	11.0	2.4
MLCC	9.9	12.0	2.3

Los valores corresponden a la media (n=2). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante

congelado con el método convencional (tiempo de congelación 2 horas). Los dos bloques de surimi presentaban marcadas diferencias visuales, los bloques congelados con el método convencional tenían una apariencia blanca sin cristales de hielo visibles. Por otro lado los bloques sometidos a congelación lenta tenían una apariencia más oscura y mostraron cristales de hielo visibles (Reynolds *et al.*, 2002).

La congelación lenta resulta en la formación de grandes cristales de hielo extracelular, entre más grandes sean los cristales mayor es el riesgo de daños en la textura. Además, provocan disrupción de la membrana y en consecuencia, se acelera la actividad de enzimas y aumenta la tasa de oxidación durante el almacenamiento después de la descongelación; siendo las principales causas de deterioro en los alimentos congelados. Una vez congelado el alimento es necesario evitar las fluctuaciones de temperatura ya que conducen a la formación de cristales grandes a través del proceso de recristalización lo que compromete la estabilidad del alimento congelado (Alizadeh *et al.*, 2007; Sampels, 2014).

Lakshmisha *et al.* (2008) evaluaron el efecto del tiempo de congelación en la calidad de macarela durante el almacenamiento en congelación por 3 meses, observaron una reducción de 23% en los valores de TBA con el empleo de un congelador de placas lo que atribuyeron a que el tiempo de congelación fue 51% menor que al utilizar un congelador de túnel.

En la Figura 8 se muestra la curva de congelación de los tratamientos evaluados. Durante la primera etapa de congelación se presentó una disminución de la temperatura de entrada de los bloques hasta alcanzar $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temperatura de inicio de la congelación del músculo de pescado). Posteriormente se dió una reducción de temperatura a través de la zona máxima de nucleación (de $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$). En los tratamientos MSLSC y MLSC esta zona tomó menos de 70 minutos por lo que puede considerarse una

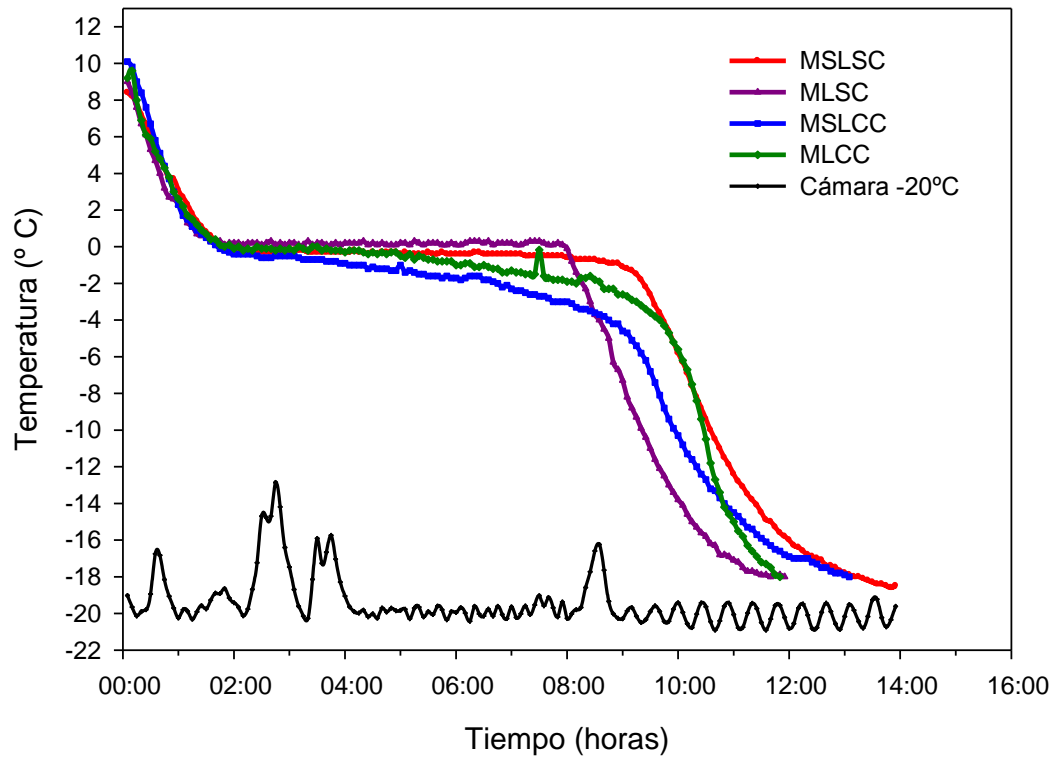


Figura 8. Curvas de congelación de los mince de esqueletos de tilapia obtenidos. MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

congelación adecuada (Carvajal *et al.*, 2005). Finalmente, se dió la reducción de temperatura hasta llegar a la temperatura de -18 °C. La temperatura de -18 °C se ha establecido como la temperatura más alta a la cual se pueden almacenar los alimentos congelados y que ha mostrado tener degradación lenta en la calidad de los mismos (Blond y Le Meste, 2004).

6.3 Evaluación de la Vida de Anaquel de los Mince

6.3.1 Cambios Fisicoquímicos de los Mince

6.3.1.1 Cambios en la composición proximal. En la Tabla 3 se muestra la composición proximal de los mince de esqueletos de tilapia durante su almacenamiento en congelación. Los valores de humedad en el tiempo 0 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fueron 71.3 ± 1.6 , 89.5 ± 0.1 , 76.3 ± 3.5 y 90.6 ± 0.7 % respectivamente. El contenido de humedad en MSLSC es inferior al reportado en otros mince, como son de 74.3% en mince de esqueletos de bagre (Hoke *et al.*, 2000), 76.1% en mince de músculo de arenque (Joaquin *et al.*, 2008), 77.1% en mince de músculo de macarela (Eymard *et al.*, 2009), 78.7% en mince de músculo de carpa (Majumdar *et al.*, 2012), y de 81.3 y 78.3% mince de esqueletos de tilapia (Oliveira *et al.*, 2012; Kirschnik *et al.*, 2013).

Sin embargo, en los mince anteriormente mencionados el contenido de lípidos es inferior al obtenido en el presente estudio, los lípidos son el componente que muestra mayor variación entre especies de pescado. Las fluctuaciones en el contenido de lípidos son compensadas por cambios en el contenido de humedad y se ha demostrado la existencia de una relación inversa entre estos dos componentes (Sayas *et al.*, 2009). Aún así, los valores obtenidos en el presente estudio se encuentran dentro del rango de humedad para músculo de tilapia 70-80% (Biscalchin-Grýschek *et al.* 2003).

En el presente estudio, se observó un aumento de 16% de humedad por efecto del lavado y de 1.9% por efecto de la adición del crioprotectante ($p < 0.05$). Biscalchin-Grýschek *et al.* (2003) sugirieron que el aumento en la humedad después del lavado puede ser debido a la eliminación de proteínas sarcoplásmicas y, en consecuencia se podría presentar un aumento en la concentración de proteínas miofibrilares incrementando con esto la capacidad de retención de agua. Además, durante el lavado se eliminan lípidos y como se mencionó anteriormente existe una relación inversa entre el contenido de humedad y el contenido de lípidos.

La interacción lavado-crioprotectante resultó significativa, todos los tratamientos presentaron diferente contenido de humedad ($p < 0.05$). Adicionalmente, no se observaron cambios en el contenido de humedad de los mince durante 6 meses de almacenamiento en congelación ($p > 0.05$).

El porcentaje de lípidos en el tiempo 0 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fue de 15.3 ± 0.7 , 1.4 ± 0.2 , 12.4 ± 1.4 y 1.3 ± 0 respectivamente, por lo que se logró remover 91% de lípidos durante el proceso de lavado ($p < 0.05$); este porcentaje de remoción fue 28% mayor a lo reportado en mince de esqueletos de tilapia (Oliveira *et al.*, 2012), de 31-37% mayor a lo reportado en mince de músculo de tilapia (Biscalchin-Grýschek *et al.*, 2003) y de 11% mayor a lo reportado en mince de músculo de carpa (Yongsawatdigul *et al.*, 2013). El lavado es un proceso con el cual se pueden remover lípidos, sangre, pigmentos y sustancias promotoras de olor (compuestos volátiles). Así mismo, la remoción de lípidos puede ser influenciada por la presencia de lípidos asociados a proteínas y fosfolípidos de membrana, además de lípidos que solidifican a bajas temperaturas (Yarnpakdee *et al.*, 2021).

Se ha descrito que durante el proceso de lavado resulta más fácil remover los lípidos neutros (lípidos de almacenamiento) que los fosfolípidos de membrana (Eymard *et al.*, 2009), lo que sugiere que el alto porcentaje de lípidos removidos

son en su mayoría lípidos neutros y los lípidos remanentes puede que sean los asociados a proteínas o fosfolípidos de membrana. Al respecto, Eymard *et al.* (2009) cuantificaron el contenido de fosfolípidos en mince de músculo de macarela sin lavado y en mince con uno, dos y tres lavados, ellos observaron un incremento significativo en la concentración de fosfolípidos con los lavados, principalmente cuando fue sometido a dos lavados donde obtuvieron una concentración 5% mayor con respecto al mince sin lavado. En consecuencia, los autores mencionan que los fosfolípidos, ricos en ácidos grasos poliinsaturados como el ácido docosahexanoico (DHA) y ácido eicosapentanoico (EPA) se concentran en el mince lavado dando como resultado un producto final con buenas propiedades nutricionales.

Adicional a lo anterior, los autores mencionaron que aunque los fosfolípidos son más susceptibles a la oxidación lipídica y se concentran durante el procesamiento de mince de macarela especialmente después del segundo lavado, ellos no observaron un aumento en los productos de oxidación, por lo tanto, la concentración de fosfolípidos durante el lavado no comprometió las características del producto final.

En el presente estudio, el contenido de lípidos presentado después del proceso de lavado indica que se obtuvo un producto que puede clasificarse como producto magro, ya que presentó menos del 2% de lípidos (Dileep *et al.*, 2012). Se ha reportado que la vida de anaquel en especies de pescado magras es superior que en las especies grasas. A -18 °C una especie grasa presenta una vida de anaquel promedio de 5 meses en cambio especies magras tiene una vida de anaquel de hasta 9 meses (Blond y Le Meste, 2004). En base a lo anterior lograr obtener un producto magro estable, le da valor agregado al mince de esqueletos de tilapia lavado para su comercialización.

Además, se observó una disminución de 0.8% de lípidos por la adición del crioprotectante ($p < 0.05$), la disminución en el contenido de lípidos se debe al

aumento en el contenido de humedad por efecto de la adición del crioprotectante. La interacción lavado-crioprotectante fue significativa sobre el contenido de lípidos de los mince, observándose que los tratamientos MSLSC y MSLCC resultaron diferentes entre sí, y respecto del MLSC y MLCC ($p < 0.05$), siendo estos últimos de igual contenido de lípidos ($p > 0.05$). Durante el almacenamiento no se observaron cambios en el contenido de lípidos en los mince ($p > 0.05$). Teniendo en cuenta que el contenido de humedad y el contenido de lípidos están inversamente relacionados (Emire y Gebremariam, 2009), y como se mencionó anteriormente, no hubo diferencias en el contenido de humedad, y en consecuencia el contenido de lípidos tampoco sufrió cambios durante el almacenamiento.

El contenido de proteína cruda en el tiempo 0 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fue, 12.0 ± 0.2 , 8.9 ± 0.3 , 10.5 ± 1.0 y 8.7 ± 0.7 , respectivamente. De acuerdo con Biscalchin-Grýschek *et al.* (2003) la especie de tilapia es considerado un pescado con alto contenido de proteínas (15-20%), sin embargo, al igual que en el presente estudio, los autores obtuvieron porcentajes de proteína de 2 y 6% más bajos en mince sin lavado y con lavado respectivamente; sugiriendo que los valores bajos en mince sin lavado pueden ser debidos a la incorporación de lípidos y otros componentes durante la separación mecánica. Con respecto al presente estudio, los resultados mostraron una disminución de 25.8% del contenido de proteína cruda por efecto del lavado ($p < 0.05$), la disminución en el contenido de proteína resultó 13% inferior a lo reportado para mince de esqueletos de tilapia (Oliveira *et al.*, 2012) y 12% menor para mince de músculo de carpa (Yongsawatdigul *et al.*, 2013). Esta disminución en el contenido de proteínas durante el lavado se debe a la eliminación de proteínas sarcoplásmicas que representan la fracción soluble y se eliminan fácilmente en el primer ciclo de lavado.

El músculo de pescado contiene aproximadamente 25-30% de proteínas sarcoplásmicas, sin embargo; no solamente las proteínas sarcoplásmicas son removidas durante el lavado, también se puede remover parte de las proteínas miofibrilares (Eymard *et al.*, 2009; Yongsawatdigul *et al.*, 2013).

Adicionalmente, los resultados del presente estudio mostraron una disminución en el contenido de proteína cruda de 0.1% por efecto de la adición del crioprotectante ($p < 0.05$), esta disminución en el contenido de proteína cruda al igual que en el contenido de lípidos, puede deberse a la aumento en el contenido de humedad por la incorporación del crioprotectante y en consecuencia, el efecto de dilución de los componentes. La interacción lavado-crioprotectante no resultó significativa sobre el contenido de proteínas ($p > 0.05$), pero se vio afectado por el tiempo de almacenamiento de los mince ($p < 0.05$).

Durante el almacenamiento en congelación, se observó una disminución a los 15 días ($p < 0.05$) en el contenido de proteínas de los tratamientos MSLSC, MLSC y MLCC de 1.8, 1.3 y 2.2%, respectivamente. En el MSLCC se observó una disminución similar (2.3%) hasta los 45 días de almacenamiento. Sofi *et al.* (2014) observaron una disminución en el contenido de proteínas $< 1\%$ en mince de macarela, sugirieron también que no se dieron alteraciones mayores en el contenido de proteínas debido a la temperatura de almacenamiento de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, donde las reacciones que pueden causar deterioro son mínimas.

La disminución en el contenido de proteínas puede atribuirse a la presencia de enzimas endógenas y microbianas que promueven la degradación de proteínas. Las proteínas de pescado también pueden verse afectadas por la oxidación de lípidos. Los productos secundarios de la oxidación reaccionan con proteínas causando polimerización de las mismas y formación de aminoácidos libres (Emire y Gebremariam, 2009).

El contenido de cenizas inicial para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fue 0.7 ± 0.2 , 0.2 ± 0.05 , 0.6 ± 0.2 y 0.2 ± 0.01 , respectivamente. El contenido de cenizas es similar a lo reportado previamente en mince de esqueletos de tilapia de 0.9-1.1% (Oliveira *et al.*, 2012; Kirschnik *et al.*, 2013). Mediante el proceso de lavado se logró la remoción de 70% del contenido de cenizas ($p < 0.05$), la remoción de cenizas resultó ser superior a la remoción lograda por otros autores para mince de esqueletos de tilapia en un rango de 29-40% (Oliveira *et al.*, 2012; Kirschnik *et al.*, 2013)

En el presente estudio se observó un aumento de 10% debido a la adición del crioprotectante en el contenido de cenizas de los mince ($p < 0.05$). Hoke *et al.* (2000) observaron un aumento de 4% en el contenido de cenizas en mince de músculo de carpa al cual se le incorporó citrato de sodio. En nuestro estudio el crioprotectante utilizado es a base de ácido cítrico y citrato de sodio lo que explica el aumento en el contenido de cenizas. Adicionalmente, en el presente estudio la interacción lavado-crioprotectante no tuvo efecto sobre el porcentaje de cenizas de los mince ($p > 0.05$), y no se observaron cambios en el contenido de cenizas de los mince durante el almacenamiento en congelación ($p > 0.05$). Las fluctuaciones de temperatura durante el almacenamiento en congelación son la principal causa de las migraciones de agua del producto congelado a su superficie, lo cual da como resultado las pérdidas de humedad durante el almacenamiento, y en consecuencia la concentración del resto de los componentes (Emire y Gebremariam, 2009).

En el presente estudio no se observaron pérdidas en el contenido de humedad durante los 6 meses de almacenamiento lo que sugiere la estabilidad en la composición proximal de los minces en congelación.

