UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

DESARROLLO DE FILETES DE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) CON SABOR A HUMO

Sonia Andrea Ruiz Alonso

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA

Bogotá, Colombia

2019

DESARROLLO DE FILETES DE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) CON SABOR A HUMO

Sonia Andrea Ruiz Alonso

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:

Dra. Adriana Patricia Muñoz Ramírez

Codirector:

Dr. Lunier Joel Girón Hernández

Línea de Investigación:

Diseño y desarrollo de Nuevos Productos

Grupos de Investigación:

UN-ACUICTIO Grupo de Investigación:

Aseguramiento de la Calidad de Alimentos y Desarrollo de Nuevos Productos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Bogotá, Colombia

2019

Dedico esta tesis de maestría a mi esposo Daniel y mi hijo Camilo por brindarme siempre una sonrisa y por ser la motivación para cada día llegar más lejos en mi vida y carrera profesional.

Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias a todas esas personas e instituciones que de una u otra manera han colaborado en la realización de esta tesis de maestría.

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a mis directores, la profesora Adriana Patricia Muñoz Ramírez, por sus invaluables contribuciones y orientaciones durante ejecución de este proyecto; también por su apoyo, comprensión y paciencia en los momentos de dificultad. Y el profesor Joel Girón por estar disponible y resolver mis dudas a pesar de sus compromisos. Agradezco la dedicación y apoyo en las jornadas de trabajo en el laboratorio. Resalto que bajo su orientación aprendí a tener confianza en lo que hago.

A la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá y al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), donde tuve la oportunidad de realizar mis estudios de posgrados y culminar con éxito mi trabajo de investigación.

A la DIEB por el apoyo otorgado para el financiamiento del proyecto por medio de la convocatoria nacional de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, creación e innovación de la Universidad Nacional de Colombia 2016-2018, proyecto código 37740

A mis compañeros y amigos Liliana, Leidy y Diego, y a todos aquellos que hicieron parte de este proceso de formación. Gracias a esto se consolidaron lazos de amistad importes.

Al personal de cada una de plantas de procesamiento y los laboratorios ICTA. Especialmente a Cristina, Wilson, Don Alvarito y Jorge; que con su experiencia lograron enriquecer mi trabajo.

Finalmente, y no menos importante a mi familia que siempre me han acompañado en cada nueva aventura que he emprendido.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue obtener filetes de tilapia con sabor a humo mediante la aplicación de la técnica salazón en salmuera y la utilización de humo líquido. Para este fin, se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de salmuera (5; 7,5 y 10%) en dos tiempos y dos formas de aplicación de humo líquido sobre parámetros fisicoquímicos y sensoriales, variación de peso, humedad y contenido sal del producto, para encontrar condiciones de proceso adecuadas. Adicionalmente, evaluar la estabilidad fisicoquímica y microbiológica del producto obtenido, empacado al vacío y en condiciones de refrigeración.

El proceso de salazón en salmuera, independiente de las condiciones de proceso (concentración de sal, tiempos de salazón y aplicación de humo líquido) mostró una reducción en la humedad (X^w) y actividad de agua (a_w) y un aumento en la concentración de la sal (x^{NaCl}) en comparación con el filete fresco. El análisis estadístico reveló que el factor aplicación de humo líquido (s: salmuera y a: aspersión) no fue significativo en la variable a_w, ni en la humedad. Por para parte, la concentración de la salmuera y el tiempo de salazón; presentó un papel importante, para llegar a los niveles que recomiendan las normas vigentes del Codex Alimentarius (2013) y la Norma Técnica Colombiana (Icontec, 2016b). La muestra obtenida con las concentraciones de salmuera al 10% y al 7,5% y tiempos de 4 y 8 horas de salazón; dieron los niveles más cercanos de X^w, en contenido de sal fase líquida (Z^{NaCl}), a_w estipulados por las normas anteriormente mencionadas. Sin embargo, para estudiar el comportamiento sensorial se seleccionaron los tratamientos salmuera al 10% - 4 horas, y al 7,5%-8 horas. El resultado de análisis sensorial, arrojó que las dos muestras evaluadas, tuvieron un 80% de aceptabilidad.

Los resultados obtenidos sugieren que, dependiendo de las características deseadas en el producto final, la aceptación sensorial y el cumplimiento de las normas vigentes, será la elección de las condiciones de procesamiento. Por esta razón, se seleccionó el tratamiento de 10% de salmuera con adición de humo líquido y 4 horas de salazón para la evaluación de la estabilidad. Durante el período de almacenamiento, se presentaron aumentos progresivos en las variables químicas de las bases

nitrogenadas volátiles (mg/100g) (NBVT) y en el índice de ácido tiobarbitúrico (MDA/kg) (TBARS), sin sobrepasar los límites máximos permitidos. En relación con la evaluación microbiológica del producto durante su almacenamiento en refrigeración por 35 días, no se encontraron microorganismos patógenos que puedan poner en riesgo la salud de consumidor.

Esta forma de obtención de filetes con sabor a humo, redujo a manipulación de la materia prima y tiempos de procesamiento, en comparación con métodos tradicionales. Además, pueden ser adoptadas, tanto por pequeños, como por grandes productores y transformadores de pescado, que estén interesados en la incursión de la industria de los ahumados.

Palabras claves: cambios fisicoquímicos, cambios microbiológicos, cíclidos, conservación de alimentos, humo líquido, salazón

Abstract

The objective of this research was to obtain tilapia fillets with smoke flavor by applying the salting technique in brine and the use of liquid smoke. For this purpose, the effect of different concentrations of brine (5, 7.5 and 10%) in two times and two forms of application of liquid smoke on physicochemical and sensory parameters, a variation of weight, humidity and salt content of the product was evaluated to find suitable process conditions. Additionally, evaluate the physicochemical and microbiological stability of product obtained in refrigerated storage.

The brine salting process, independent of the process conditions (salt concentration, the salting times and application of liquid smoke) showed a reduction in humidity (X^w) and water activity (a_w) and an increase in the concentration of salt (x^{NaCl}) compared to fresh fillet. The statistical analysis revealed that the application factor of liquid smoke (s: brine and a: aspersion) was not significant in variable a_w, nor in humidity. Therefore, the concentration of the brine and the time of salting; presented an important role, to reach the levels recommended by the current Codex Alimentarius Standards (2013) and la Norma Técnica Colombiana (NTC 6178, 2016). The sample obtained with the brine concentrations of 10% and 7.5% and times of 4 and 8 hours of salting; gave the closest levels of X^w, in liquid phase salt content (Z^{NaCl}), a_w stipulated by the aforementioned standards. However, to study sensory behavior, only the brine treatments at 10% and 4 hours were selected, as well as 7.5% and 8 hours of salting. The result of the sensory analysis showed that the two samples evaluated had 80% acceptability in all parameters evaluated.

The results obtained suggest that, depending on the characteristics desired in the final product, sensory acceptance, and compliance with current regulations, it will be the choice of processing conditions. For this reason, the treatment of 10% of brine with the addition of liquid smoke and 4 hours of salting was selected for the evaluation of the stability. During the storage period, there were progressive increases in the chemical variables of the volatile nitrogenous bases (mg / 100g) (TVB-N) and in the thiobarbituric acid index (MDA / kg) (TBARS), without exceeding the maximum

limits allowed. In relation to the microbiological evaluation of the product during its storage in refrigeration for 35 days, no pathogenic bacteria were found that could put the consumer's health at risk.