Tabla 3. Composición proximal de los mince durante su almacenamiento en congelación

Tratamiento	Componente	Días de almacenamiento					
		0	15	30	45	90	180
MSLSC	Humedad	71.3±1.6	73.6±1.7	72.3±2.0	73.9±0.7	74.3±2.3	72.4±1.6
	Lípidos	15.3±0.7	14.3±0.5	14.4±0.5	14.0±0.7	14.2±0.6	14.8±0.6
	Proteína	12.0±0.2 ^{ac}	10.2±0.4 ^b	10.5±0.1 ^{bc}	10.4±0.8 ^{bc}	11.3±0.3 ^c	11.8±0.5 ^{ac}
	Cenizas	0.7±0.2	0.6±0.1	0.7±0.1	0.6±0.0	0.6±0.1	0.7±0.0
	NNP	0.1±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	n.d.	n.d.	0.0±0.0
MSLCC	Humedad	76.3±3.5	75.0±1.3	75.1±2.0	75.4±1.9	74.8±1.5	75.7±0.9
	Lípidos	12.4±1.4	13.6±1.3	13.3±0.8	13.0±0.7	13.5±1.2	13.1±0.7
	Proteína	10.5±1.0 ^a	10.2±0.6 ^a	9.9±0.1 ^a	8.2±0.5 ^b	11.2±0.6 ^a	10.5±0.8 ^a
	Cenizas	0.6±0.2	0.7±0.1	0.6±0.0	0.7±0.1	0.7±0.0	0.7±0.0
	NNP	0.0±0.0	0.1±0.0	0.1±0.0	n.d.	n.d.	0.0±0.0
MLSC	Humedad	89.5±0.1	89.6±0.2	89.4±0.6	89.8±0.3	89.4±0.9	89.4±0.5
	Lípidos	1.4±0.2	1.2±0.1	1.5±0.2	1.3±0.1	1.4±0.3	1.4±0.1
	Proteína	8.9±0.3 ^{ac}	7.6±0.1 ^b	7.6±0.4 ^b	7.8±0.5 ^b	8.7±0.2 ^a	9.5±0.4 ^c
	Cenizas	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	NNP	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	n.d.	n.d.	0.0±0.0
MLCC	Humedad	90.6±0.7	90.9±0.1	90.9±0.8	90.9±0.8	90.9±0.7	91.2±0.7
	Lípidos	1.3±0.1	1.3±0.4	1.2±0.2	1.2±0.1	1.2±0.1	1.1±0.2
	Proteína	8.7±0.7 ^a	6.5±0.5 ^b	6.6±0.3 ^b	6.5±0.5 ^b	7.9±0.7 ^a	7.7±0.8 ^a
	Cenizas	0.2±0.0	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
	NNP	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	n.d.	n.d.	0.0±0.0

Los valores corresponden a la media ± desviación estándar. Diferente literal indican diferencias significativas por el almacenamiento ($p < 0.05$). n.d.=no determinado. NNP: nitrógeno no proteico. MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante

6.3.1.2 Pérdidas por goteo. Las pérdidas por goteo por descongelación de los mince se muestran en la Figura 9. Los porcentajes iniciales de pérdidas por goteo fueron 7.2 ± 1.0 , 0.9 ± 0.4 , 7.7 ± 0.0 y 7.9 ± 4.08 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC, respectivamente. La pérdida por goteo en MSLSC es superior a lo reportado para mince de músculo de tilapia (6%) e inferior que en mince de esqueletos de tilapia (8%). No obstante, en MLSC resulta inferior al 9.6% reportado en mince de músculo de tilapia y muy similar reportado en mince de esqueletos de tilapia (Biscalchin-Grýschek et al., 2003; Kirschnik et al., 2012).

Durante el almacenamiento se dieron cambios mínimos en las pérdidas por goteo de los mince. En los tratamientos MSLCC y MLCC no se observaron diferencias en las pérdidas por goteo durante el almacenamiento ($p>0.05$). Se observó un aumento de 5% en el MSLSC a los 15 días de almacenamiento ($p<0.05$) y permaneció estable el resto del almacenamiento. Por último, en el MLSC se registró un aumento de 0.9% al finalizar el almacenamiento. El MLSC presentó menor porcentaje de pérdidas por goteo, lo cual puede deberse a la remoción de proteínas sarcoplásmicas durante el proceso de lavado, y en consecuencia podría presentarse un aumento en la concentración de proteínas miofibrilares por lo tanto, mayor capacidad de retención de agua (Kirschnik et al., 2012).

En un estudio en mince de esqueletos de tilapia no se observaron cambios en las pérdidas por goteo durante el almacenamiento (Kirschnik et al., 2012). Por otro lado en mince de músculo de tilapia también se observó un aumento de 5% durante 180 días de almacenamiento a -16°C (Biscalchin-Grýschek et al., 2003).

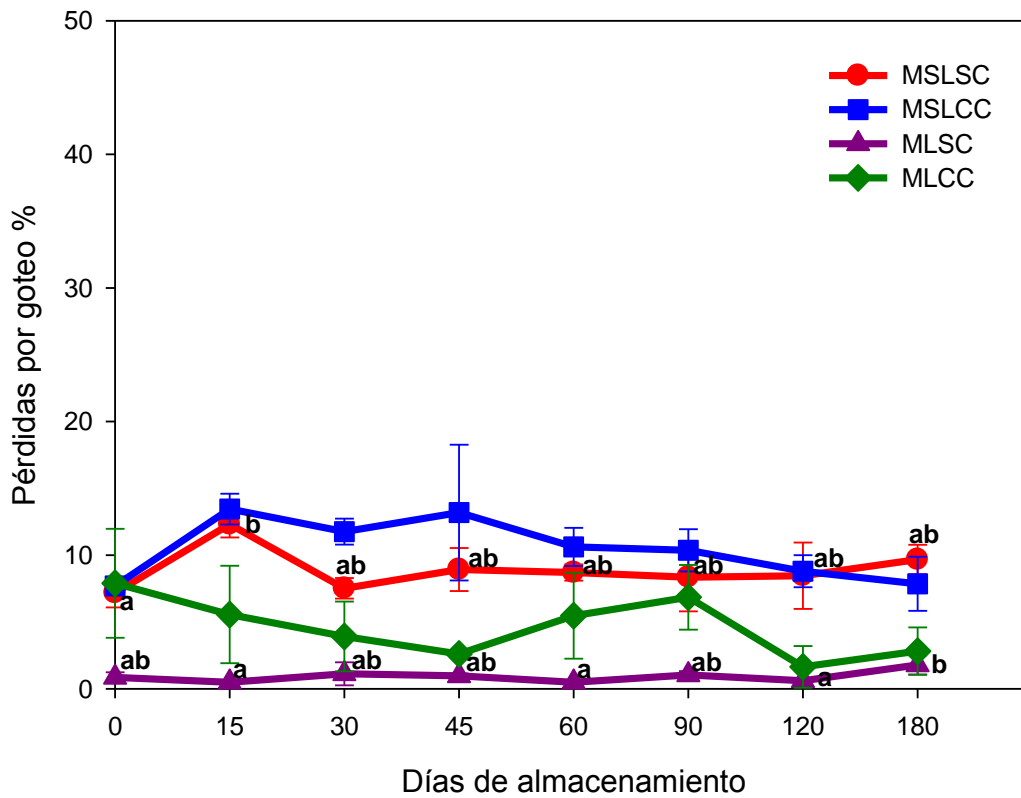


Figura 9. Pérdidas por goteo en los mince durante su almacenamiento en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=4$) \pm desviación estándar. Diferentes literales indican diferencia por efecto del almacenamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante

6.3.1.3 Cambios de color en los mince. Los cambios de color en los mince obtenidos, se realizaron en base a la medición de los parámetros luminosidad (“L”), matiz rojo-verde (“a”) y matiz amarillo-azul (“b”). En lo que respecta al parámetro luminosidad de los mince los resultados mostraron un aumento de 8.6 unidades por efecto del lavado; mientras que por efecto del crioprotectante se observó una disminución de 0.7 unidades ($p < 0.05$). Hoke *et al.* (2000) reportaron un aumento de los valores de “L” de 5 unidades en mince de esqueletos de bagre, lo cual fue debido a la remoción de sangre y pigmentos.

La mezcla crioprotectante utilizada en el presente estudio contiene peróxido de hidrógeno como parte de su formulación, cuya finalidad es mejorar los atributos de color que son importantes para definir el precio de venta y en la aceptación del consumidor. Sin embargo, Himonides *et al.* (1999) utilizaron peróxido de hidrógeno como blanqueador en mince de bacalao y no observaron cambios significativos en los valores de “L”.

Otros de los componentes del crioprotectante utilizado en el presente estudio son el ácido cítrico y el citrato de sodio. En cuanto a el efecto de estos componentes sobre el parámetro “L”, Kilinc *et al.* (2009) observaron una disminución de 2 unidades en filetes de trucha por el empleo de una solución de citrato de sodio. Para mejorar los atributos de color en filetes de tilapia se ha empleado también el ácido láctico; al respecto, Chow *et al.* (2009) observaron que los filetes tratados con ácido láctico presentaron un aumento de 5 unidades en los valores de “L”.

Adicionalmente a los resultados descritos del presente estudio, la interacción lavado-crioprotectante no resultó significativa ($p > 0.05$), en base a lo anterior se puede concluir que en mince de esqueletos de tilapia las mejoras en el atributo de color “L” se deben la implementación del tratamiento lavado.

En la Figura 10 se muestran los valores de “L” en el día 0 fueron 40.1 ± 4.0 , 43.6 ± 3.7 , 39.0 ± 2.6 y 45.4 ± 4.1 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC, respectivamente. En filetes de tilapia se han observado valores similares (40-45) a los obtenidos en los mince de esqueletos de tilapia (Chow *et al.*, 2009; Fonseca *et al.*, 2013; Pivarnik *et al.*, 2013). Los resultados del presente estudio también mostraron efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de “L” en los mince ($p < 0.05$) obtenidos. Al no encontrarse interacción lavado-crioprotectante, se realizó un ANOVA de una vía para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento. Los resultados mostraron que no se observaron cambios de “L” en el tratamiento MSLSC ($p > 0.05$).

Con respecto a los demás tratamientos, en el MLSC se registró un aumento en los valores de “L” de 5.9 unidades a los 45 días de almacenamiento ($p < 0.05$). Contrario a lo reportado por Suvanich *et al.* (2000) quien no observó cambios en los valores de “L” en mince de esqueletos de bagre durante el almacenamiento en congelación.

Para los tratamientos MSLCC y MLCC se observó un aumento ($p < 0.05$) a los 60 días en los valores “L” de 2.2 y 3.5 unidades, respectivamente. Chow *et al.* (2009) evaluaron el efecto de un tratamiento alcalino en filetes de tilapia durante su almacenamiento en hielo. Observaron que los filetes de tilapia tratados en una solución de carbonato de sodio al 10% presentaron un aumento de 8 unidades en los valores de “L” durante el almacenamiento. En el presente estudio el aumento de los valores de “L” en mince de esqueletos de tilapia adicionados con el crioprotectante durante el almacenamiento puede deberse al carácter alcalino de la mezcla crioprotectante utilizada (pH 10).

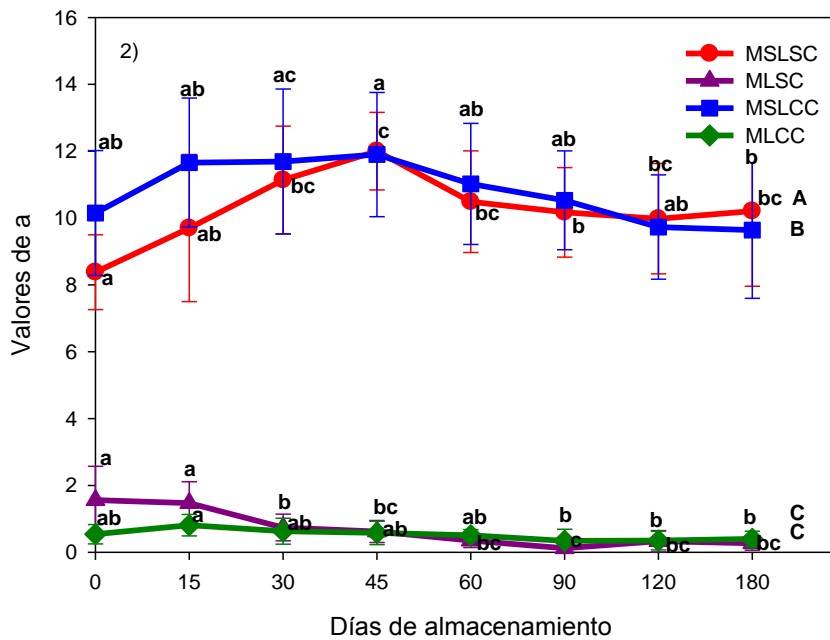
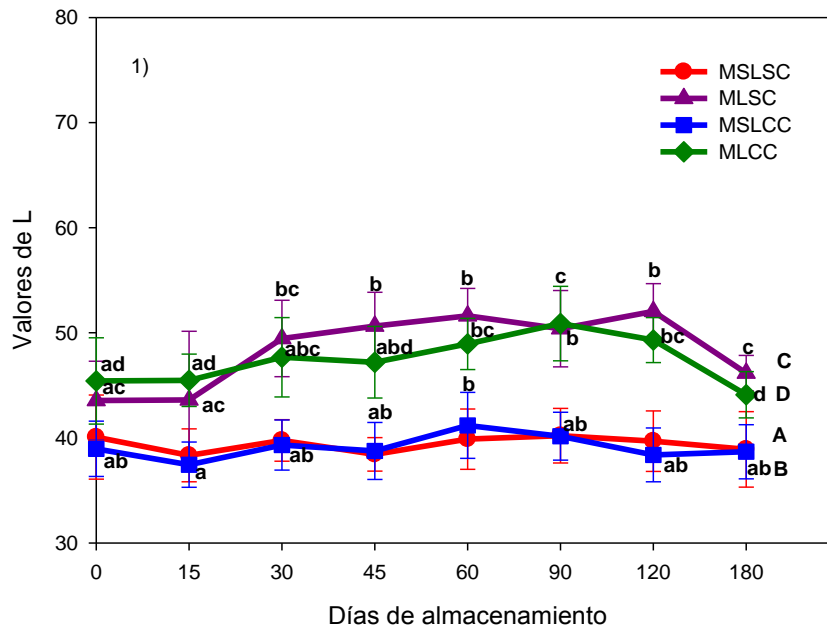


Figura 10. Cambios en los parámetros de color Luminosidad “L” (1) y matiz rojo-verde “a” (2) en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=16$) \pm desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

Hoke *et al.* (2000) no observaron cambios en los valores de “L” en mince de esqueletos de bagre en congelación. En lo que respecta al mince de esqueletos de tilapia no hay reportes previos sobre el comportamiento de los atributos de color durante el almacenamiento en congelación. Sin embargo, en filetes de tilapia almacenados a 5°C Pivarnik *et al.* (2013) no observaron cambios en los valores de “L” al igual que el MSLSC durante el almacenamiento en congelación.

El efecto de los factores evaluados sobre los valores de “a” se describe a continuación (Figura 10). Se observó una disminución de 9.4 unidades por efecto del lavado en los mince ($p < 0.05$). Valores menores en el parámetro “a” obtenidos en mince con lavado son resultado de la eficiencia del lavado en la remoción de pigmentos solubles. La mioglobina y la hemoglobina son los principales pigmentos que contribuyen en el color del pescado, especialmente en músculo oscuro (Thiansilakul *et al.*, 2012), algunos autores han mostrado que durante el proceso de lavado en mince de músculo de tilapia se logra remover hasta un 52% del contenido de mioglobina (Yarnpakdee *et al.*, 2012). En los mince de esqueletos de tilapia del presente estudio, la adición del crioprotectante no tuvo efecto ($p > 0.05$) y se observó efecto de la interacción lavado-crioprotectante sobre los valores de “a” en los mince ($p < 0.05$).

La Figura 10 también muestra el comportamiento de los valores de “a” durante los 180 días de almacenamiento en congelación. Los valores del parámetro “a” al tiempo 0 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fueron 8.4 ± 1.1 , 1.6 ± 1.0 , 10.2 ± 1.9 y 0.5 ± 0.3 , respectivamente. Se observó un efecto significativo del tiempo de almacenamiento sobre los valores de “a” de los mince ($p < 0.05$). Se observó un aumento de 2.8 unidades ($p < 0.05$) en los valores de “a” del tratamiento MSLSC a los 30 días de almacenamiento. En lo que respecta al tratamiento MLSC se observó una disminución ($p < 0.05$) de 0.8 unidades a los 30 días. Por último, los tratamientos adicionados con crioprotectante (MSLCC y MLCC) no presentaron diferencias durante el

almacenamiento con respecto a los valores iniciales, es decir permanecieron estables durante los 6 meses de almacenamiento.

El grado de enrojecimiento se utiliza a menudo como indicador de la calidad y frescura en músculo oscuro. Durante el almacenamiento la oximioglobina puede oxidarse a metamioglobina la cual produce el color marrón indeseable (Mantilla *et al.*, 2008). Thiansilakul *et al.* (2012) evaluaron los cambios en los valores de “a” en mince de carpa almacenados en hielo, los tratamientos fueron: lavado, con y sin la adición de hemoproteínas. Al respecto observaron una disminución de los valores de “a” durante el almacenamiento y fue más rápido en el mince que contenía oxihemoglobina comparado con el mince que contenía oximioglobina lo que indica mayor susceptibilidad de la oxihemoglobina a la oxidación. Por lo tanto, los cambios en los valores de “a” de los mince de esqueletos de tilapia pudieran depender de la estabilidad de las hemoproteínas a oxidarse. En base a lo anterior se sugiere evaluar en estudios futuros la estabilidad de las hemoproteínas en mince de esqueletos de tilapia.

Con respecto al parámetro “b”, se observó una disminución de 4.6 unidades por efecto del lavado en los mince ($p < 0.05$), lo cual resulta muy similar al efecto del lavado en mince de esqueletos de carpa donde se reportó una disminución de 4 unidades (Suvanich *et al.*, 2000). Para los mince de esqueletos de tilapia la adición del crioprotectante no fue significativa ($p > 0.05$), mientras que la interacción lavado-crioprotectante, resultó ser significativa ($p < 0.05$).

Los valores de “b” se muestran en la Figura 11, al tiempo 0 fueron 5.7 ± 0.9 , 2.3 ± 1.2 , 6.4 ± 1.0 y 1.3 ± 0.8 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC, respectivamente. Se observó efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de “b” de los mince ($p < 0.05$). A los 30 días de almacenamiento se observó un aumento de los valores de “b” en los tratamientos MSLSC, MSLCC y MLCC de 1.7, 1.3 y 1.1 unidades, respectivamente ($p < 0.05$).

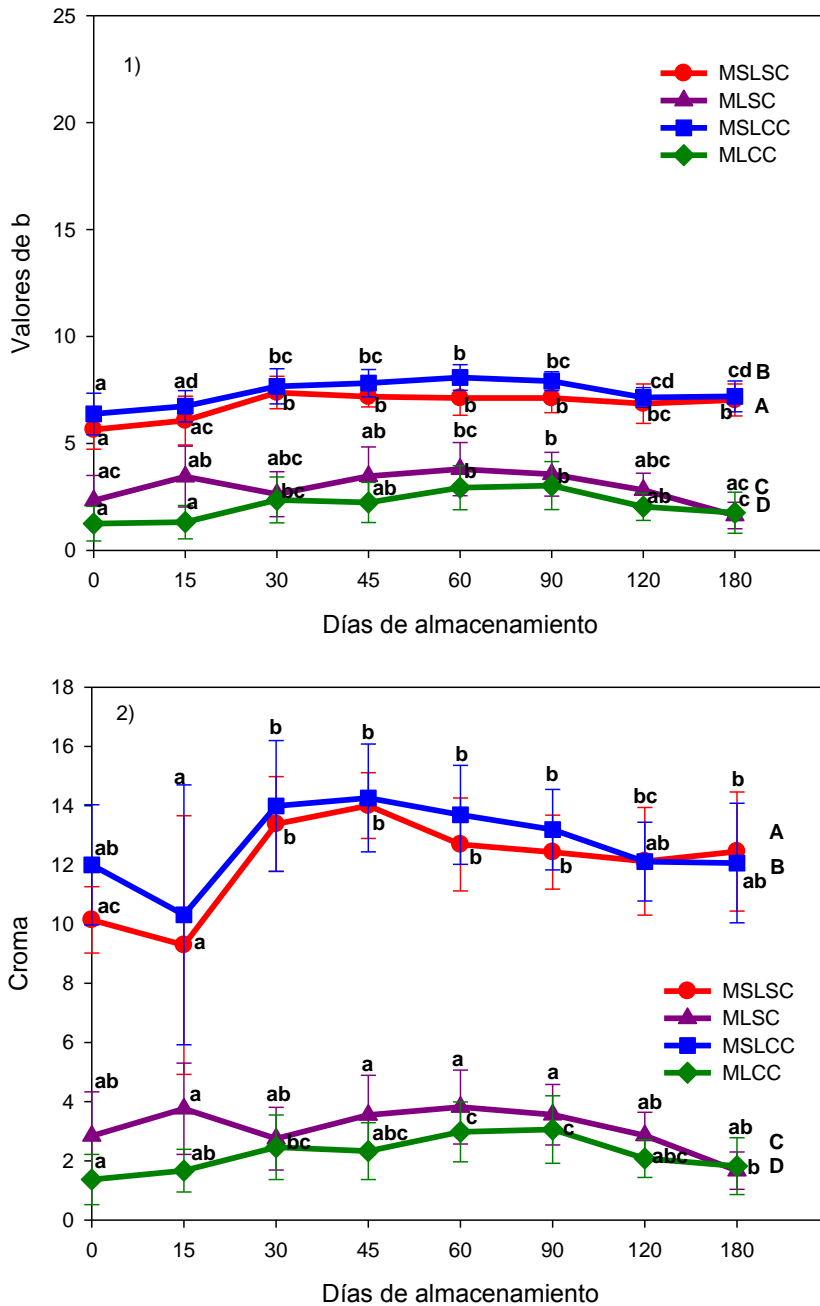


Figura 11. Cambios en los parámetros de color matiz amarillo-azul “b” (1) y croma (2) en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C. Los valores representan la media (n=16) ± desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento (p<0.05). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

Después de este tiempo los valores de “b” en los mince descritos permanecieron estables. Con respecto al MLSC, el aumento en el valor de “b” tuvo lugar hasta los 60 días de almacenamiento, siendo 1.5 unidades y, al igual que los otros mince, después de este tiempo el valor de “b” permaneció estable por el resto del tiempo de almacenamiento.

En filetes de tilapia se ha observado que durante el almacenamiento los valores de “b” aumentan. Este aumento en los valores de “b” puede ser resultado del pardeamiento de la línea de sangre del filete debido a la oxidación de hemoproteínas y la subsecuente reducción de los valores de “a” (Pivarnik *et al.*, 2013). La oxidación de lípidos puede dar como resultado la aparición de coloraciones amarillas en el pescado (Hoke *et al.*, 2000), por lo que los ligeros cambios observados en los valores de “b” de los mince de esqueletos de tilapia pueden deberse a la oxidación de lípidos más que a la oxidación de hemoproteínas ya que no se observó una marcada reducción en los valores de “a”.

A partir de los valores de “L”, “a” y “b” se calcularon el croma, el ángulo de matiz (θ), y la diferencia total de color (ΔE), lo cuales se muestran en la Figuras 11 y 12. En lo que respecta a los valores de croma (Figura 11) (saturación del color rojo) de los mince se obtuvo una disminución de 9.7 unidades por efecto del lavado ($p < 0.05$), Chaijan *et al.* (2005) observó una disminución de los valores de croma en mince de sardina lo cual se debe a la eliminación de pigmentos durante el lavado, especialmente mioglobina y hemoglobina lo que conduce a la reducción de los valores de croma. Además observó que el croma disminuye con los ciclos de lavados. Adicionalmente, no se observó efecto por la adición del crioprotectante ($p > 0.05$) y la interacción lavado-crioprotectante fue significativa ($p < 0.05$) sobre los valores de croma de los mince de esqueletos de tilapia del presente estudio.

Se observó un efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de croma de los mince ($p < 0.05$). Los cambios observados durante el almacenamiento por tratamiento se describen a continuación. Se presentó un aumento en los valores de croma a los 30 días de 3.2 unidades para el tratamiento MSLSC, 2.0 para el MSLCC y 1.1 para el MLCC ($p < 0.05$). Por otro lado, en el MLSC se observó una disminución de 1.2 unidades en el croma ($p < 0.05$). Se han reportado diferencias en mince de sardina lavado y disminución de los valores de croma durante el almacenamiento en hielo, donde se sugiere que los cambios presentados son debidos principalmente a la oxidación de la mioglobina (Chaijan *et al.*, 2005).

En el ángulo de matiz (θ) de los mince (Figura 12) se observó un aumento de 40.8 unidades por efecto del lavado ($p < 0.05$). Al respecto, Hoke *et al.* (2000), observaron un aumento de 13 unidades en θ en mince de esqueletos de bagre. Sin embargo, a pesar de que los autores reportaron un aumento menor por efecto del lavado, el ángulo de matiz fue de 91.7, valor superior al obtenido en el presente estudio, lo que significa que el color del mince obtenido en el presente estudio tiende a ser más rojo, menos amarillo y menos claro.

Adicionalmente, se observó una disminución de 1.1 unidades por efecto de la adición del crioprotectante ($p < 0.05$) y la interacción lavado-crioprotectante fue significativa sobre los valores de ángulo de matiz ($p < 0.05$).

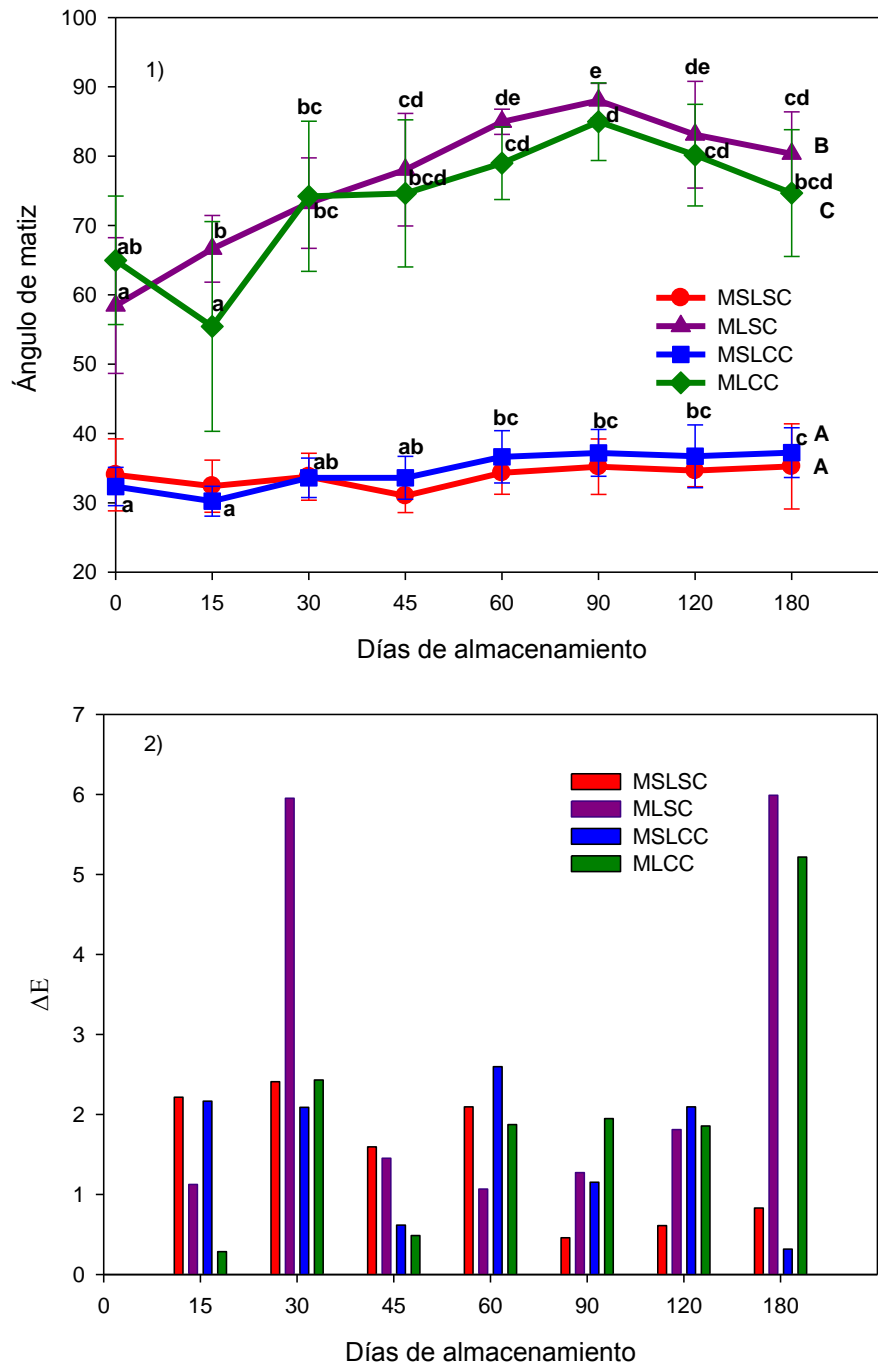


Figura 12. Cambios en los parámetros de color ángulo de matiz (θ) (1) y diferencia total de color (ΔE) (2) en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=16$) \pm desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

La Figura 12 también muestra los valores del ángulo de matiz, en el tiempo 0 fueron 34.0 ± 5.2 , 58.5 ± 9.8 , 32.3 ± 2.8 y 65.0 ± 9.3 para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC, respectivamente. Se observó efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de ángulo de matiz de los mince ($p < 0.05$). Los cambios para cada tratamiento se describen a continuación. Para el MSLSC no se observaron cambios significativos en el ángulo de matiz durante los 180 días de almacenamiento ($p > 0.05$). En el tratamiento MSLCC se presentó un aumento de 4.3 unidades en el ángulo de matiz a los 60 días de almacenamiento ($p < 0.05$) permaneciendo estable por el resto del almacenamiento. En el MLSC se observó un aumento de 8.2 unidades en el ángulo de matiz a los 15 días de almacenamiento y en el MLCC un aumento 7.2 unidades a los 30 días de almacenamiento ($p < 0.05$).

De acuerdo a la diferencia total de color (ΔE) como se muestra en la Figura 12, el MSLSC presentó los mayores cambios de color a los 30 días de almacenamiento, en el caso del MSLCC los mayores cambios se presentaron a los días 60. El tratamiento MLSC presentó los mayores cambios a los 30 y 180 días de almacenamiento, estos cambios están relacionados con un aumento en los valores de "a" a los 30 días y una disminución en los valores de "L" al finalizar el almacenamiento. Por ultimo, el MLCC presentó los mayores cambios a los 180 días de almacenamiento.

En la Figura 13 se muestran los mince en el tiempo 0 y a los 180 días de almacenamiento, se puede observar que la percepción o apariencia es diferente. El color en los tratamientos MSLSC y MSLCC al inicio del almacenamiento se percibió como rojizo durante el almacenamiento estos mince presentaron cambios, por lo que al finalizar el almacenamiento se percibió con tonalidades amarillo-verdoso. Por otra parte los tratamientos MLSC y MLCC presentaron un color rosa-crema al inicio del almacenamiento, debido a los cambios durante el almacenamiento al finalizar el almacenamiento se observó un color amarillo-crema.

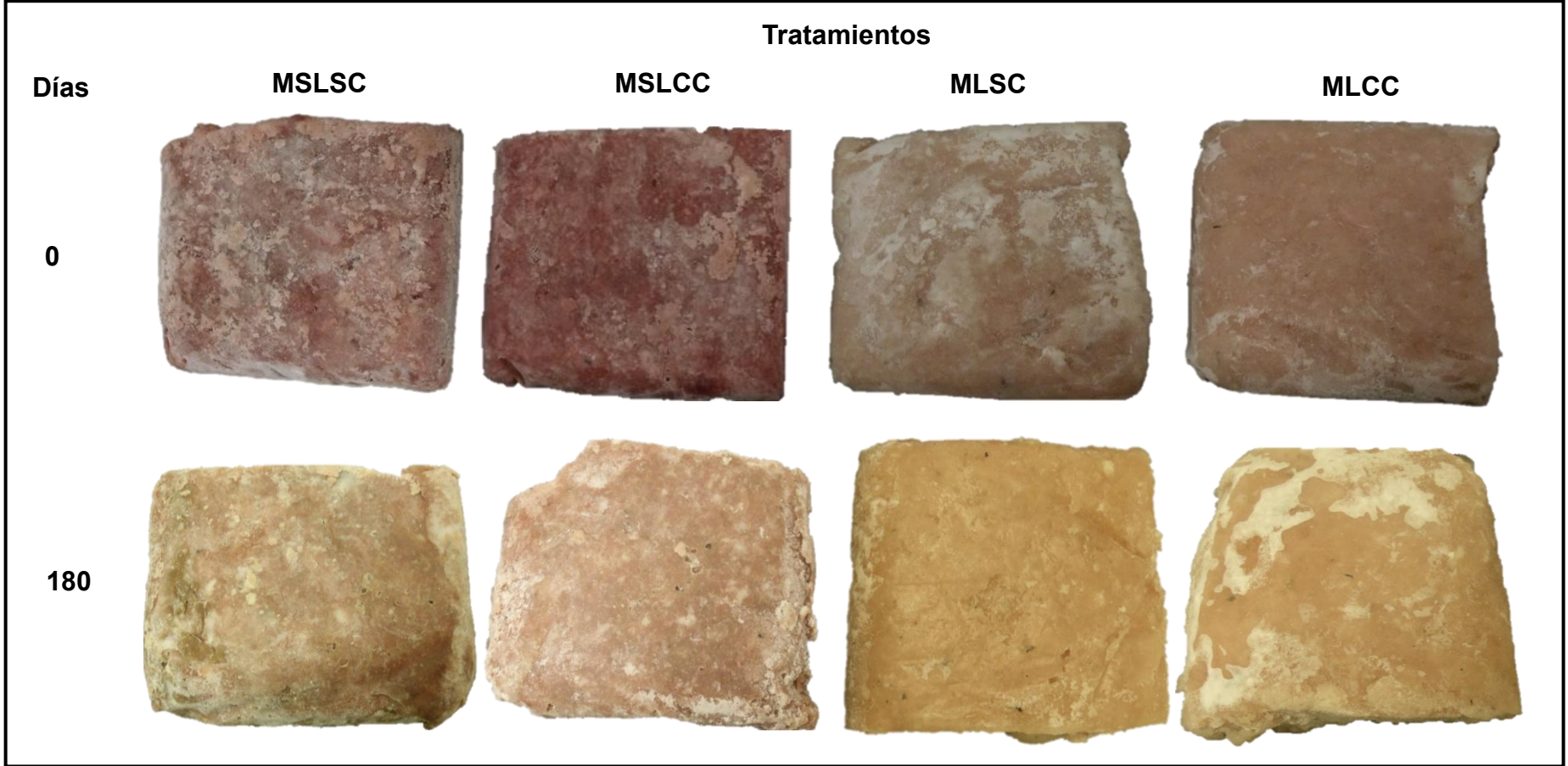


Figura 13. Percepción o apariencia de color en los mince de esqueletos de tilapia al tiempo 0 y 180 de almacenamiento en congelación. MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

En base a lo descrito sobre los cambios en el color de los mince de esqueletos de tilapia durante el almacenamiento en congelación, se observó que se deben principalmente al aumento en los valores de “b”, en consecuencia los mince durante su almacenamiento tienden a ser más amarillos.