This way of obtaining fillets with smoke flavor, reduced to raw material handling and processing times, compared to traditional methods. In addition, it could be used by small and large producers and fish processors, who are interested in the incursion of the smoked industry.

Keywords: Salting, liquid smoke, physicochemical and microbiological changes, cichlids, food preservation

Contenido

1 Marco de Referencia 4
1.1 Descripción general de la especie. 4
1.2 Métodos de conservación del pescado 4
1.2.1 Ahumado 5
1.2.2 Salazón 8
1.3 Características fisicoquímicas del pescado ahumado 11
1.4 Degradación bioquímica y microbiológica del pescado ahumado 13
1.5 Color 16
1.6 Textura 16
1.7 Legislación vigente 17

2 Hipótesis y objetivos de estudio 19
2.1 Hipótesis 19
2.2 Objetivo general 19
2.3 Objetivos específicos 19
2.3.1 Objetivo específico número uno: 19
2.3.2 Objetivo específico número dos: 19
2.3.3 Objetivo específico número tres: 20

3 Materiales y métodos 21
3.1 Obtención de la materia prima 21
3.2 Preparación de los filetes y tratamientos experimentales 21
3.2.1 Análisis químicos y microbiológicos de los filetes frescos 21
3.2.2 Fase 1: Establecimiento de condiciones de salazón 21
3.2.3 Fase 2: Evaluación estabilidad del producto obtenido 23
3.3 Determinaciones analíticas 23
3.3.1 Análisis proximal 23
3.3.2 Actividad de agua (a_w) 23
3.3.3 Contenido de cloruro de sodio 24
3.3.4 pH 24
3.3.5 Estabilidad a la oxidación lipídica 24
3.3.6 Estabilidad a la degradación proteica 25
3.4 Determinación instrumental del color 25
3.5 Determinación de textura 26
3.6 Análisis microbiológico 27
3.7 Análisis sensorial 27
3.8 Diseño experimental 28
3.9 Análisis estadístico 28

4 Resultados y discusión 29
4.1 Análisis químicos y microbiológicos de los filetes frescos 29
4.2 Fase 1: Establecimiento de condiciones de salazón 30
4.2.1 Caracterización del producto salado-ahumado. 30
4.2.2 Determinación de color instrumental 37
4.2.3 Determinación de Textura 39
4.2.3 Análisis microbiológico y sensorial 41
4.3 Fase 2: Evaluación estabilidad del producto obtenido 43
4.3.1 Cambios fisicoquímicos y microbiológicos durante el almacenamiento en refrigeración 43
4.3.2 Cambios de textura 45
4.3.3 Cambios del color 46
4.3.4 Análisis microbiológico 47

5 Conclusiones. 50

6 Recomendaciones 51

7 Bibliografía 52

8 Anexos 63

A Anexo: Ficha técnica de humo líquido Arosmoke P-50 63
B Anexo: Análisis microbiológico 65
C Anexo: congresos y ponencias 67
D Anexo: Formato análisis sensorial 70

Lista de figuras

Figura 1. Esquema general de salazón y ahumado de filetes de tilapia 22
Figura 2. Sección de muestreo para el análisis de textura..... 26
Figura 3. Cambios de masa en filetes de tilapia con sabor a humo utilizando diferentes concentraciones de sal (C: 5, 7.5 y 10 %); tiempos de salazón (t: 4 y 8 horas) y aplicación de humo (A: atomización (a) y salmuera (s)). 32
Figura 4. Humedad de los filetes de tilapia con sabor a humo utilizando diferentes concentraciones de sal (C: 5, 7.5 y 10 %); tiempos de salazón (t: 4 y 8 horas) y aplicación de humo (A: atomización (a) y salmuera (s)). 34
Figura 5. Actividad de agua de los filetes de tilapia con sabor a humo utilizando diferentes concentraciones de sal (C: 5, 7.5 y 10 %); tiempos de salazón (t: 4 y 8 horas) y aplicación de humo (A: atomización (a) y salmuera (s)). Valores expresados en términos de promedio..... 35
Figura 6. Puntuación (%) para los diferentes atributos evaluados en muestras de tilapia con sabor a humo. Valores promedios (n = 3). Las barras indican la desviación estándar. Letras desiguales indican diferencias significativas ($p < 0.05$). 42

Lista de tablas

Tabla -1. Características fisicoquímicas (contenido de NaCl %, pH, actividad del agua (a_w)) de diferentes muestras de pescado ahumado. 12
Tabla 2. Contenido proximal de pescados ahumados con diferentes tratamientos 13
Tabla 3. Composición fisicoquímica y microbiológica del filete de tilapia fresco. Datos expresados en términos de media y desviación estándar ±. Y, conteos microbiológicos de Presencia/ Ausencia (P/A) y unidades formadoras de colonia (ufc/g) (n=3). 29
Tabla 4. Niveles de significancia obtenidos en la ANOVA multifactor para los parámetros fisicoquímicos, color y textura según los factores: concentración de salmuera (C). tiempo de salazón (t) y aplicación de humo líquido (A) y sus respectivas interacciones. 31
Tabla 5. Valores expresados en términos de media y desviación estándar (n=3) del contenido de sal x^{NaCl} (%) y contenido de sal en fase líquida Z^{NaCl} (%) en filetes de tilapia con sabor a humo obtenidos mediante la utilización de diferentes concentraciones de salazón. 37
Tabla 6. Coordenadas de color obtenidas en muestras de filetes de tilapia con sabor a humo obtenidos mediante la utilización de diferentes concentraciones de sal (C),tiempos de salado (t) y forma de aplicación del humo líquido (A). valores promedio ± desviación estándar. 39
Tabla 7. Valores promedio ± desviación estándar de textura expresados en fuerza de corte (N) de los filetes de tilapia con sabor a humo. 40
Tabla 8. Conteo microbiológico de filetes de tilapia con sabor a humo. (n=3) 41
Tabla 9. Valores promedios y desviación estándar para los cambios de pH, NBVT (mg/100 g) y TBARS (mg MAD/Kg en muestras de filete con sabor a humo durante 35 días de almacenamiento a 4 °C. (n=3) 45
Tabla 10. Parámetros mecánicos de dureza (D), cohesividad (C), adhesividad (A), elasticidad (E), gomosidad (G), masticabilidad (M) y fuerza máxima de corte (Fmax) en tilapia con sabor a humo empacados al vacío. valores promedio ± desviación estándar. 46
Tabla 11. Valores medios ± desviación estándar de las coordenadas de color (L *, a *, b * Croma (ab*), Tono (h^o_{ab}) y ΔE) de los filetes de tilapia con sabor a humo durante el almacenamiento en refrigeración. 47
Tabla 12. Cambios microbiológicos para filetes de tilapia con sabor a humo, empacados al vacío y condiciones de refrigeración 49

Introducción

La producción de pescado es crucial para alcanzar el objetivo de la FAO de reducir el hambre y la desnutrición en el mundo para a su vez, contribuir con el crecimiento económico y la lucha contra la pobreza. A nivel mundial el consumo de pescado y maricos representa el 16,6% de toda la ingesta de proteínas de origen animal (FAO, 2018)

Según el informe de la FAO "The State of World Fisheries and Aquaculture,2018" la producción mundial de pescado alcanzó aproximadamente 171 millones de toneladas para el 2016 de las cuales 79,3 millones de toneladas provinieron de la pesca de captura marina 11,6 millones de toneladas de la pesca de captura de agua dulce y 80 millones de toneladas son producidas por la acuicultura (continental y marítima). La acuicultura a nivel mundial ha mostrado una gran dinámica de crecimiento caso contrario sucede con la producción de la pesca de captura; es así como la producción de la acuicultura tuvo una expansión a una tasa promedio anual del 8%, pasando de 35,5 millones de toneladas en el año 2000 a 80 millones reportadas en el 2016. El informe también revela que la acuicultura continental aporta cada vez más a la producción mundial de peces comestibles con una cifra de 51,4 millones de toneladas de pesca la producción de peces de aleta sigue predominando en la acuicultura continental y representa 92,5 % (47,5 millones de toneladas) en total de la producción de este tipo de acuicultura.

"La acuicultura en Colombia es de gran importancia en sectores de producción de alimentos tanto para consumo nacional como de exportación; y como estrategia en la economía local que contribuyen a la superación de la pobreza en las zonas rurales" (Merino, Bonilla, & Bages, 2013). La producción pesquera total en el 2011 fue 161 867,9 toneladas, de las cuales, la acuicultura aportó el 51,1%; y se divide en tres grupos: la producción continental, la producción marina y la de peces ornamentales; siendo la producción continental la que tiene mayor representación en la producción acuícola nacional (Merino, Bonilla, & Bages, 2014)

La producción de la acuicultura continental en el país está representada principalmente por la producción de tilapia roja y nilótica (*Oreochromis* sp y *Oreochromis niloticus*), trucha arcoíris (*Onchorhynchus mykiss*), cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) y la cachama negra (*Colossoma macropomum*), siendo las primeras las que muestran una mayor dinámica en producción y participación en el mercado (Fedeacua, 2015). La tilapia es la especie de agua dulce con mayor importancia económica en el país, ya que constituye el 61% de la producción acuícola total (Pardo-carrasco, Muñoz -Ramirez, Atencio-García, & Bonilla, 2018). En Colombia, la tilapia se comercializa principalmente en presentación fresca entera y alguna parte de la producción es llevada a la industria de transformación, especialmente filetes tipo exportación (Merino et al., 2013). Debido al volumen de producción actual y la disponibilidad en el mercado, hace que la tilapia pueda ser utilizada por la industria acuícola para el desarrollo de otros productos procesados de pescado. El desarrollo de productos industriales de pescado es una alternativa a la utilización de materias primas, a la adición de valor comercial, el mantenimiento de los aspectos nutricionales y finalmente su conservación (Defaveri, Nicoletti, & Brigido, 2016)

El pescado es una fuente importante de nutriente en la dieta humana (Gonçalves, 2011). Constituye uno de los alimentos de mayor valor proteico consumido, contiene grasas insaturadas altamente beneficiosas; así como un importante grupo de vitaminas y minerales (Arason, Nguyen, Thorarinsdottir, & Thorkelsson, 2014). Sin embargo, y debido a su composición química, el pescado es un alimento altamente perecedero, lo que genera una pérdida rápida de sus características sensoriales y alto deterioro microbiológico si no se mantienen condiciones adecuadas de higiene y refrigeración posterior a su captura, comercialización y consumo (Dos Fernandes, 2011).

El ahumado y la salazón son las técnicas más antiguas de conservación de pescado (Sikorski & Sinkiewicz, 2014; Ünlüsayin, Erdilal, Gümüş, & Gülyavuz, 2010). Las nuevas tendencias en el consumo de alimentos, junto con los avances del sector industrial y la mejora en los procesos de conservación han provocado que estas técnicas en la actualidad sean más apreciadas por sus características sensoriales que por la capacidad para prolongar la vida útil del pescado (Arvanitoyannis & Kotsanopoulos, 2012). La calidad de los productos ahumados o con sabor a humo depende de diferentes factores como son, las propiedades de la carne del pescado, los procedimientos implicados durante la salazón, en el ahumado, tipo de humo y su composición; así como la temperatura, humedad y el tiempo de ahumado (Rizo, Fuentes, Fernández-Segovia, & Barat, 2016a)

El ahumado, como tecnología en el desarrollo de productos pesqueros no es común en nuestro país, pese a que es una opción para otorgar valor agregado y mejorar su conservación. Actualmente, el pescado ahumado que es consumido en el país es importado, siendo las especies más comunes el filete salmón chileno, la trucha y el atún, todos estos con altos costos, lo que lleva a ser un producto limitado. También se encuentran en el mercado colombiano filetes de trucha ahumados producidos por una sola empresa (Merino et al., 2013). Por lo tanto, la producción de tilapia nilótica del país como materia prima para darle un valor agregado a través del uso de humo líquido y técnicas de salazón es una estrategia para el mejoramiento de la actividad del sector piscícola; así como una respuesta a la necesidad de productos innovadores nutritivos y accesibles. Sin embargo, es necesario realizar estudios que permitan proporcionar condiciones adecuadas de proceso y tiempos de almacenamiento para productores y transformadores de pescado.

Así, el objetivo de esta investigación fue obtener filetes de tilapia con sabor a humo, mediante la aplicación de la técnica de salazón en salmuera, evaluando diferentes concentraciones de sal, tiempos y formas de aplicación de humo líquido (diluido en salmuera y atomización) sobre los parámetros fisicoquímicos, sensoriales y variación de peso, para encontrar las condiciones de proceso adecuadas con el fin de obtener filetes de tilapia con sabor a humo. Y a su vez, analizar los cambios fisicoquímicos y microbiológicos del producto empacado al vacío en condiciones de refrigeración.

1 Marco de Referencia

1.1 Descripción general de la especie.

Tilapia es el nombre común para géneros y especies de peces en la familia Cichlida (Britz, 2008), siendo la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus),* mozambique (*O. mossambicus*), azul (*O. aureus*) e híbridos (*Oreochromis* spp) las especies con mayor importancia económica y de producción en cautiverio a nivel mundial (Watanabe, Losordo, Fitzsimmons, & Hanley, 2002). En Colombia, la tilapia roja híbrida (*Oreochromis sp*.) y tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) constituyen el 61% del total de la producción acuícola (Pardo-carrasco et al., 2018). La tilapia se comercializa principalmente en presentación entera (eviscerada, escamada) y congelada; sin embargo, en los últimos tiempos se ha incrementado la exportación de filetes frescos de tilapia nilótica (Merino et al., 2013). Los filetes son un alimento con una buena aceptación por parte de los consumidores debido a su bajo precio en el mercado, valor nutricional, textura y ausencia de espinas intramusculares (Watanabe et al., 2002). Además, es una materia prima atractiva para el procesamiento industrial, que mediante la aplicación de diferentes métodos transformación, permite la obtención de productos innovadores; lo que lleva a el mejoramiento de la actividad del sector piscícola y el aprovechamiento del potencial productivo de la tilapia en Colombia. En cuanto a su composición nutricional de la tilapia, al igual que para las diferentes especies de pescado varía entre individuos dependiendo el sistema de producción, la composición de la dieta, el sexo y la edad entre otros factores (Abolagba & Melle, 2008). Constituye un alimento con gran valor nutricional, ya que cuenta con una fuente importante de proteína y minerales. Esta especie cuenta con un contenido lipídico bajo en comparación con el salmón; lo que hace que tenga un comportamiento diferente a la hora desarrollar productos procesados salados y ahumado (Cardinal et al., 2001).