6.3.1.4 Cambios en los valores de pH. Los resultados observados en el presente estudio muestran un aumento de 0.4 unidades de pH por efecto del lavado ($p < 0.05$), un aumento de 0.5 unidades por efecto de la adición del crioprotectante ($p < 0.05$) y la interacción lavado-crioprotectante resultó significativa sobre los valores de pH de los mince ($p < 0.05$). Biscalchin-Grýschek *et al.* (2003) observaron un incremento progresivo de pH con los lavados en mince de músculo de tilapia, y fue más alto después del segundo lavado el cual resultó en un aumento de 0.5 unidades. Valores de pH mayores en mince con lavado puede deberse a la remoción de ácidos grasos libres, aminoácidos libres, ácido láctico entre otras sustancias ácidas solubles en agua (Majumdar *et al.*, 2012).

Weilmeier y Regenstein (2009) adicionaron diferentes fosfatos y citratos a músculo de macarela y observaron que las muestras que contenían cationes monovalentes (Na y K) presentaron mayor pH que las muestras que contenían cationes divalentes o trivalentes (Ca, Mg y Fe) al compararlas con el control. Por otro lado, Yapar *et al.* (2006) evaluaron el efecto de la adición de fosfatos en músculo de carpa y observaron un aumento de 0.6 unidades de pH por la adición de fosfatos, este efecto puede ser debido al carácter alcali de K_2HPO_4 . Además de lo anterior, también se han reportado diversos factores que afectan el pH en músculo de pescado, entre los cuales se encuentran la composición, estado fisiológico, capacidad de amortiguación de las proteínas, actividad enzimática y la temperatura de almacenamiento (Biscalchin-Grýschek *et al.* 2003).

La Figura 14 muestra los valores de pH de los mince, los cuales presentaron 7.2, 7.2, 7.4 y 7.7 al tiempo “cero” de almacenamiento para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC, respectivamente. Se observó efecto del tiempo de almacenamiento sobre los valores de pH de los mince ($p < 0.05$). En el tratamiento MSLSC se observó una disminución de 0.2 unidades a los 45 días y en el MSLCC hubo una disminución de 0.4 unidades de pH ($p < 0.05$) a los 120 días. Posteriormente, estos tratamientos presentaron un aumento de 0.2 y 0.3 unidades de pH, por lo tanto al finalizar el almacenamiento los mince recuperaron sus valores iniciales de pH ($p < 0.05$).

En un estudio reciente se observó un comportamiento similar en MSLSC durante el almacenamiento, primeramente se dió una reducción de 0.2 unidades de pH a los 30 días y posteriormente se dió un aumento de 0.2 unidades a los 60 días de almacenamiento (Kirschnik *et al.*, 2013). Además Rong *et al.* (2009) observaron esta tendencia, una disminución en los primeros días de almacenamiento y un posterior aumento en pescado entero, eviscerado y filete de tilapia almacenado en refrigeración. Dentro de los factores que pueden causar cambios de pH en los alimentos congelados se encuentra la actividad enzimática la cual puede afectar la capacidad de amortiguación de las proteínas (Emire y Gebremariam, 2009; Rong *et al.*, 2009).

Por otro lado, en el tratamiento MLSC se observó una disminución de 0.1 unidades a los 90 días, permaneciendo sin variaciones por el resto del almacenamiento, lo que sugiere la estabilidad del pH al aplicar el proceso de lavado del mince. Finalmente, en el tratamiento MLCC no se observaron cambios durante el almacenamiento sobre los valores de pH ($p > 0.05$).

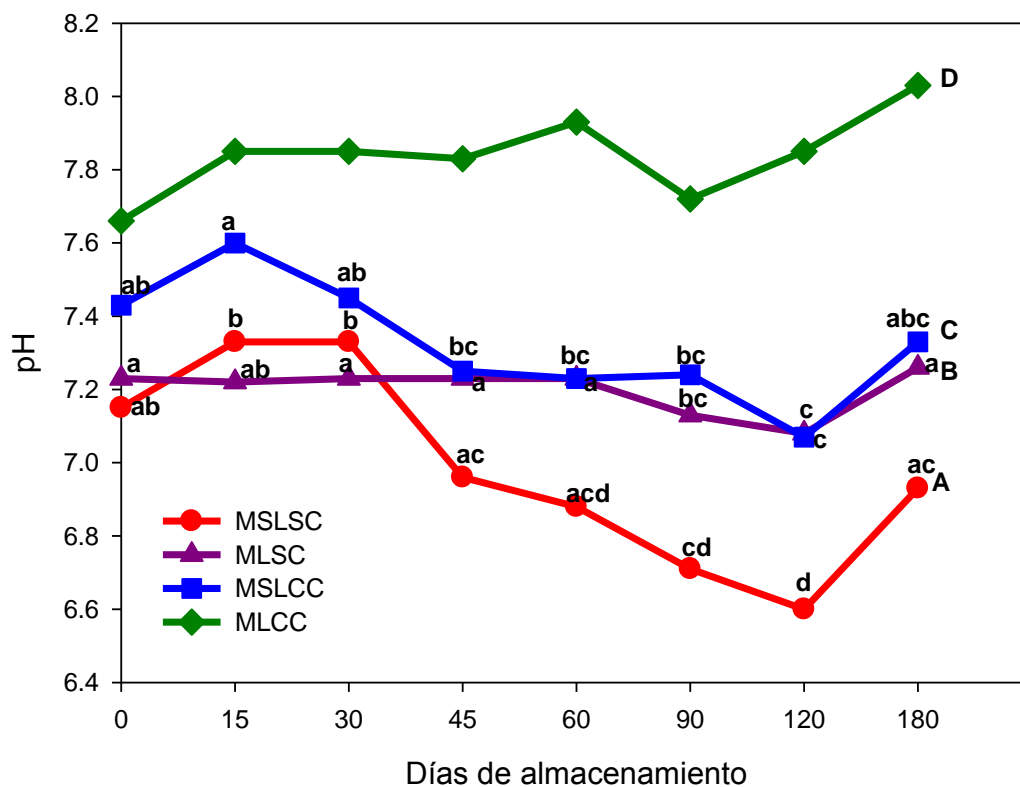


Figura 14. Cambios de pH en los mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=6$). Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

6.3.1.5 Cambios en los valores de bases volátiles totales (BVT-N). La cuantificación de BVT-N es un método ampliamente usado en la evaluación de la calidad de productos pesqueros, representa la presencia de compuestos nitrogenados básicos como trimetilamina, dimetilamina, amoníaco y volátiles asociados al deterioro (Huss, 1988). Los resultados observados en el presente estudio muestran una disminución de 61% en los valores de BVT-N por efecto del lavado ($p < 0.05$), mientras que con la adición del crioprotectante observó una disminución $< 10\%$ ($p < 0.05$). Además, los resultados del presente estudio mostraron que la interacción lavado-crioprotectante tuvo efecto sobre los valores de BVT-N de los mince ($p < 0.05$). Al respecto, se han reportado remociones del 56% en mince de músculo de carpa (Asgharzadeh *et al.*, 2010). Por otra parte, Sallam (2007) observó una disminución de los valores de BVT-N en salmón tratado con diferentes ácidos orgánicos almacenado a 1°C , cuando el salmón fue tratado con citrato de sodio se logró una reducción de 29% durante el almacenamiento.

La Figura 15 muestra el comportamiento de las BVT-N en los mince durante su almacenamiento. Los valores obtenidos en el tiempo 0 de almacenamiento para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fueron 17.2 ± 0.7 , 7.2 ± 0.7 , 15.1 ± 1.1 y 6.0 ± 0.4 respectivamente. El contenido de BVT-N obtenido para el tratamiento MSLSC resultó 27% superior a lo obtenido por Majumdar *et al.* (2012) para mince de carpa sin lavado (13.56 ± 1.52), no así para el tratamiento MLSC, donde los valores obtenidos en el presente estudio fueron 36% inferiores. El contenido de BVT-N en MLSC fue similar a lo reportado por Rong *et al.* (2009) en tilapia fresca de 7.5 mg N/100 g.

Se observó efecto del tiempo de almacenamiento en los valores de BVT-N de los mince ($p < 0.05$). El tratamiento MSLSC presentó una reducción de 1.7 mg/100 g en el contenido de BVT-N a los 45 días de almacenamiento ($P < 0.05$). En el MSLCC no se observaron cambios durante el tiempo de almacenamiento ($p > 0.05$). En lo que respecta al MLSC, hubo una reducción de 1.4 mg N/100 g a

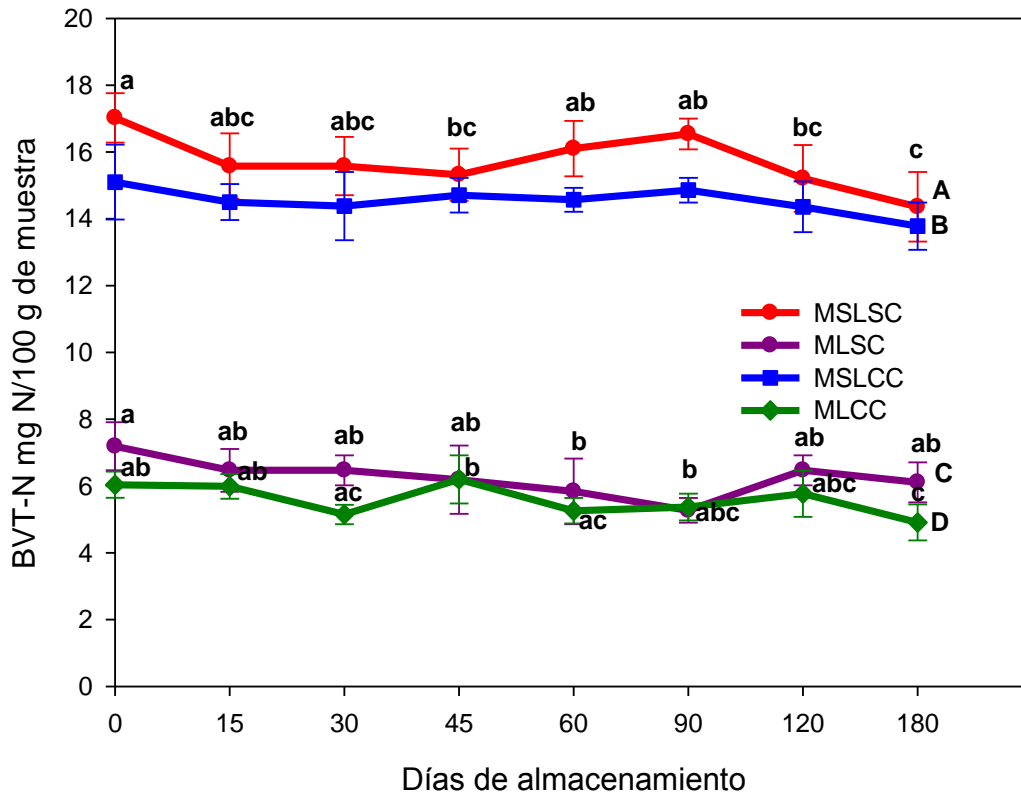


Figura 15. Cambios en BVT-N en mince de esqueletos de tilapia almacenados a -20°C . Los valores representan la media ($n=6$) \pm desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

los días 60 de almacenamiento ($p < 0.05$). Por último, el tratamiento MLCC presentó una disminución de 1.1 mg N/100 g a los 180 días de almacenamiento.

A diferencia del presente estudio, en estudios anteriores se ha observado un incremento del contenido de BVT-N en tilapia por efecto del almacenamiento. Emire y Gebremariam (2009) observaron un incremento del 80% en el contenido de BVT-N en filete de tilapia congelado por 6 meses. En mince de esqueletos de tilapia se ha reportado un aumento de 33% a los 60 días de almacenamiento en congelación (Kirschnik *et al.*, 2013), donde el incremento en el contenido de BVT-N lo atribuyen a la proliferación de bacterias que tienen la capacidad para la desaminación oxidativa de compuestos nitrogenados no proteicos. Al respecto Rong *et al.* (2009) evaluaron el conteo de bacterias aerobias en placa, observaron que a 5°C se alcanzó el límite máximo permisible (7 UFC/g log) a los 12 días de almacenamiento en refrigeración y el contenido de BVT-N fue de 25.8 mg N/100 g indicando que podría ser apropiado indicar el corte en la vida de anaquel. Sin embargo, se han reportado diferentes niveles de aceptabilidad de valores de BVT-N promedio de 25-40 mg N/100 g, dependiendo la especie, tratamientos aplicados y condiciones de procesamiento

Todos los mince evaluados durante el almacenamiento en congelación (MSLSC, MSLCC, MLSC, MLCC) permanecieron con valores de BVT-N por debajo de lo permitido (35 mg N/100 g) de acuerdo a la NOM-242-SSA1-2009; indicando que la calidad del mince es buena para utilizarse en un proceso posterior.

6.3.1.6 Cambios en los valores de índice de peróxidos (IP). En la Figura 16 se muestran los valores de índice de peróxidos de los tratamientos MSLSC y MSLCC durante el almacenamiento en congelación. El IP de los tratamientos con lavado no fue determinado debido a su bajo contenido de lípidos. Los valores de IP al inicio del almacenamiento fueron 1.1 ± 0.5 para el tratamiento MSLSC y 0.7 ± 0.4 para el tratamiento MSLCC, que fueron similares a los obtenidos por Eymard *et al.* (2010) en mince de músculo de macarela (1.4 meq/kg de lípidos) y Sallam (2007) en músculo de salmón adicionado con citrato de sodio como antioxidante (1.1 meq/kg).

No se observó efecto de la adición del crioprotectante ($p > 0.05$) sobre la formación de peróxidos en los mince de esqueletos de tilapia del presente estudio. Sanjuás *et al.* (2011) evaluaron el efecto de la inmersión de bacalao en solución de ácidos orgánicos sobre el deterioro lipídico y no observaron efecto sobre la formación de peróxidos, obteniendo al finalizar el almacenamiento 4.3 en el control vs 3.9 meq de oxígeno/kg de lípidos en el tratamiento. La eficiencia de un antioxidante en un alimento depende de varios factores dentro de los que se mencionan su estructura, reactividad con otros antioxidantes, superficie de contacto, pH e interacción con otros componentes en la matriz del alimento (Tolasa *et al.*, 2011).