1.2 Métodos de conservación del pescado

El pescado es un alimento altamente perecedero que contiene una cantidad importante de nutrientes y agua que lo hacen susceptible a ser alterado por microorganismos y reacciones enzimáticas. Lo

que lleva a la necesidad de búsqueda de técnicas de conservación (Torres, Rodrigo, & Martínez, 2016). Existen tecnologías tradicionales como la salazón y el ahumado hasta técnicas más recientes como: refrigerados, congelados y enlatados; e innovadoras y emergentes (Gonçalves, 2011); así, como la utilización de las tecnologías de barrera, que reducen y mitigan su deterioro (Araujo & Gonçalves, 2011). La utilización de una u otra depende de la matriz alimentaria, las características del producto y la disponibilidad de la misma (Martinez, Salmerón, Guillén, & Casas, 2007).

1.2.1 Ahumado

El ahumado es la técnica más antigua utilizada para conservar alimentos con alto contenido de proteínas; en almacenamiento a temperatura ambiente para épocas de escasez (Arvanitoyannis & Kotsanopoulos, 2012). Entre los productos ahumados más comunes están las carnes y sus derivados, pescados, quesos y vegetales; que junto a la salazón y secado permiten disminuir la actividad microbiana (Varlet, Serot, & Prost, 2010). Actualmente, el panorama frente al uso de humo en alimentos ha cambiado, no solo se busca una preservación del alimento, sino brindar un producto con características organolépticas específicas (sabor y olor), que sea comestible; y que a su vez, aumente el precio del producto en el mercado (Fellows, 2017).

La forma original de ahumado, se basaba en colocar el producto a ahumar directamente con el fuego; pero en los últimos años las técnicas naturales de ahumado están siendo remplazadas por métodos como el uso de humos condensados o humos líquidos (Ledesma, Rendueles, & Díaz, 2016). Puesto que, el ahumado tradicional o con leña produce contaminantes cancerígenos, comúnmente llamados, hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs); generados por una pirólisis incompleta (Varlet, Serot, et al., 2007). El humo líquido es un tipo moderno de aditivo para alimentos, que puede brindar un color, sabor y aroma característicos de un ahumado natural (Rozum, 2014). Sin embargo, algunos estudios establecen que los productos ahumados con humo líquido no cuentan con las mismas características sensoriales de un producto ahumado de la forma tradicional (Guillén, Errecalde, Salmerón, & Casas, 2006).

El proceso de ahumado, combina técnica de salazón, secado y refrigerado; y otros como protocolos de higiene un para obtener producto final de buena calidad (Gonçalves & De oliveira, 2011)

- **Ahumado tradicional**

En el ahumado tradicional, la temperatura de la producción del humo contribuye al secado y algunos productos de la combustión se impregnan en el pescado impartiéndole su sabor y color característicos (Sikorski & Sinkiewicz, 2014). Según la temperatura de ahumado, los métodos tradicionales se pueden clasificar en dos tipos, el ahumado en frío y el ahumado en caliente (Fellows, 2017). El ahumado en frío se realiza a temperaturas de hasta 50 °C por más de 6 horas; o 32 °C por 20 horas, o 10 °C hasta por 24 horas dependiendo del producto final deseado (Tavares & Gonçalves, 2011). De esta manera, se evita una degradación de los nutrientes; la textura permanece en gran parte sin cambios y los productos tienen un sabor más suave que aquellos ahumados en caliente (Fellows, 2017). Sin embargo, este tipo de ahumado no proporciona una protección adecuada contra microorganismos, por esta razón, se requiere un proceso térmico adicional antes del consumo (Arvanitoyannis & Kotsanopoulos, 2012).

En el ahumado en caliente las piezas de pescado son expuestas a temperaturas que van desde los 40 °C hasta los 100 °C, la temperatura interna puede alcanzar 80 °C y no necesita un proceso térmico adicional antes de ser consumido (Gonçalves & De oliveira, 2011). Según la Administración de alimentos y medicamentes de los Estados Unidos (FDA) el producto debe alcanzar como mínimo una temperatura interna de 62,8°C, de esta manera se garantiza la pasteurización del alimento protegiéndolo de microorganismos patógenos (Sikorski & Kolodziejska, 2002). En este método es importante controlar la variación de la temperatura del horno, la temperatura interna del producto y el tiempo de ahumado (Fellows, 2017). En el ahumado en caliente, existe un cambio en la textura debido a la desnaturalización de las proteínas, así como cambios en la composición nutricional y de contenido de sal (Birkeland & Skara, 2008; Sikorski & Kolodziejska, 2002).

- **Humo líquido**

El humo líquido es un tipo moderno de aditivo para alimentos; que puede brindar color, sabor y aroma característicos de un ahumado natural. Además de reducir el contenido de hidrocarburos policíclicos aromáticos (Varlet et al., 2010). El uso de esta técnica ha desplazado el ahumado natural y ha abierto posibilidades tecnológicas en el desarrollo de productos ahumados (Rozum, 2014).

Los aromas de humo o humo líquido se obtienen mediante la condensación del humo derivado de la quema de la madera generalmente seguida de fraccionamiento, purificación y concentración del mismo con el fin de reducir o eliminar compuestos desfavorables; tales como los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PHAs) (Fellows, 2017). Durante la pirólisis, la celulosa y hemicelulosa contenida en la madera generan ácidos orgánicos, aldehídos, cetonas alifáticas, cíclicas, furanos, alcoholes alifáticos y azúcares; y de la fracción de lignina se produce una gama de compuestos

fenólicos de las clases generales de los grupos de los guaiacoles, siringoles, hidroxibencenos y fenoles metilados (Montazeri, Oliveira, Himelbloom, Leigh, & Crapo, 2013; Varlet et al., 2010). Los componentes químicos, principalmente del grupo de ácidos orgánicos, fenoles y carbonilos; son los responsables de dar el color, el sabor y la textura típica de productos ahumados (Gonçalves & De oliveira, 2011; Varlet et al., 2010).

En el mercado existen diferentes tipos de humos líquidos, entre los que están los hidrosolubles que contienen un pH bajo y que pueden ser utilizados directamente o diluidos en aplicaciones donde se requieren bajas concentraciones; los concentrados de humos solubles en agua, se aplican mediante atomización o cámara de ahumados; los solubles en agua que contienen emulsionantes como polifosfatos que los hacen más solubles en agua, y finalmente los que tienen un pH mayor a 4.Estos dos últimos son usados para la aplicación en salmueras (Rozum, 2014; Varlet et al., 2010).