Por otra parte, durante el almacenamiento en congelación, no se observaron cambios en la formación de peróxidos en el MSLSC ($p > 0.05$). En cambio en el MSLCC se observó un aumento de 1.0 meq/kg de lípidos a los 60 días de almacenamiento ($p < 0.05$). Lo anterior indica que el valor de IP del tratamiento MSLSC fue estable durante el almacenamiento, mientras que el MSLCC aumentó 2.5 veces su valor por efecto del almacenamiento; aún así, con el aumento los valores obtenidos de IP están por debajo del límite aceptable en pescado de 10-20 meq/Kg de lípidos (Sallam 2007). Al respecto, en mince de músculo de macarela se reportó un IP de 3.9 meq/Kg inicial el cual incrementó

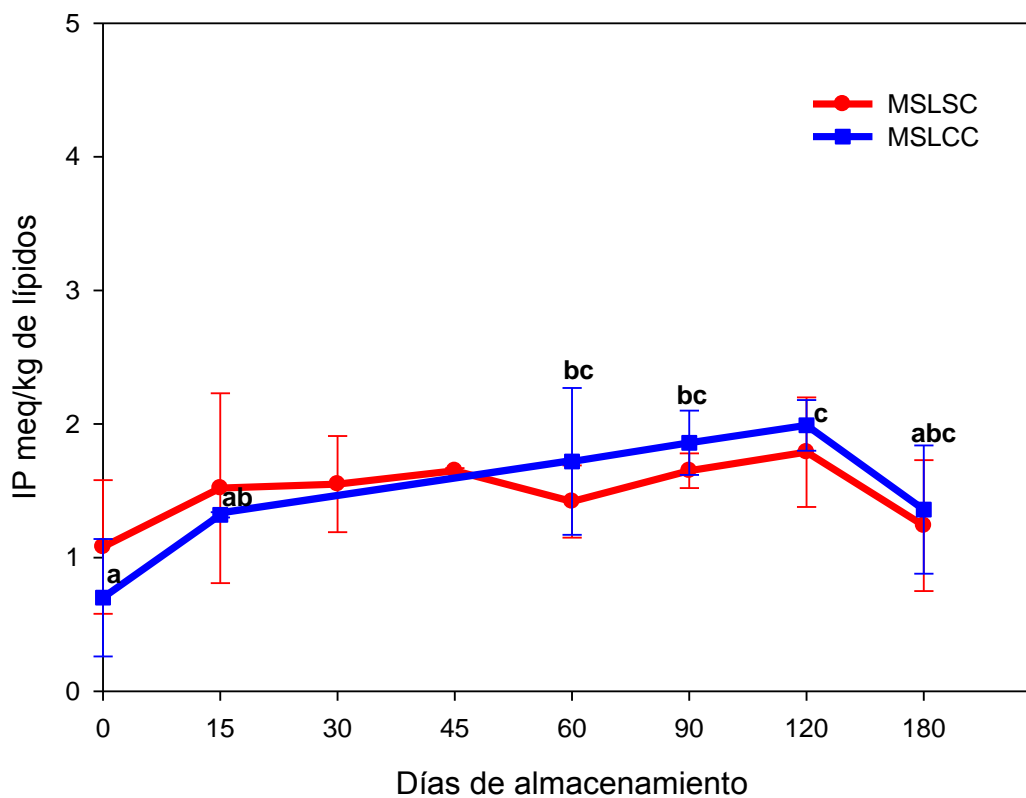


Figura 16. Valores de formación de peróxidos en los mince de esqueletos de tilapia durante su almacenamiento en congelación a -20°C . Los valores representan la media \pm desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento ($p < 0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

5 veces su valor por efecto del almacenamiento en congelación (Sofi *et al.*, 2014).

6.3.1.7 Cambios en los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). El pescado contiene un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados y en consecuencia es propenso a la oxidación lipídica. La determinación de TBARS es ampliamente utilizada para medir los productos secundarios de la oxidación en pescado y productos pesqueros (Liu *et al.*, 2010). La Figura 17 muestra los resultados obtenidos de TBARS para los mince evaluados durante 180 días de almacenamiento. Se observó una disminución en el contenido de TBARS del 59% por efecto del lavado ($p < 0.05$). En un estudio realizado en mince de esqueletos de tilapia se logró una disminución del 40% bajo las mismas condiciones del presente estudio (Kirschnik *et al.*, 2013), mientras que en mince de esqueletos de tilapia (1 lavado, 1:4 mince/agua), se alcanzó el 75% de disminución (Fogaca *et al.*, 2014).

Con el lavado se puede prevenir la oxidación lipídica debido a que se remueven lípidos y en consecuencia, el contenido de lípidos en el mince es menor, además se remueven hidroperóxidos y compuestos secundarios de la oxidación lo que proporciona mayor estabilidad a un alimento o producto (Fogaca *et al.*, 2014).

Los resultados del presente estudio también evidenciaron una disminución de 19% en el contenido de TBARS por efecto de la adición del crioprotectante ($p < 0.05$). Kilinc *et al.* (2009) observaron una disminución de 20.5% en el contenido de TBARS en filetes de trucha tratados con una solución de citrato de sodio al 2.5%. El ácido cítrico y sus sales han mostrado tener un efecto antioxidante cuando se aplican como tratamiento previo al almacenamiento ya que actúan como sinergistas, eliminadores de oxígeno y quelan iones de metales pesados (Aubourg *et al.*, 2004; Sanjuás *et al.*, 2011).

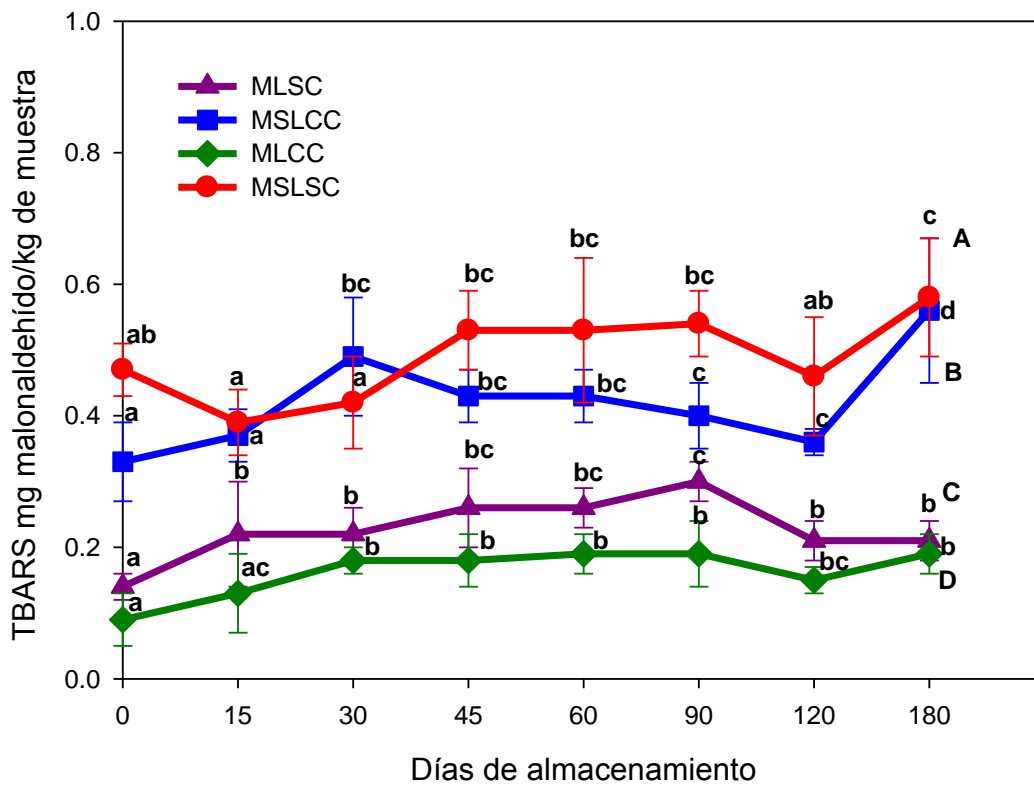


Figura 17. Cambios en los valores de TBARS en los mince de esqueletos de tilapia durante su almacenamiento a -20°C . Los valores representan la media ($n=12$) \pm desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p < 0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

La interacción lavado-crioprotectante no fue significativa sobre los valores de TBARS de los mince ($p>0.05$). Los valores de TBARS al inicio del almacenamiento en congelación para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fueron 0.5 ± 0.0 , 0.1 ± 0.0 , 0.3 ± 0.1 y 0.1 ± 0.0 mg de malonaldehído /kg respectivamente; resultados similares para el MSLSC fueron reportados por Kirschnik *et al.* (2013), quien cuantificó 0.5 mg de malonaldehído /kg, mientras que para el MLSC el valor obtenido en el presente estudio es inferior a 0.2 mg de malonaldehído /kg reportado.

Se observó un incremento en el contenido de TBARS de los mince por efecto del tiempo de almacenamiento ($p<0.05$). A los 30 días de almacenamiento se observó un aumento ($p<0.05$) en el contenido de TBARS en los tratamientos que fueron adicionados con el crioprotectante (0.2 en el MSLCC y 0.1 mg de malonaldehído /kg en el MLCC), mientras que para el tratamiento MLSC el aumento (0.1 mg de malonaldehído /kg) en el contenido de TBARS se dió a los 15 días y en el MSLSC (0.1 mg de malonaldehído /kg) fue hasta los 45 días ($p<0.05$). En otros estudios se ha observado incremento en el contenido de TBARS por efecto del tiempo de almacenamiento. Tosala *et al.* (2011) observaron un incremento en el contenido de TBARS en mince de músculo de sardina de 5 mg malonaldehído/kg durante 6 meses de almacenamiento. En mince de esqueleto de tilapia se ha observado incremento de 0.2 mg malonaldehído/kg en el mismo periodo (Kirschnik *et al.*, 2013). De manera que el mince de esqueletos de tilapia de este estudio presentó, según lo reportado, estabilidad ante la oxidación lipídica por 6 meses.

Aunque en las normas mexicanas no se sugieren límites con respecto a los valores de TBARS en productos pesqueros y en específico en mince se ha reportado que materias primas con valores de TBARS menores de 3 mg malonaldehído/kg poseen alta calidad y que para considerarse materia prima con buena calidad los valores de TBARS no deberán exceder los 5 mg malonaldehído/kg (Kilinc *et al.*, 2009). Además, los límites de TBARS para que

un producto sea apto para consumo humano son entre 7-8 mg malonaldehído/kg (Kilinc *et al.*, 2009). Todos los tratamientos incluso el MSLSC que presentó los valores mayores durante todo el almacenamiento al finalizar el periodo tuvieron valores menores a 3 mg malonaldehído/kg por lo tanto, los mince de esqueletos de tilapia tienen alta calidad para ser utilizados como materia prima en alimentos para consumo humano.

6.3.2 Evaluación Microbiológica de los Mince

6.3.2.1 Evaluación de los mince sin congelar. Uno de los factores más importantes para la utilización de esqueletos en la elaboración de mince es la calidad microbiológica inicial de los mince obtenidos. En la Tabla 4 se muestran los resultados de la evaluación microbiológica de cada lote de mince elaborado, se puede observar que todos los tratamientos estuvieron por debajo de los límites permitidos para mesófilos aerobios (7 log), coliformes totales (400 NMP/g) y ausente de microorganismos patógenos de acuerdo con lo establecido en las normas mexicanas (NOM-027-SSA1-1993/ NOM-242-SSA1-2009). Los mince sin congelar mostraron tener buena calidad desde el punto de vista microbiológico para utilizarse durante el almacenamiento en congelación.

6.3.2.2 Evaluación de los mince durante su almacenamiento. Para los conteos de bacterias mesófilas aerobias, se mantuvieron por debajo de lo establecido por la normatividad oficial. Se observó una reducción de 0.6 UFC/g log por efecto del lavado ($p < 0.05$). Shaviklo y Rafipour (2013) observaron una reducción efectiva de 2.4 UFC/g log en los conteos de bacterias mesófilas durante el proceso de lavado de mince de peces mictófidios para la obtención de surimi. En el presente estudio, se logró la reducción de 0.5 UFC/g log debido a la adición del crioprotectante ($p < 0.05$).

Tabla 4. Evaluación microbiológica de los mince sin congelar

Microorganismo	MSLSC	MLSC	MSLCC	MLCC
Mesófilos aerobios, UFC/g log	5.3±0.6	5.1±0.5	4.9±0.2	4.0±0.1
Coliformes totales, NMP/g	130±130	120±105	150±32	148±61
<i>Staphylococcus aureus</i> , UFC/g	<100	<100	<100	<100
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Los valores corresponden a la media ± desviación estándar MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

Se ha observado la reducción de 1.2 UFC/g log de los conteos de bacterias mesófilas aerobias por la inmersión de filetes de trucha en soluciones de sales de ácidos orgánicos (citrato de sodio al 2.5%) (Kilinc *et al.*, 2009). En productos a base de mince de bacalao se observó una reducción de 2.8-3.6 UFC/g log por la adición de lactato de sodio (Birkeland y Rotabakk 2014).

La acción antibacteriana de los ácidos orgánicos en los alimentos está dada por su forma disociada y es pH dependiente. La acción inhibitoria del ácido orgánico en estado disociado se debe a que en este estado es capaz de cruzar la membrana celular y entrar en la célula bacteriana. Una vez dentro de la célula provoca un aumento de pH y en consecuencia, la liberación de aniones y protones. Se ha demostrado que la acumulación de aniones y protones es capaz de inhibir las reacciones metabólicas en el interior de la célula bacteriana actuando así como bactericida (Birkeland y Rotabakk 2014).

La interacción lavado-crioprotectante no presentó efecto sobre los conteos de bacterias mesófilas aerobias de los mince ($p > 0.05$). Los conteos de bacterias mesófilas aerobias de los mince durante su almacenamiento en congelación se muestran en la Figura 18. Los valores iniciales para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fueron 5.5 ± 0.6 , 4.4 ± 0.7 , 4.6 ± 0.4 y 4.0 ± 0.1 , respectivamente. En tilapia se han reportado recuentos de bacterias mesófilas de 3 UFC/g log en pescado entero y un aumento de 1.4 UFC/g log posterior al fileteo. Este aumento en la carga microbiana es atribuido a la ausencia de BPM, atribuyéndoselo generalmente a los procedimientos de eviscerado y fileteado, así como también debido a que el alimento está expuesto a contaminación cruzada. Otros factores que pueden comprometer la calidad microbiana de mince son suspender la cadena del frío (lo adecuado es mantener la temperatura por debajo de 10°C) y emplear largos tiempos durante el procesamiento del mince (Suvanich *et al.*, 2000; Rong *et al.*, 2009).

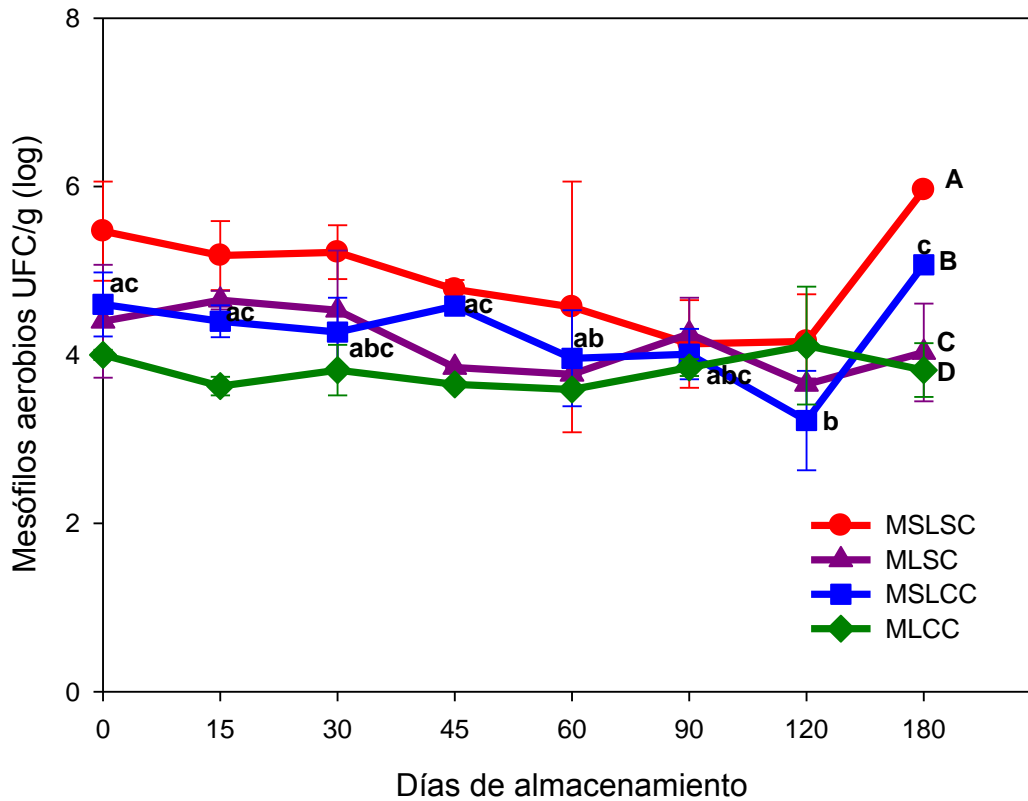


Figura 18. Recuento de bacterias mesófilas aerobias en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=4$) \pm desviación estándar. Diferente literal minúscula indica diferencia por efecto del almacenamiento y diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

El recuento inicial de bacterias mesófilas en MSLSC concuerda con lo reportado por Suvanich *et al.* (2000) que fue de 5.5 UFC/g log en mince de esqueletos de bagre. Al respecto mencionan que el mince producido por esqueletos de bagre almacenados en hielo por un día presenta conteos de 5 UFC/g log y que los conteos pueden aumentar con los días de almacenamiento en hielo. Cabe mencionar que los esqueletos utilizados en el presente estudio fueron almacenados en hielo por un día lo que pudiera explicar los altos conteos además de la manipulación que recibieron durante el proceso de fileteado artesanal en la zona de pesca.