Es importante tener en cuenta el tipo de humo y sus características fisicoquímicas a la hora de ser aplicado en salmueras, dado que algunos de sus compuestos puede reaccionar con los componentes de la salmuera y dar como resultado compuestos no deseados; por ejemplo, humo con pH bajos (alto contenidos de ácidos) no deben combinarse con nitritos utilizados en el proceso de curado ya que pueden reaccionar con el ácido del humo formando dióxido de nitrógeno (Rozum, 2014). Entre otras ventajas del uso del humo condesado están; el control en su dosificación, la disminución de costos y reducción en tiempos de procesos (Martínez, Salmeron, Guillen, & Casas, 2011; Swastawati, Surti, & Apriliani, 2010a).

Cuando se utiliza humo líquido en el desarrollo de productos ahumados, este puede ser aplicado mediante diversas tecnologías y en diferentes fases del proceso dependiendo de las características deseadas en el producto final (Fellows, 2017). Existen cuatro métodos o técnicas para incorporar el humo líquido sobre los productos cárnicos o pescados.

Duchado: es una técnica donde el humo diluido cae por gravedad sobre el producto colgado, en la cual se utilizan compuestos con base en agua tales como humos solubles en agua y un emulsionante, para garantizar la homogeneidad durante la aplicación y evitar la sedimentación del humo en el agua (Varlet et al. 2010). El principal objetivo de esta técnica es brindar al producto final unas características sensoriales importantes de color y sabor a ahumado (Rozum 2014).

Inmersión: es una técnica en la cual el producto es sumergido por períodos cortos (5-60 segundos) (Varlet et al. 2010). Con esta técnica se evita la formación de capas heterogéneas en la superficie del producto (Rozum 2014). Este método se adapta a todos los niveles de producción y se encarga de brindar color y sabor característico a ahumado.

Aspersión o atomización: el uso de esta forma de aplicación busca que el producto alimenticio obtenga color y sabor característico al ahumado natural, y va a depender de la concentración del humo, el tiempo de contacto con el alimento y la materia prima (Ribeiro et al., 2008). En esta técnica se utilizan concentrados de humos, donde a través de boquillas especiales se genera una niebla de pequeñas gotas (Varlet et al.,2010). Por ser una técnica similar a la de ahumado natural; aparece como alternativa de aplicación más usada para el proceso de ahumado.

Aplicación en salmuera: En la literatura se encuentra una información limitada sobre la aplicación directa del humo líquido en la salmuera como medio de conservación y valor agregado de los productos pesqueros. El uso de un proceso de salmuerado y ahumado en una sola etapa utilizando humo líquido tiene gran potencial para acortar significativamente el tiempo de procesamiento, disminuyendo problemas ambientales que el uso tradicional de ahumado (Chatzikyriakidou & Katsanidis, 2012).

Entre las ventajas del uso de esta tecnología está la higiene, la reducción de tiempo de procesamiento y menor contaminación ambiental (Stołyhwo & Sikorski, 2005). Adicionalmente, proporciona uniformidad de sabor y de color; y tiene propiedades antioxidantes, bacteriostáticas y bactericidas (Ribeiro et al., 2008). Contiene bajos o casi nulos contenidos de hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) (Marques et al., 2016).

1.2.2 Salazón

La salazón es una técnica de conservación y transformación utilizada en la industria del pescado, que se realiza mediante la aplicación en seco y/o salmuera (ya sea por inmersión o inyección o la combinación de estas dos) (Martínez et al., 2011). El objetivo de la etapa de salazón es la absorción de una cantidad suficiente de solutos principalmente NaCl, que facilita la conservación de los alimentos durante las fases subsiguientes de los diferentes procesos realizados (secado, ahumado, curado o cocción) (Albarracín, Sánchez, Grau, & Barat, 2011).

Durante el proceso de salazón, la sal difunde hacia el músculo del pescado mientras que el agua sale hacia los medios circundantes como consecuencia de los mecanismos osmóticos y de difusión

(Martínez et al., 2011). El mecanismo por el cual existe la transferencia de masa tiene dos flujos principales, el flujo de agua y el flujo de sal. En el flujo del agua, en primer lugar, se presenta una pérdida de agua contenida en los tejidos de los alimentos debido fenómenos osmóticos; y seguidamente, el paso del agua de las zonas de bajas concentración de sal (dentro de los alimentos) a zonas altas de concentración de sal (fuera de los alimentos). En cuanto flujo de sal, una vez disuelta penetra en el alimento debido a la baja concentración existente en el interior de éste (Albarracín, 2009; Røra, Fjæra, & Skjervold, 2004). La velocidad de la penetración de la sal en el alimento disminuye a medida que se alcanza un equilibrio entre la concentración del medio salino y la matriz alimentaria (Albarracín, 2009). La disminución de la humedad se atribuye al efecto de la sal en la desnaturalización y la agregación de las proteínas del pescado (Arason et al., 2014).

La captación de sal depende de diversos factores, entre los que se encuentran la temperatura en la que se realiza la salazón, la concentración de sal en la salmuera y el tiempo de contacto entre las piezas de pescado y la solución salina (Nguyen, Arason, Thorarinsdottir, Thorkelsson, & Gudmundsdóttir, 2010; Ünlüsayin et al., 2010). Adicionalmente, existen factores intrínsecos de músculo del pescado, como su estructura, composición, condiciones de rigor y de almacenamiento (fresco o congelado) (Aubourg & Ugliano, 2002; Goulas & Kontominas, 2005). Estudios realizados por Rizo, Fuentes, Fernández-Segovia, & Barat (2016b) mostraron que al utilizar condiciones similares de procesamiento en el salado-ahumado en dos especies de pescado con diferente composición química (salmón y bacalao), presentaron diferencias significativas en los parámetros evaluados de humedad, contenido de sal y actividad de agua del producto final. En pescados grasos, los lípidos actúan como una barrera física en el transporte y son un factor limitante en los procesos difusionales como consecuencia de su hidrofobicidad (Martínez, Salmerón, Guillén, Pin, & Casas, 2012). Por esta razón, a nivel industrial no es posible aplicar las mismas condiciones de salazón entre diferentes especies (Gallart-Jornet et al., 2007a). Además, algunos autores recomiendan realizar la salazón a temperaturas por debajo de los 10 °C para disminuir los procesos bioquímicos en el músculo del pescado (Bjørnevik, Cardinal, Vallet, Nicolaisen, & Örn, 2018; Gallart-Jornet et al., 2007b).

En relación con el tiempo de salazón, Birkeland, Bencze, Skara, & Bjerkeng (2004), encontraron que pueden variar de 6 a 24 horas, lo cual depende de la concentración de la salmuera (Fuentes, Barat, Fernández-Segovia, & Serra, 2008; Rizo, Máñes, Fuentes, Fernández-Segovia, & Barat, 2015). En tiempos prolongados y salmueras con altas concentraciones se reduce el contenido de humedad y los valores de actividad de agua; a su vez se aumenta linealmente el contenido de sal en

la fase líquida (Z^{NaCl}) en el producto final, lo que lleva a una mayor conservación (Nguyen et al., 2010). Sin embargo, el exceso de sal puede tener como consecuencias cambios en las propiedades sensoriales y repercusiones en la salud del consumidor; pero productos con contenido bajo de sal pueden generar una proliferación microbiológica y poner en riesgo la calidad y seguridad producto final (Fuentes, 2007; Rizo, Fuentes, Fernández Segovia, & Barat, 2017).

La salazón en seco ha sido utilizada en la industria en el proceso salazón de pescado en varios países (Gallart-Jornet et al., 2007b). Se realiza amontonado las piezas de pescado cubriendo o frotando con capas alternas de sal (NaCl) sólida. El pescado es introducido en tinas de plástico con agujeros en el fondo, lo cual permite drenar el lixiviados que se genera por la pérdida de líquido del músculo (Martínez, Salmerón, Guillén, & Casas, 2011).

La industrialización y la investigación han desarrollado técnicas para el proceso de salazón, como lo son la salazón en salmuera (Yanar, Çelik, & Akamca, 2006). Esta forma de salazón consiste en introducir la matriz alimentaria o materia prima en una solución de agua con sal saturada, (se puede adicionar otros ingredientes como polifosfatos, azúcar, eritorbato, etc.), hasta que, los ingredientes de la misma penetran de una forma uniformen en toda la pieza (Shahidi, 2014). Es importante no utilizar materiales de metal, para evitar una corrosión del mismo por el efecto de los componentes de la salmuera.

Durante la salazón ocurren importantes cambios de masa (ΔM_t°) agua (ΔM_t^{w}) y cloruro de sodio (ΔM_t^{NaCl}) que pueden ser calculadas mediante ecuaciones (1), (2) y (3) donde M_0°. X_o^w y X_o^{NaCl} corresponde respectivamente a la fracción de masa de la muestra, la fracción másica del agua y la fracción másica de la sal en el tiempo inicial (0) y $M_t^{\circ}\ X_t^w\ X_t^{NaCl}$ son los valores correspondientes después del proceso de salazón (t).

$$\Delta M_t^{\circ} = \left(\frac{M_t^{\circ} - M_0^{\circ}}{M_0^{\circ}}\right) \quad (1)$$

$$\Delta M_t^{w} = \left(\frac{M_t^0 * X_t^w - M_0^0 * X_o^w}{M_0^0}\right) \quad (2)$$

$$\Delta M_t^{NaCl} = \left(\frac{M_t^0 * X_t^{NaCl} - M_0^0 * X_o^{NaCl}}{M_0^0}\right) \quad (3)$$

Existen diferentes formas de expresar la concentración de sal de los alimentos y depende principalmente del objetivo del análisis y la investigación. En la literatura, se encuentran concentraciones expresadas en porcentajes (% NaCl) (Nguyen et al., 2010), cuyo objetivo es mostrar el nivel de salado de diferentes productos analizados; la desventaja se da cuando se hace una comparación de resultados en matrices con diferencias significativas en su composición de humedad, grasa, proteína y sal. Lo que lleva a establecer bases en común bajo las cuales se puedan comparar los resultados obtenidos, sin caer en errores de estimación. En este caso es importante establecer el parámetro de mayor variabilidad, por ejemplo, el contenido de sal en base seca (X^{NaCl}), donde la fracción de agua ha sido excluida (Andrés, Rodríguez-Barona, Barat, & Fito, 2002; Barat & Toldrá, 2011). En varios estudios de investigación, cuando se habla de procesos difusivos generalmente la concertación de sal es expresada en fase líquida (Z^{NaCl}), esto es debido a que los fenómenos de difusión de la sal en los alimentos son llevados a cabo en su fase líquida y de esta forma se puede establecer el nivel de difusión de la sal que ocurre en el interior del musculo (Gallart-Jornet et al., 2007a). Adicionalmente, el sabor a salado está asociado a la fase líquida de los alimentos y la concentración de sal ya que las células de la lengua se ven estimuladas por la presencia de los iones Cl^- y Na^+, los cuales se encuentran en la fase líquida por solvatación de la sal. Por lo tanto, la fase líquida está relacionado a la percepción del sabor a salado (Albarracín et al., 2011).

1.3 Características fisicoquímicas del pescado ahumado

El pescado ahumado experimenta diferentes etapas durante su procesamiento que alteran las propiedades físicas y químicas de la materia prima, tales como pH, a_w, capacidad de retención de agua (WHC), color y textura, entre otros (Marques et al., 2016; Rizo, Mañes, Fuentes, Fernández-Segovia, & Barat, 2015; Rørå, Regost, & Lampe, 2003). El control de los parámetros fisicoquímicos del producto es de gran importancia, ya que afecta la vida útil y las características sensoriales (Espe et al., 2004; Fuentes et al., 2010).

En el pescado ahumado como en la mayoría de alimentos de origen animal, el deterioro se puede dar rápidamente, mientras que las reacciones enzimáticas y químicas se producen más lentamente durante el almacenamiento (Dos Santos et al., 2007). El concepto a_w ha permitido desarrollar normas o límites generalizados para la estabilidad de los alimentos y explicar así el desarrollo de procesos de preservación basados en el control o la reducción del agua (Pittia & Antonello, 2015). El contenido de agua es un factor importante que controla la tasa de deterioro (Fellows, 2017). La actividad del agua y en menor medida, el pH juegan un papel importante en la conservación de la carne de pescado, dado que con menor actividad de agua y/o pH el crecimiento microbiano puede

retrasarse (Fuentes et al., 2010). Algunos estudios en pescados ahumados revelan los componentes fisicoquímicos más importantes en pescados ahumados (Tabla 1).

valores críticos de actividad acuosa (a_w) están entre 0,6 y 0,7; valor por debajo del cual no pueden crecer microorganismos. Además, del crecimiento microbiano, la a_w afecta la velocidad de reacciones químicas (por ejemplo, reacción no enzimática, oxidación de lípidos, hidrólisis de proteínas, degradación de vitaminas) y reacciones bioquímicas en las que se reduce la disponibilidad de agua para participar como reactivo y/o disolvente (Karásková et al., 2011). El contenido de cloruro de sodio (NaCl) es uno de los factores más importantes en los productos ahumados, ya que tiene una fuerte influencia sobre el sabor, la a_w y por lo tanto, sobre vida útil (Arason et al., 2014).

Tabla -1. Características fisicoquímicas (contenido de NaCl %, pH, actividad del agua (a_w)) de diferentes muestras de pescado ahumado.

Producto	Formulación	a_w	NaCl %	pH	Fuente
Anchoveta ahumada	Anchoveta, sal ahumado natural	0,91	9,11	7,1	(Fuentes et al., 2010)
Anguila ahumada	Anguila, sal, azúcar y ahumado natural	0,87	7,1	7,28	(Fuentes et al., 2010)
Bacalao ahumado	Bacalao, azúcar, sal y ahumado con humo de madera	0,96	3,0	6,49	(Fuentes et al., 2010)
Róbalo de mar ahumado	Róbalo, sal, azúcar y humo natural	0,96	3,50	7,15	(Fuentes et al., 2010)
Salmón ahumado	Salmón, sal, humo de madera	0,95	3,4	6,30	(Rizo et al., 2010)
Salmón ahumado	Sal, ahumado, parcial seco	0,82	10,3	6,4	(Pittia y Antonello, 2015)
Salmón ahumado	Salado y ahumado.	0,97	3,4-4,1	6,0-6,1	(Pittia y Antonello, 2015)
Filete de tilapia ahumada	Salado y ahumado en frio	0,97	2,90		(Rodrigues et al., 2013)

Fuente: Elaboración por el autor.