Se observó efecto del tiempo de almacenamiento sobre el crecimiento de bacterias mesófilas aerobias de los mince ($p < 0.05$). En el MSLCC se observó una disminución de 1.4 UFC/g (log) durante el almacenamiento ($p < 0.05$), mientras que no se observaron cambios significativos en los tratamientos MSLSC, MLSC y MLCC ($p > 0.05$). Liu *et al.* (2014) evaluaron los cambios en los conteos de bacterias mesófilas aerobias en surimi de carpa almacenado en congelación a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en condiciones de superenfriamiento a $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 35 días, observando que se presentó un aumento de 0.4 UFC/g log a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ vs 2.8 UFC/g log a -1°C durante el almacenamiento. En este sentido, durante la congelación se logró el control del crecimiento de bacterias mesófilas en mince de esqueletos de tilapia.

Al finalizar el almacenamiento todos los mince evaluados presentaron conteos de bacterias mesófilas por debajo del límite permitido (7 log) establecido en la NOM-027-SSA1-1993. Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado en mince de músculo de tilapia donde observaron que después de 6 meses de almacenamiento los recuentos fueron menores a 6 UFC/g log.

En el recuento de coliformes fecales en los mince se observó una reducción de 60 NMP/g por efecto del lavado ($p < 0.05$). Shaviklo y Rafipour (2013) observaron una reducción 82 NMP/g durante el proceso de lavado de mince de

peces mictófidios para la obtención de surimi. En mince de esqueletos de bagre no se observó efecto del lavado sobre los conteos de coliformes (Suvanich *et al.*, 2000). Por lo tanto, con las condiciones de lavado implementadas en el presente estudio se logró una reducción efectiva en los conteos de coliformes fecales en mince de esqueletos de tilapia. Debido a la adición del crioprotectante se observó una reducción de 74 NMP/g ($p < 0.05$). Con el empleo de una solución de citrato de sodio al 2.5% se ha observado una reducción de 35 NMP/g en filete de trucha (Kilinc *et al.*, 2009). Sanjuás *et al.* (2012) observaron una reducción de 89 NMP/g por la inclusión de una solución de ácidos orgánicos (cítrico, ascórbico y láctico) en el hielo para el almacenamiento de macarela.

Se ha descrito que el ácido láctico es capaz de inhibir el crecimiento de muchos tipos de bacterias que causan el deterioro de los alimentos incluyendo bacterias gram-negativas. El mecanismo de acción del ácido láctico y posiblemente otros ácidos orgánicos es debido a que actúa como un potente agente en la desintegración de la membrana externa. Dentro de las funciones de la membrana externa es la propiedad de barrera de permeabilidad, cuando agentes como los ácidos orgánicos entran en contacto con la membrana externa pueden afectar la integridad de la misma. Como consecuencia la membrana externa permite el paso de diversos compuestos incluyendo agentes bactericidas que inhiben el crecimiento de bacterias gram-negativas (Alakomi *et al.*, 2000).

La interacción lavado-crioprotectante resultó significativa sobre el crecimiento de coliformes fecales ($p < 0.05$). En la Figura 19 se muestra los conteos de coliformes fecales de los mince durante su almacenamiento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 6 meses. Los recuentos iniciales de coliformes fecales para los tratamientos MSLSC, MLSC, MSLCC y MLCC fueron 80 ± 17.3 , 30 ± 8.2 , 36.7 ± 29.9 y 0 NMP/g, respectivamente.

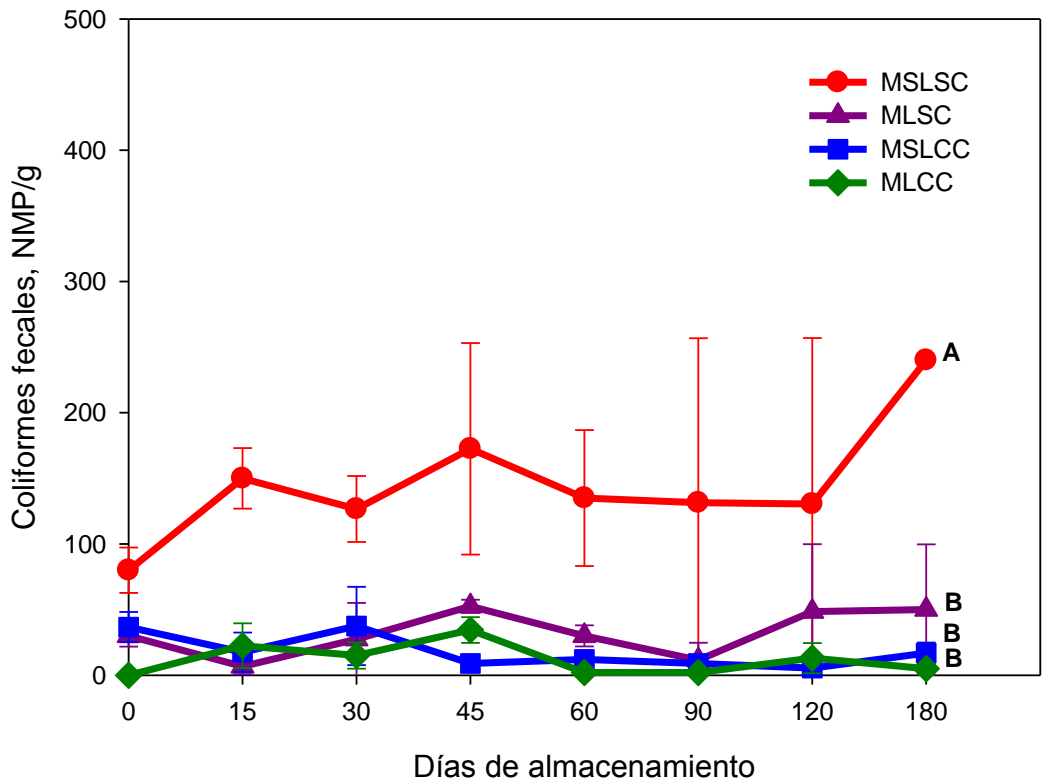


Figura 19. Recuento de coliformes fecales en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=4$) \pm desviación estándar. Diferente literal mayúscula indica diferencia por efecto del tratamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

Gatti *et al.* (2014) cuantificaron el contenido de coliformes en filetes de tilapia de supermercados, y los conteos variaron de <3 a >1100 NMP/g. La contaminación cruzada en muestras de tilapia durante el proceso de fileteado es un problema constante. Debido a la ausencia de BPM y al mal manejo, los filetes tienen mayor ocurrencia en conteos más altos de bacterias indicadoras de higiene que el pescado entero. Dentro de las fuentes de contaminación se incluyen los utensilios usados (tablas, cuchillos, mesas etc.), el personal a cargo y el agua utilizada durante el proceso.

Los conteos de coliformes fecales obtenidos en mince de esqueletos de tilapia son inferiores a 460 NMP/g reportado por Emire y Gebremariam (2009) en filetes de tilapia y 251 NMP/g en mince de músculo de bacalao (Birkeland y Rotabakk, 2014). Lo que sugiere un manejo adecuado durante el proceso de obtención de mince de esqueletos de tilapia.

No hubo efecto del tiempo de almacenamiento sobre los conteos de coliformes fecales en los mince ($p < 0.05$) de esqueletos de tilapia en el presente estudio. En filete de tilapia congelado se ha observado una disminución en los conteos de coliformes fecales a los 60 días de almacenamiento seguido de un aumento a los 75 días de almacenamiento (Emire y Gebremariam, 2009). En contraste Arannilewa *et al.* (2005) observaron un incremento progresivo en los conteos de coliformes en tilapia congelada lo cual atribuyen a las fluctuaciones de temperatura en la cámara de congelación.

Todos los tratamientos a los 180 días de almacenamiento en congelación se encontraban por debajo del límite permitido en la NOM-027-SSA1-1993 de 400 NMP/g. Además, durante todo el almacenamiento los tratamientos presentaron conteos de 0 NMP/g para *Escherichia coli*.

Al finalizar el almacenamiento todos los minces estuvieron con conteos de *Staphylococcus aureus* <100 UFC/g y ausencia de los microorganismos

patógenos *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*. Por lo tanto, los minces de esqueletos de tilapia presentan calidad microbiológica satisfactoria por 6 meses de almacenamiento a -20°C.

6.3.3 Evaluación Sensorial de los Mince

6.3.3.1 Olor. Los cambios en olor de los mince durante su almacenamiento se muestran en la Figura 20, durante el almacenamiento los mince solo presentaron cambios ligeros de olor. En el MSLSC el panel sensorial detectó los cambios ligeros a los 120 días de almacenamiento ($p < 0.05$). Joaquín *et al.* (2008) evaluaron la intensidad del olor a pescado en mince de músculo de arenque detectando cambios significativos a los 120 días de almacenamiento, que de acuerdo a la escala que utilizaron, el olor era moderado. La formación de olor a pescado puede ser causada por compuestos volátiles derivados de la descomposición de productos de la oxidación lipídica. El valor de TBARS en mince de arenque a los 120 días de almacenamiento fue 9 mg de malonaldehído/kg de muestra, valor superior al obtenido en el presente estudio (0.46 mg de malonaldehído/kg de muestra).

Tomando en cuenta que los mince de esqueletos de tilapia tiene un contenido bajo de grasa y los valores de TBARS fueron de 0.46, estas características contribuyeron a que el panel fue capaz de detectar cambios ligeros en el olor en mince de esqueletos de tilapia.

El comentario de los panelistas fue que el MSLSC presentaba un olor más marcado a pescado pero no es olor de deterioro. Fu *et al.* (2009) evaluaron la contribución de la lipoxigenasa y la hemoglobina en la formación de olores desagradables en mince de carpa. Los olores desagradables provenientes de la oxidación lipídica en mince de carpa fueron un fuerte olor a “pescado” en mince adicionado con la enzima lipoxigenasa y severo olor a “aceite oxidado” por la contribución de la hemoglobina. El fuerte olor a pescado en mince de carpa

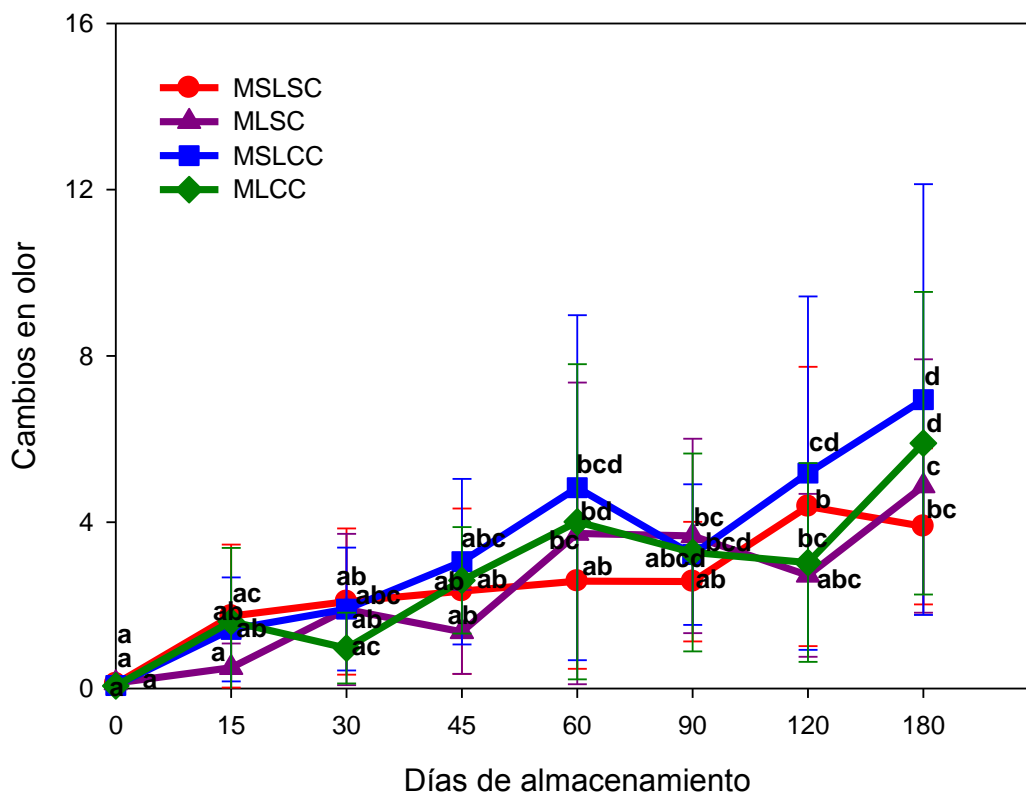


Figura 20. Evaluación sensorial de los cambios en olor en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=12$) \pm desviación estándar. Diferentes literales indican diferencia por efecto del almacenamiento ($p<0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

puede deberse al compuesto 2.4-heptadienal, mientras que el olor a aceite oxidado puede ser por el nonanal. La intensidad del atributo sensorial olor será proporcional a la concentración de los compuestos relacionados.

En el caso del MLSC los cambios ligeros fueron detectados hasta finalizar el almacenamiento ($p < 0.05$). En mince de lobina con lavado se ha observado menor formación de compuestos volátiles producto de la oxidación lipídica comparado con mince lavado adicionado con hemoglobina. Cuando el mince de lobina fue adicionado con hemoglobina de tilapia se presentó mayor formación de compuestos volátiles comparado con la hemoglobina de lobina. En consecuencia, la hemoglobina de tilapia fue más efectiva como catalizador de la oxidación lipídica contribuyendo al desarrollo de olor a pescado (Maqsood *et al.*, 2012). La reducción en el contenido de hemoglobina, mioglobina y contenido de hierro proveniente de la hemoglobina aumenta la estabilidad ante la oxidación lipídica (Yarnpakdee *et al.*, 2012). Lo anterior es un punto a favor para la utilización de MLSC de esqueletos de tilapia que presentó estabilidad en la oxidación lipídica y en consecuencia, estabilidad en el olor durante el almacenamiento.

En los tratamientos donde se adiciono crioprotectante (MSLCC y MLCC) los cambios ligeros en olor se dieron a los 60 días de almacenamiento ($p < 0.05$), lo que sugiere que el crioprotectante promovió un olor detectable por los panelistas. Contrario a lo reportado en filetes de trucha tratados con soluciones de sales de ácidos orgánicos al 2.5% donde los resultados de la evaluación sensorial sugieren que las soluciones empleadas no imparten olores (kilinc *et al.*, 2009).

6.3.3.2 Color. En la Figura 21 se presentan los cambios en color de los mince durante el almacenamiento en congelación. Al igual que en el olor, los cambios presentados durante el almacenamiento fueron ligeros. En los tratamientos MLSC y MLCC el panel detectó los cambios ligeros al finalizar el almacenamiento ($p < 0.05$). En lo que respecta los tratamientos MSLSC y MSLCC los cambios ligeros fueron detectados a los 60 días de almacenamiento ($p < 0.05$).

Los comentarios de los panelistas fueron que los tratamientos sin lavado (MSLSC y MSLCC) al inicio del almacenamiento tenían un color marrón. A partir del día 30 de almacenamiento se empezaron a presentar tonalidades café más que rojiza y se fue acentuando durante el transcurso del almacenamiento. Para finalmente presentar un color café claro con zonas de color café verdoso a los 180 días. Por otro lado, los tratamientos con lavado (MLSC y MLCC) al inicio del almacenamiento tenían un color rosa-crema. A los 30 días de almacenamiento presentaron tonalidades amarillas y se percibían más claro. En el transcurso de almacenamiento se fue acentuando la presencia de tonalidades amarillas y dándole al mince una apariencia mas clara. A los 180 días de almacenamiento el color de los minces lavados fue descrito como amarillo-crema.