La composición proximal del pescado ahumado varía de acuerdo con la técnica de ahumado (caliente o frío). El pescado en fresco tiene un contenido proteínas, lípidos y cenizas bajo, en comparación con el pescado ahumado; por ejemplo, la tilapia entera fresca tiene un contenido de proteína de 19,20; lípidos 8,06; cenizas 3,41 y humedad de 70,84 % (De Souza et al., 2004), los cuales son valores similares a los reportados por Aba & Nwankwo Ifanny (2013) para filete de tilapia nilótica fresca. Un estudio realizado por los mismos autores en pescado ahumado en caliente con diferentes temperaturas y tiempos, observaron que los contenidos de proteína, fibra, lípidos y cenizas aumentaban a medida que se incrementaba la temperatura de ahumado, mientras que el contenido de humedad disminuía.

Tabla 2. Contenido proximal de pescados ahumados con diferentes tratamientos

Producto	Tratamiento	Humedad (%)	Proteína bruta (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Fuente
Tilapia nilótica entera	Ahumado en caliente	57,18	25,27	11,31	7,30	(De Souza et al., 2004)
Filete de tilapia nilótica	Humo natural	32,65	48,87	3,05	14,09	(Aba & Nwankwo Ifanny.,2013)
Filete de tilapia nilótica	Humo natural de madera	36,55	42,18	0,71	14,34	(Aba Nwankwo Ifanny 2013)
Croaca Ahumada	Humo natural de madera	42,6	42,6	6,4	7,7	(Figueroa et al., 2010)
Leporinus copelandii	Inmersión. Humo líquido	51,7	32,6	10,2	7,0	(Ribeiro costa et al., 2008)

Fuente: Elaborada por el autor

1.4 Degradación bioquímica y microbiológica del pescado ahumado

El pescado es uno de los alimentos más perecederos; por esta razón es necesario para la industria piscícola desarrollar productos de pescado con una calidad que no ponga en riesgo a sus consumidores y así reducir las pérdidas por deterioro (Jacobsen, Nielsen, Jørgensen, & Nielsen,

2010). El pescado puede presentar degradación o daños en cualquier punto de la cadena de distribución, desde la captura hasta llegar al consumidor o la industria transformadora.

El deterioro es un proceso natural, que presenta características visibles en los cambios de color, seguido por cambios en la textura, así como el desarrollo de sabores desagradable (Toldra & Reig, 2011). Estos cambios se presentan como consecuencia del efecto de la combinación del crecimiento de bacteriano y a las reacciones químicas y enzimáticas que están relacionados con la estabilidad del durante el almacenamiento (Rizo, Mañes, et al., 2015)

La proteólisis es un fenómeno bioquímico que consiste en la degradación de las proteínas y la generación de pequeños péptidos y aminoácidos libres los cuales pueden ser utilizados como sustratos por microorganismos para el crecimiento o transformaciones de estos aminoácidos en otros compuestos como aminas biogénicas o sabores desagradables (Toldra & Reig, 2011). La degradación de las proteínas puede ser un indicador importante en el deterioro de los productos de pescado ahumado durante el almacenamiento en frío o congelado, llevando a un daño de la textura que conduce a un ablandamiento no deseado del tejido muscular, provocando una pérdida de la capacidad de retención de agua (Fuentes, 2007).

Por otra parte, la oxidación de la fracción lipídica es otro indicador de degradación y deterioro de los productos ahumados (Kim, Yang, Noh, Chung, & Min, 2012). Las enzimas responsables de la lipólisis se caracterizan por tener la capacidad de degradar las grasas del pescado (Akoh & Min, 2008). Estas enzimas reciben diferentes nombres dependiendo el modo de acción, por ejemplo, las lipasas en pescado son las que actúan contra los triglicéridos, las estearasas hidrolizan los ácidos grasos de cadena corta y las fosfolipasas actúan sobre los fosfolípidos (Jacobsen et al., 2010; Toldra & Reig, 2011). La oxidación de lípidos tiene efecto sobre las características sensoriales del sabor, color y textura en productos de pescado con sabor a humo (Rizo et al., 2010). Esta reacción está influenciada por factores como la temperatura, actividad del agua, el oxígeno, y la presencia de oxidantes y antioxidantes (Martínez et al., 2011). Especies con altos contenidos de ácidos grasos instaurados son más sensibles a la oxidación de los lípidos (Erickson, 2008; Tomac, Cova, Narvaiz, & Yeannes, 2015).

Entre los posibles indicadores de calidad química, están la degradación proteica (desarrollo de bases volátiles totales (NBVT) y la oxidación de los lípidos (índice de TBA) (Goulas & Kontominas, 2005; Rizo et al., 2017). La proteólisis y la lipólisis en pescado constituyen un grupo importante de reacciones que influye en la textura, el sabor y el color, durante el procesamiento y almacenamiento (Arvanitoyannis & Kotsanopoulos, 2012). En el caso de la degradación de las proteínas, ocurre una

hidrolización por peptidasas musculares, generan pequeños péptidos y aminoácidos libres. Estos pueden ser utilizados como sustratos por microorganismos para el crecimiento y / o la transformación de aminoácidos en otros compuestos, como aminas biogénicas o sabores extraños (amoníaco) en el producto final. En cuanto a la lipólisis, los ácidos grasos liberados durante este proceso, que junto con ácidos grasos polinsaturados (que son abundantes en el pescado), pueden oxidarse y crear compuestos volátiles con aromas rancios (es decir, hexanal) o desagradables que pueden afectar la calidad sensorial del pescado (Toldra & Reig, 2011).

La actividad microbiológica es la principal causa del deterioro en pescado fresco y procesado, y se divide en los microrganismos que causan un daño al producto y no necesariamente tiene un efecto negativo en la salud del consumidor; pero si presenta repercusiones en la calidad sensorial (textura, olor, color, apariencia); y aquellos microorganismos patógenos, que pueden estar en pequeñas cantidades y no producen un efecto perceptible a simple vista, sin embargo; al presentarse una ingestión de mínimas cantidades, pueden causar intoxicación alimentaria e incluso la muerte (Dos Fernandes, 2011). Con respecto a las bacterias patógenas, la *Listeria monocitogenes* y el *Clostridium botulinum* son las principales bacterianas que constituyen peligros potenciales cuando se habla de pescado ahumado en frío, especialmente la *Listeria* ya que puede crecer a bajas temperaturas y en concentraciones altas de sal (Løvdal, 2015; Peck, 2006). Estas bacterias son organismos de gran atención en alimentos ahumados y con sabor a humo; especialmente los ahumados en frío (Alimentarius, 2013). Además, de la *Listeria* y el *Clostridium* spp, también están microorganismos, como el *Vibrio* spp. o bacterias de contaminación exógena tales como la *Salmonella* spp, patógenos. *E. coli* y *Staphylococcus aureus*; que, aunque no están presentes de forma natural en la materia prima del pescado, puede existir una contaminación por una inadecuada manipulación, falta de protocolos de higiene, o a la utilización de agua no potable durante el procesamiento (Dos Fernandes, 2011).