El color es debido a la presencia de pigmentos y puede ser afectado por las reacciones químicas y bioquímicas que se presenten durante el procesamiento y almacenamiento. Los principales pigmentos en el músculo oscuro son la mioglobina y hemoglobina que son los responsables del color rojo brillante. Sin embargo, durante el almacenamiento pueden sufrir reacciones de oxidación causando decoloración marrón o amarilla. Por otro lado, la oxidación también puede causar decoloración amarilla debido a la formación de pigmentos amarillos, como resultado de la reacción entre proteínas y productos de la oxidación.

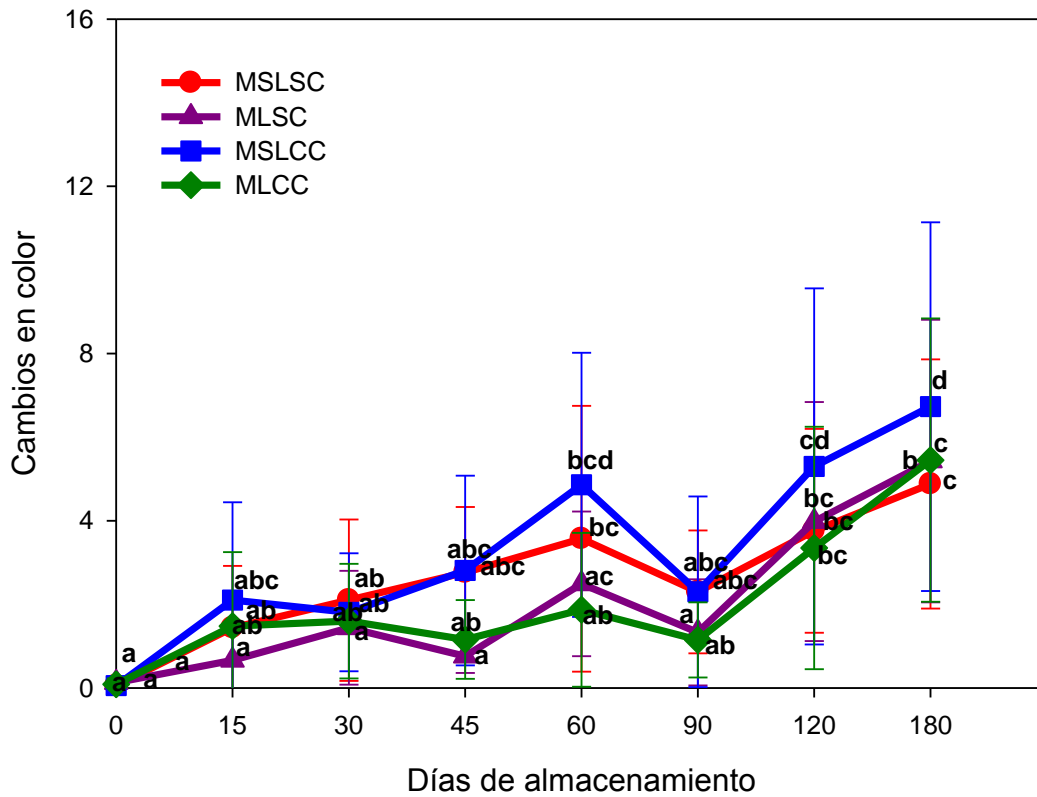


Figura 21. Evaluación sensorial de los cambios en color en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=12$) \pm desviación estándar. Diferentes literales indican diferencia por efecto del almacenamiento ($p < 0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

Adicionalmente, puede ocurrir decoloración grisácea que puede ser causada por la incorporación de melaninas de la piel durante la separación mecánica (Suvanich *et al.*, 2000; Yarnpakdee *et al.*, 2012; Pivarnik *et al.*, 2013; Dowlati *et al.*, 2013).

En el caso del presente estudio, el color café claro del mince sin lavar y el color amarillo-crema en mince lavado pudiera explicarse por la oxidación de hemoglobina y lípidos, y en consecuencia la formación de coloraciones amarillas. Los cambios en color detectados por los panelistas concuerdan de alguna manera con los resultados evaluados instrumentalmente y explicados en secciones anteriores.

6.3.3.3 Textura. Los cambios en textura sensorial de los mince almacenados en congelación se presentan en la Figura 22. El panel no detectó cambios en la textura del MLSC ($P > 0.05$). Tolasa *et al.* (2011) evaluaron la textura de mince de músculo de sardina, observaron que fue moderadamente firme y que permaneció sin cambios durante 6 meses de almacenamiento a -18°C . En el resto de los tratamientos el panel percibió cambios ligeros en textura, en el MSLCC fue a los 120 días de almacenamiento y en los tratamientos MSLSC y MLCC fue a los 180 días ($p < 0.05$).

Los comentarios de los panelistas para tratamiento sin lavado (MSLSC y MSLCC) es que presentaron una textura blanda que no ofrece resistencia al presionarla y que pierde mucha agua. En cambio para los tratamientos con lavado (MLSC y MLCC) los comentarios fueron que presentaron una textura más firme, eran más compactas, mantenían su integridad al ser presionadas y liberaban mínima cantidad de agua. Durante el transcurso del almacenamiento observaron que el mince perdió poca agua y a los 180 días perdió de baja a media agua.

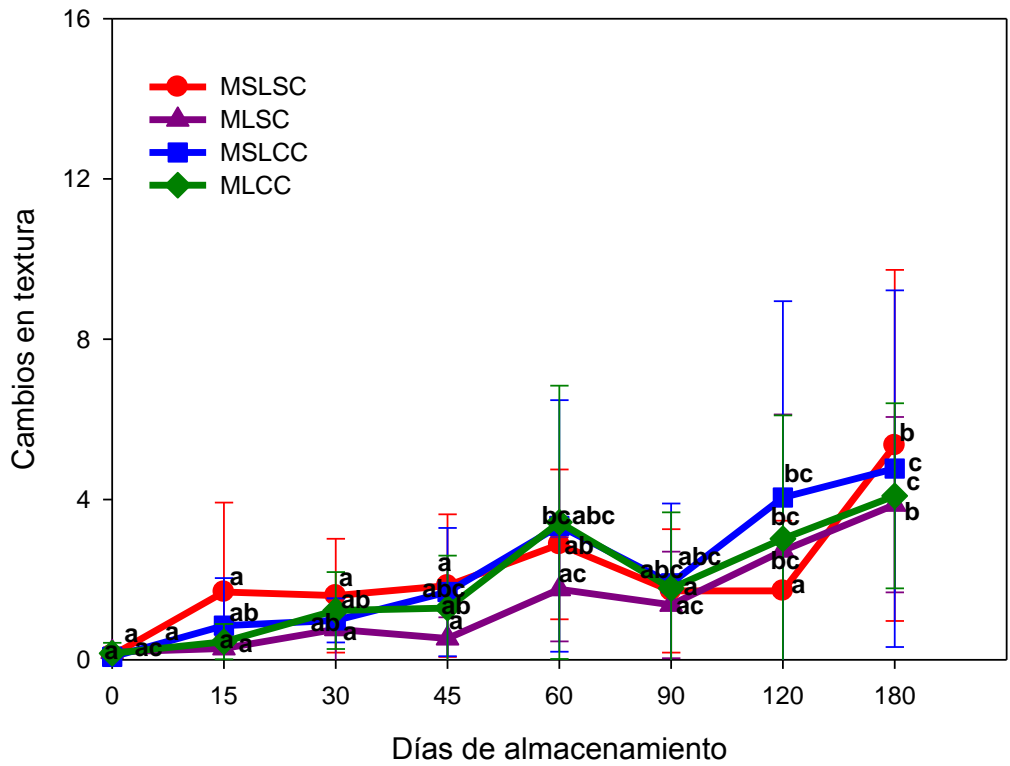


Figura 22. Evaluación sensorial de los cambios en textura en mince de esqueletos de tilapia almacenados en congelación a -20°C . Los valores representan la media ($n=12$) \pm desviación estándar. Diferentes literales indican diferencia por efecto del almacenamiento ($p < 0.05$). MSLSC= mince sin lavar sin crioprotectante. MSLCC= mince sin lavar con crioprotectante. MLSC= mince lavado sin crioprotectante. MLCC= mince lavado con crioprotectante.

En un estudio se observó que el mince de carpa lavado presentó mayor capacidad de retención de agua que el mince sin lavado, en ambos mince la capacidad de retención de agua disminuyó durante el almacenamiento en congelación. Las proteínas sufren cambios durante el almacenamiento en congelación incluyendo desnaturalización, cristalización y cambios en la microestructura. Estos cambios en las proteínas durante la congelación se reflejan en una disminución de la capacidad de formación de gel, la capacidad de retención de agua y la capacidad de emulsificación (Majumdar *et al.*, 2012). Las observaciones de los panelistas sugieren que al igual que en mince de carpa, el mince de esqueletos de tilapia lavado pudiera presentar mayor capacidad de retención de agua. En este sentido, se sugiere evaluar la funcionalidad de mince de esqueletos de tilapia lavado en estudios futuros.

VII. CONCLUSIONES

Durante la congelación, se logró llegar al centro térmico de los mince en tiempo menor a 13 horas bajo las condiciones de estudio, factor que pudo haber influido en la buena estabilidad durante el almacenamiento.

Los mince presentaron una vida de anaquel estable en congelación (-20 °C) durante los 6 meses de almacenamiento, sugiriendo que el producto podría tener una vida útil mas prolongada, particularmente con el tratamiento lavado que promovió mayor estabilidad que el crioprotectante comercial seleccionado, a las concentraciones utilizadas.

Los cambios en el color de mince de esqueletos de tilapia durante el almacenamiento en congelación se deben principalmente al aumento en los valores de “b”, por lo tanto la coloración tiene a ser más amarilla.

La vida de anaquel de los mince demostró que los productos obtenidos son de calidad, inocuidad y estabilidad durante el almacenamiento en congelación, por lo que presentan gran potencial para la elaboración de productos de valor agregado como hamburguesas y productos empanados a nivel semi-industrial e industrial.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aberoumand A. 2010. Estimation of microbiological variations in minced lean fish products. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2(3): 204-207.
- Alakomi H.L., Skyttâ E., Saarela M., Mattila T., Latva K. y Helander I.M. 2000. Lactic acid permeabilized gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane *Applied and Environmental Microbiology*. 66(5): 2001-2005.
- Alasalvar C., Shahidi F., Miyashita K. y Wanasundra U. 2011. *Handbook of seafood quality, safety and health applications*. Wiley-Blackwell. Primera edición. 576 pp.
- Alizadeh E., Chapleau N., Lamballerie M. y Le-Bail A. 2007. Effect of different freezing processes on the microstructure of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 8(4): 493-499.
- Amagliani G., Brandi G. y Schiavano G.F. 2012. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. *Food Research International*. 45(2): 780-788.
- A.O.A.C. Official Methods. 2000. VII, 950.46, 938.02, 920.39.
- Arannilewa S.T., Salawu S.O., Sorungbe A.A. y Ola B.B. 2005. Effect of frozen period on the chemical, microbiological and sensory quality of frozen tilapia fish (*Sarotherodum galiaenus*). *African Journal of Biotechnology*. 4(8): 852-855.
- Asgharzadeh A., Shabanpour B., Aubourg S.P. y Hosseini H. 2010. Chemical changes in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) minced muscle during frozen storage: Effect of a previous washing process. *Grasas y aceites*. 61(1): 95-101.
- Aubourg S.P., Pérez F. y Gallardo J.M. 2004. Studies on rancidity inhibition in frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*) by citric and ascorbic acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 106(4): 232-240.
- Bechtel P.J. 2003. Properties of different fish processing by-products from pollock, cod and salmon. *Journal of Food Processing and Preservation*. 27(2): 101-116.

- Birkeland S. y Rotabakk B.T. 2014. Effects of additives and packaging method on quality and microbiological characteristics in mild thermal processed fish mince. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 23(4): 368-384.
- Biscalchin-Grýschek S.F, Oetterer M. y Gallo C.R. 2003. Characterization and frozen storage stability of minced Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Red tilapia (*Oreochromis spp.*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 12(3):57-69.
- Blond G. y Le Meste M. 2004. Principles of frozen storage. En: Hui Y.H., Cornillon P., Guerrero I., Lim M.H., Murrell K.D. y Kit Nip W. (eds.). *Handbook of frozen foods*. Marcel Dekker, INC., New York, 25-53 p.
- Bochi V.C., Weber J., Ribeiro C.P., Victorio A.M. y Emanuelli T. 2008. Fishburgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting residue. *Bioresource Technology*. 99(18): 8844-8849.
- Borderías A.J. y Sánchez-Alonso I. 2011. First processing steps and the quality of wild and farmed fish. *Journal of Food Science*. 76(1): R1-R5.
- Carvajal P.A., Lanier T.C. y Macdonald G.A. 2005. Stabilization of proteins in surimi. En: Park J.W. (ed). *Surimi and Surimi Seafood*. CRC Press, Boca Raton, FL., 164-213 pp.
- Chaijan M., Benjakul S. Visessanguan W. y Faustman C. 2005. Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*. 93(4): 607-617.
- Chaijan M. 2011. Physicochemical changes of tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle during salting. *Food Chemistry*. 129(3): 1201-1210.
- Chow C., Yang J., Lee P. y Ochiai Y. 2009. Effects of acid and alkaline pretreatment on the discoloration rates of dark muscle and myoglobin extract of skinned tilapia fillet during iced storage. *Fisheries Science*. 75(6): 1481-1488.
- CODEX STAN 165-1989. Norma del codex para bloques de filetes de pescado congelados, carne de pescado picada y mezclas de filetes y carne de pescado picada congelados rápidamente.
- CONAPESCA. 2011. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2011. Dirección General de Planeación, Programación y Evaluación. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca
- CONAPESCA. 2011b. Guía empresarial para el cultivo, engorda y comercialización de la tilapia (mojarra). Consultoría en Optimización Empresarial. México, D.F.

- CONAPESCA. 2012. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2012. Dirección General de Planeación, Programación y Evaluación. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca.
- Dileep A.O., Shamasundar B.A., Binsi P.K., Badii F. y Howell N.K. 2012. Composition, physicochemical and rheological properties of fresh bigeye snapper fish (*Priacanthus Hamrur*) mince. *Journal of Food Biochemistry*. 36(5): 577-586.
- Dowlati M., Mohtasebi S.S., Omid M., Razavi S.H., Jamzad M. y Guardia M. 2013. Freshness assessment of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) machine vision based on gill and eye color changes. *Journal of Food Engineering*. 119(2):277-287.
- Duan Z., Jiang L., Wang J., Yu X. y Wang T. 2011. Drying and quality characteristics of tilapia fish fillets dried with hot air-microwave heating. *Food and Bioproducts Processing*. 89(4): 472-476.
- Emire S.A. y Gebremariam M.M. 2009. Influence of frozen period on the proximate composition and microbiological quality of Nile tilapia fish (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Food Processing and Preservation*. 34(4): 743-757.
- Eymard S., Baron C.P. y Jacobsen C. 2009. Oxidation of lipid and protein in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) mince and washed minces during processing and storage. *Food Chemistry*. 114(1):57-65.
- Eymard S., Jacobsen C. y Baron C. 2010. Assessment of washing with antioxidant on the oxidative stability of fatty fish mince during processing and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(10): 6182-6189.
- FAO. 2008. Cultured Aquatic Species Information Programme *Oreochromis niloticus*. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO [en línea]. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es
- FAO. 2010. Estadísticas de pesca y acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma. 72 pp.
- FAO. 2011. GLOBEFISH. Highlights. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma. 55 pp.
- FAO. 2012. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma. 229 pp.
- Ferraro V., Cruz I.B., Ferreira R., Malcata F.X., Pintado M.E. y Castro P. 2010. Valorisation of natural extracts from marine source focused on marine by-products: A review. *Food Research International*. 43(9): 2221-2233.

- Fitzsimmons K. 2013. Tendencias recientes en la producción y los mercados mundiales. Conferencia Mundial de Tilapia 2013. Rio de Janeiro, Brasil.
- Fogaca F.H., Sant L.S., Ferreira J.A., Giacometti M. y Carneiro D.J. 2014. Restructured products from tilapia industry byproducts: The effects of tapioca starch and washing cycles. Food and Bioproducts Processing. Article in press.
- Fonseca G.G., Cavenaghi A.D., Silva M.F., Arcanjo V. y Sanjinez E.J. 2013. Influence of treatments in the quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets. Food Science & Nutrition. 1(3): 246-253.
- Fu X., Xu S. y Wang Z. 2009. Kinetics of lipid oxidation and off-odor formation in silver carp mince: The effect of lipoxygenase and hemoglobin. Food Research International. 42(1):85-90
- Gatti P., Assuncao A.W., Baldin J.C. y Amaral L.A. 2014. Microbiological quality of whole and filleted shelf-tilapia. Aquaculture. 433: 196-200.
- Giménez B., Gómez-Guillén M.C., Pérez-Mateos M., Montero P. y Márquez-Ruiz G. 2011. Evaluation of lipid oxidation in horse mackerel patties covered with borage-containing film during frozen storage. Food Chemistry. 124(4): 1393-1403.
- Gonzales J.M. y Brown P.B. 2006. Nile tilapia *Oreochromis niloticus* as a food source in advanced life support systems: Initial considerations. Advances in Space Research. 38(6): 1132-1137.
- Hall G.M. 1997. Fish processing technology. Blackie Academic and Professional. Segunda edición. London, UK. 289 pp.
- He S., Franco C. y Zhang W. 2013. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). Food Research International. 50(1):289-297.
- Herrera J.R. y Mackie I.M. 2004. Cryoprotection of frozen-stored actomyosin of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by some sugars and polyols. Food Chemistry. 84(1): 91-97.
- Himonides A.T., Taylor K.D.A. y Knowles M.J. 1999. The improved whitening of cod and haddock flaps using hydrogen peroxide. Journal of the Science of Food and Agriculture. 79(6):845-850.
- Hoke M.E., Jahncke M.L., Silva J.L., Hearnberger J.O., Chamul R.S. y Suriyaphan O. 2000. Stability of washed frozen mince from channel catfish frames. Journal of Food Science. 65(6): 1083-1086.
- Huss H.H. 1997. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. FAO Documento Técnico de Pesca. Roma.

- Jiang S. y Lee T. 2004. Freezing seafood and seafood products principles and applications. En: Hui Y.H., Cornillon P., Guerrero I., Lim M.H., Murrell K.D. y Kit Nip W. (eds.). Handbook of frozen foods. Marcel Dekker, INC., New York
- Joaquín H.J.F., Tolasa S., Oliveira A.C.M., Lee C.M. y Lee K.H. 2008. Effect of milk protein concentrate on lipid oxidation and formation of fishy volátiles in herring mince (*Clupea harengus*) during frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(1):166-172.
- Kiani H. y Sun D. 2011. Water crystallization and its importance to freezing of foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 22(8): 407-426.
- Kilinc B., Cakli S., Dincer T. y Tolasa S. 2009. Microbiological, chemical, sensory, color and textural changes of rainbow trout fillets treated with sodium acetate, sodium lactate, sodium citrate, and stored at 4 °C. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 18(1): 3-17.
- Kirschnik P.G., Trindade M.A., Gomide C.A., Gaglianone M.E. y Macedo E.M. 2013. Storage stability of Nile tilapia meat mechanically separated, washed, added with preservatives and frozen. *Pesquisa. Agropecuária. Brasileira*. 48(8):935-942.
- Kolbe E. 2005. Freezing technology. En: Park J.W. (ed). *Surimi and Surimi Seafood*. CRC Press, Boca Raton, FL., 325-369.
- Kuwahara K. y Konno K. 2010. Suppression of thermal denaturation of myosin and salt-induced denaturation of actin by sodium citrate in carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry*. 122(4): 997-1002.
- Lakshmisha I.P., Ravishankar C.N. Ninan G., Mohan C.O. y Gopal T.K.S. 2008. Effect of freezing time on the quality of indian mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) during frozen storage. *Journal of Food Science*. 73(7): S345-S353.
- Leelapongwattana K., Benjakul S., Visessangua W. y Howell N.K. 2005. Physicochemical and biochemical changes during frozen storage of minced flesh of lizardfish (*Saurida micropectoralis*). *Food Chemistry*. 90(1-2): 141.150.
- Liu Q., Kong B., Han J., Chen Q. y He X. 2014. Effects of superchilling and cryoprotectants on quality of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi: Microbial growth, oxidation and physiochemical properties. *LWT-Food Science and Technology*. 57(1): 165-171.
- Liu S., Fan W., Zhong S., Ma C., Li P., Zhou K., Peng Z. y Zhu M. 2010. Quality evaluation of tray-packed tilapia fillets stored at 0 °C base don sensory, microbiological, biochemical and physical attributes. *African Journal of Biotechnology*. 95(5): 692-701.

- MacDonald G.A. y Lanier T.C. 1997. Cryoprotectants for improving frozen food quality. En: Erickson M.C. y Hung Y. (eds.). *Quality in Frozen Food*. Chapman & Hall. New York, NY. 197-232 pp.
- Majumdar R.K., Deb S., Dhar B. y Priyadarshini B.M. 2012. Chemical changes in washed mince of silver carp (*Hypophthalmichthys niloticus*) during frozen storage at -20°C with or without cryoprotectants. *Journal of Food Processing and Preservation*. 37(5): 952-961.
- Mantilla D., Kristinsson H.G., Balaban M.O., Otwell W.S., Chapman F.A. y Raghavan S. 2008. Color stability of frozen whole tilapia exposed to pre-mortem treatment with carbon monoxide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88(8):1394-1399.
- Maqsood S., Benjakul S. y Kamal A. 2012. Haemoglobin-mediated lipid oxidation in the fish muscle: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 28(1):33-43.
- Marella C. y Muthukumarappan K. 2013. Food freezing technology En: Myer K. (ed). *Handbook of farm, dairy and food machinery engineering*. Academic Press, San Diego, 355-378 p.
- Medina I., Gallardo J.M. y Aubourg P. 2009. Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *Food Science & Technology*. 44(8): 1467-1479.
- Mojica F.J., Vivanco M., Martínez F.J. y Trujillo C. 2010. *Tilapia 2020: Prospectivo del sistema-producto nacional de tilapia en México*. CIAD, A.C. Mazatlán.
- Murthy L.N., Panda S.K. y Shamasundar B.A. 2011. Physico-chemical and functional properties of proteins of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Food Process Engineering*. 34(1): 83-107.
- Ninan G., Bindu J. y Joseph J. 2010. Frozen storage studies of value-added mince-based products from tilapia (*Oreochromis mossambicus*, peters 1852). *Journal of Food Processing and Preservation*. 34(s1): 255-271.
- Nesvadba P. 2008. Thermal properties and ice crystal development in frozen foods. En: Evans J.A. (ed). *Frozen food science and technology*. Blackwell Publishing, Oxford, 1-25 p.
- Nopianti R., Huda N., Noryati I., Fazilah A. y Easa A.M. 2012. Cryoprotective effect of low-sweetness additives on protein denaturation of threadfin bream surimi (*Nemipterus spp.*) during frozen storage. *CyTA- Journal of Food*. 10(3): 243-250.
- NMX-529-SCFI-2004. *Productos de la pesca-pulpa de pescado congelada o congelada rápidamente. Especificaciones*.

- NOM-027-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- NOM-112-SSA1-1994. Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
- NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos.
- NOM-115-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
- NOM-143-SSA1-1995. Bienes y servicios. Método de prueba microbiológica para alimentos. Determinación de *Listeria monocytogenes*.
- NOM-242-SSA1-2009. Productos y servicios. Productos de la pesca frescos, refrigerados, congelados y procesados. Especificaciones sanitarias y métodos de prueba.
- Oliveira P.R.C., Netto F.M., Kawazaki K., Trindade M.A. Y Macedo E.M. 2010. Elaboration of sausage using minced fish of Nile tilapia filleting waste. Brazilian Archives of Biology and Technology. 53(6): 1383-1391.
- Oliveira P.R.C., Macedo E.M., Kamimura, E.S. y Trindade M.A. 2012. Evaluation of physicochemical and sensory properties of sausages made with washed and unwashed mince from Nile tilapia by-products. Journal of Aquatic Food Product Technology. 21(3): 222-237.
- Pacheco-Aguilar R., Lugo- Sánchez M.E. y Robles-Burgueño M.R. 2000. Postmortem biochemical and functional characteristic of Monterey sardine muscle stored at 0°C. Journal of Food Science. 65: 40-75.
- Persson P.O. y Lõndahl G. 1993. Freezing technology. En: Mallett C.P. (ed). Frozen Food Technology. Blackie Academic & Professional, Gran Bretaña, 20-58 p.
- Pivarnik L.F., Faustman C., Suman S.P., Palmer C., Richard N.L., Christopher P. y Diliberti M. 2013. Quality assessment of commercially processed carbón monoxide-treated tilapia fillets. Journal of Food Science. 78(6): S902-S910.
- Reynolds J., Park J.W. y Choi Y.J. 2002. Physicochemical properties of pacific whiting surimi as affected by various freezing and storage conditions. Journal of Food Science. 67(6): 2072-2078.
- Rong C., Chang-hu X., Qi L. y Bang-zhong Y. 2009. Microbiological, chemical and sensory assessment of (I) whole ungutted, (II) whole gutted and (III)

- filleted tilapia (*Oreochromis niloticus*) during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 44(11): 2243-2248.
- Rosnes J., Skara T. y Skipnes D. 2011. Recent advances in minimal heat processing of fish effects on microbiological activity and safety. *Food and Bioprocess Technology*. 4(6): 833-848.
- Rustad T. 2003. Utilisation of marine by-products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*.
- Rustad T., Storrø I. y Slizyte R. 2011. Possibilities for the utilisation of marine by-products. *International Journal of Food Science & Technology*. 46(10): 2001-2014.
- Sallam K. I. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*. 18(5):566-575.
- Sampels S. 2014. The effects of storage and preservation technologies on the quality of fish products: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*.
- Sanjuás M., García B., Barros J., Fuertes J. R. y Aubourg S.P. 2011. Effect of a two-step natural organic acid treatment on microbial activity and lipid damage during blue whiting (*Micromesistius poutassou*) chilling. *International Journal of Food Science and Technology*. 46(5): 1021-1030.
- Sanjuás M., Gallardo J.M., Barros J. y Aubourg P. 2012. Microbial activity inhibition in chilled mackerel (*Scomber scombrus*) by employment of an organic acid-icing system. *Journal of Food Science*. 77(5):264-269.
- Sayas E., Fernández J. y Pérez J.A. 2009. Anatomía y ultraestructura del pescado. En: Guerrero I., Rosimini, M. y Armenta R. (eds.). *Tecnología de productos de origen acuático*. LIMUSA. México, D.F. 57-74 pp.
- Sen D.P. 2005. *Advances in fish processing technology*. Allied Publishers Pvt. Ltd.
- Shahidi F. 2007. *Maximising the value of marine byproducts*. CRC Press. Primera edición. Boca Raton, USA. 516 pp.
- Shaviklo A.R., Rafipour F. 2013. Surimi and surimi seafood from whole ungutted myctophid mince. *LWT-Food Science and Technology*. 54(2): 463-468.
- Singh R.P. y Heldman D. R. 2014. *Introduction to food engineering*. Academic Press. Quinta edición. San Diego. 851 pp.
- Slizyte R., Rustad T. y Storro I. 2005. Enzymatic hydrolysis of cod (*Gadus morhua*) by-products: Optimization of yield and properties of lipid and protein fractions. *Process Biochemistry*. 40(12): 3680-3692.

- Sofi F.R., Zofair S.M., Reddy V.K., Sabha K.K. y Ratankumar R. 2014. Effect of a previous washing step with tannic acid on the quality of mince horse mackerel (*Trachurus trachurus*) during frozen storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 23(3): 253-263.
- Suvanich V., Jahncke M.L. y Marshall D.L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel catfish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science*. 65(1):24-29.
- Thiansilakul Y., Benjakul S., Park S.Y. y Richards M.P. 2012. Characteristics of myoglobin and haemoglobin-mediated lipid oxidation in washed mince from bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*). *Food Chemistry*. 132(2): 892-900.
- Tokur B., Polat A., Beklevik G. y Ozkutuk S. 2004. Changes in the quality of fishburger produced from tilapia (*Oreochromis niloticus*) during frozen storage (-18°C). *European Food Research and Technology*. 218(5): 420-423.
- Tolasa S., Lee C.M. y Calki S. 2011. Lipid oxidation and omega-3 fatty acid retention in salmon and mackerel nuggets during frozen storage. *Journal Aquatic Food Product Technology*. 20(2): 172-182.
- Tolasa S., Cakli S., Cadun A. y Lee C.M. 2011. Control of lipid oxidation and texture changes in frozen sardine mince by combined use of milk protein concentrate and caffeic acid. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 20(3): 308-318.
- Usydus Z., Szlinder-Richert J. y Adamczyk M. 2009. Protein quality and amino acid profiles of fish products available in Poland. *Food Chemistry*. 112(1):139-145.
- Villarreal C.A. 2009. Desarrollo de estrategias para la producción y comercialización de productos de valor agregado a partir de tilapia y aprovechamiento de subproductos de su procesamiento. Comité Nacional Sistema Producto Tilapia.
- Walstra P. 2003. *Physical chemistry of foods*. Marcel Dekker, INC. New York.
- Weilmeier D.M. y Regenstein J.M. 2004. Antioxidant properties of phosphates and other additives during the storage of raw mackerel and lake trout. *Journal of Food Science*. 69 (2): 102-108.
- Wendel A., Park J.W. y Kristbergsson K. 2002. Recovered meat from pacific whiting frame. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 11(1):5-18.
- Woyewoda A.D., Shaw S.J. y Burns B.G. 1986. Recommended Laboratory Method for Assessment of Fish Quality. Canadian Technical Report of Fishery and Aquatic Sciences No. 1448.

- Yapar A., Atay S., Kayacier A. Yetim H. 2006. Effects of different levels of salt and phosphate on some emulsion attributes of the common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Food Hydrocolloids*. 20(6): 825-830.
- Yarnpakdee S., Benjakul S. y Kristinsson H.G. 2012. Effect of pretreatments on chemical compositions of mince from a Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and fishy odor development in protein hydrolysate. *International Aquatic Research*. 4(7): 1-16.
- Yongsawatdigul J., Pivisan S., Wongngam W. y Benjakul S. (2013). Gelation characteristics of mince and washed mince from small-scale mud carp and common carp. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 22(5):460-473.
- Zaritzky N. 2012. Physical-chemical principles in freezing. En: Sun D. (ed). *Handbook of frozen food processing and packaging*. CRC Press. Segunda edición, Florida, 3-38 p.
- Zhou A., Benjakul S., Pan K., Gong J. y Liu X. 2006. Cryoprotective effects of trehalose and sodium lactate on tilapia (*Sarotherodon nilotica*) surimi during frozen storage. *Food Chemistry*. 96(1): 96-103.
- Zimmermann S. 2010. Recent developments of the tilapia production in Latin America and commercialization and market potentials. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 21:465-466.

ANEXO 1

Formato utilizado en la evaluación sensorial

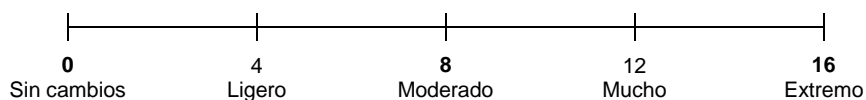
ANALISIS SENSORIAL DE MINCE DE SUBPRODUCTOS DE TILAPIA

Nombre: _____

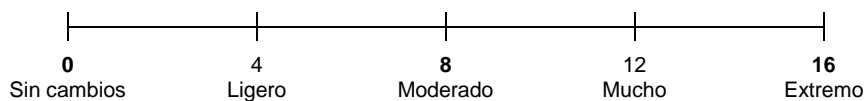
Fecha: _____ **F73**

INSTRUCCIONES: Marque con una **X** la escala que le asigne en cada una de las muestras de acuerdo a la intensidad de percepción. Utilice el café en grano para limpiar la nariz.

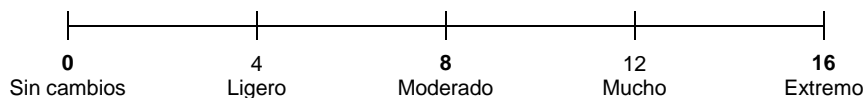
Olor



Color



Textura



Observaciones y/o Comentarios

Gracias Por Su Participación

ANEXO 2

Proceso de Obtención de Mince



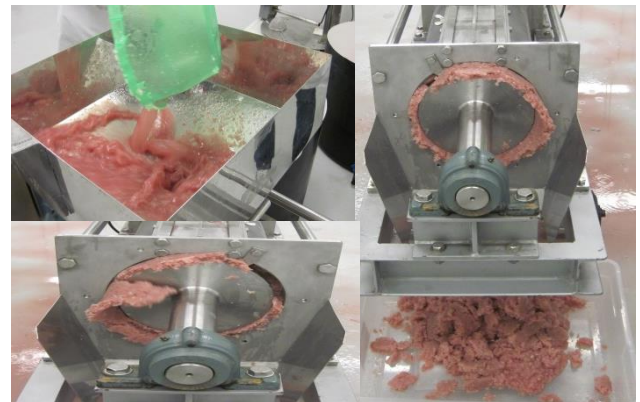
Enfriado de esqueletos



Separación mecánica



Lavado del mince



Eliminación agua de lavado



Crioprotectante comercial



Empacado y congelación