La calidad del pescado ahumado en frío durante el almacenamiento, puede verse afectada por el desarrollo de por sabores desagradables, rancidez oxidadita de la grasa, y cambios de textura y color (Montiel et al., 2013). El deterioro va a depender de calidad inicial de del pescado; que está asociada a la condición fisiológica, las influencias ambientales, el manejo de la producción, de la cosecha y de las condiciones de almacenamiento poscosecha y de la distribución; a su vez , con la higiene durante el procesamiento y los ambientes propicios para el crecimiento bacteriano (temperatura, a_w, pH e interacciones microbianas, etc.) (Gonçalves & De oliveira, 2011). Así como también a la reducción de la actividad agua debido al efecto de la salazón y secado (Birkeland & Skara, 2008), de los componentes del humo líquido principalmente fenoles (Ledesma & Rendueles, 2017; Varlet

et al., 2010), las condiciones de empaque y finalmente, a la temperatura de almacenamiento del producto final. Existen diferentes estudios que han identificado las principales causas del deterioro y los cambios fisicoquímicos en los productos de pescado ahumado y con sabor a humo, principalmente, aquellos se son obtenidos mediante ahumado en frío (Cardinal et al., 2001; Gram & Henrik, 1996; Jittinandana, Kenney, Slider, & Kiser, 2002; Løvdal, 2015; Rizo et al., 2013).

1.5 Color

Durante el proceso de ahumado se produce una adhesión, condensación. difusión y/o absorción entre el alimento y los componentes del humo (Gonçalves & Alexandra. 2011); y como resultado final, se producen cambios en el color, sabor textura y composición de los alimentos (Martínez et al,. 2011).

Cuando se utiliza humo líquido, el color, se produce debido a los compontes aromáticos contenidos en el humo (Rozum, 2014). Se trata principalmente de los productos volátiles del grupo de los fenoles, que confiere un color característico a los productos que están entre amarillo dorado y marrón oscuro; estos cambios varían dependiendo de la composición del humo (tipo de leña y el proceso de obtención del humo líquido), la composición de la matriz alimentaria y de las temperaturas utilizadas durante el proceso de ahumado (Varlet et al., 2010). Otra causa de la coloración en los ahumados reside en las reacciones químicas de la superficie de los alimentos con sustancias pertenecientes al grupo de los carbonilos (Hong, Jie, & Donghua, 2008). Estas reacciones se conocen en la química de alimentos con el nombre de pardeamiento no enzimático o reacciones de Maillard (Varlet et al., 2010) y se da principalmente con las aminas primarias. La lisina ligada a las proteínas, el aminoácido esencial más frecuente en el pescado, se considera como una fuente principal con de los componentes amino en dichas reacciones (Ledesma & Rendueles, 2017). Los aldehídos reaccionan con el nitrógeno de las proteínas para iniciar dichas reacciones (Varlet et al., 2010). Finalmente, el color se ajusta o estabiliza en la matriz alimentaria mediante un secado apropiado. Sin un secado adecuado, el color tiende a desaparecer, obteniendo un producto con un color mucho más claro, no característico del ahumado (Rozum, 2014).

1.6 Textura

La textura es un parámetro importante de calidad de pescado y es un factor que preocupa a la industria de producción acuícola y sus derivados (Chen & Opara, 2013). Se puede definir como el grupo de características procedentes de la estructura del alimento y puede describirse por sus propiedades físicas (mecánicas y reológicas); las cuales el ser humano pude percibir, describir y

cuantificar (Cheng, Sun, Han, & Zeng, 2014). Los parámetros texturales también se emplean con frecuencia para examinar y evaluar la calidad del pescado durante el período de almacenamiento (Coppes, Pavlisko, & De Vecchi, 2002).

No existe una clasificación general de textura para pescados; esto debido a la variabilidad en la estructura de los mismo (Coppes et al., 2002). La variación de las propiedades texturales puede atribuir a factores intrínsecos como extrínsecos. Entre los factores intrínsecos se pueden considerar la especie, el tamaño, el contenido de grasa y la estructura del tejido muscular entre otros, a la pérdida de agua del alimento, la desnaturalización de las proteínas y el grado de autolisis (Casas, Guillén, & Salmerón, 2006). Por otro lado, los factores externos se encuentran la manipulación de alimentos, la temperatura de ahumado, la salazón y las condiciones de almacenamiento (Ledesma et al., 2016).

La textura se mide y se presentan generalmente como algunas propiedades mecánicas que incluyen, la dureza, gomosidad, elasticidad, masticación, cohesión y adhesividad (Coppes et al., 2002); siendo la dureza el atributo de textura importante para el consumidor a la hora de adquirir el producto (Cheng et al., 2014). Estos parámetros cambian por reacciones químicas y enzimáticas que conducen a un ablandamiento o cambios en la elasticidad etc. Por ejemplo, un excesivo ablandamiento en el músculo del pescado; se puede considerar como la falta de textura y por ende un rechazo del producto (Jain, Pathare, & Manikantan, 2007)

El análisis de textura para el pescado y los productos son importantes en la investigación, en el control de calidad y en el desarrollo de productos (Hultmann & Rustad, 2002). Se utilizan métodos instrumentales, diferentes a los sensoriales para determinar la textura y sus cambios; estos como un complemento directo de la evaluación sensorial (Olafsdottir et al., 2004). La punción, compresión, corte y tensión, son las cuatro técnicas y métodos instrumentales, usados comúnmente para medir y evaluar la textura en pescados; a partir parámetros principales como: la fuerza, el tiempo, y la distancia (Coppes et al., 2002).

1.7 Legislación vigente

La legislación y la normatividad es una herramienta esencial en el desarrollo y producción de alimentos. Los principales componentes de la legislación sobre el procesamiento de productos de ahumado están enfocados en la salud del consumidor, la seguridad de los productos procesados; y su influencia en la comercialización (Blaha, Nassereddine, Bacelar, & Gonçalves, 2011). En este caso, los controles gubernamentales son la principal herramienta disponibles para controlar los

riesgos, implementar sistemas de calidad y cumplir con los requisitos mínimos que garantizan la salud de los consumidores. Las autoridades gubernamentales requieren sistemas de gestión de la inocuidad de los alimentos, como HACCP o requisitos previos como: buenas prácticas de higiene y fabricación, programas de limpieza y saneamiento apropiados, para la prevención o inhibición del crecimiento de patógenos

Existen diferentes normas a nivel internacional que regulan la producción y la calidad de pescado ahumado. El *codex alimentarius* stand 311 del 2013, es la norma global para pescado ahumado, pescado con sabor a humo y pescado secado con sabor a humo, que se encarga en regular la calidad nutricional e inocuidad del alimento.

El 18 de diciembre de 1995, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) publicó como una regla final 21 CFR 123, "Procedimientos para el procesamiento y la importación seguros y sanitarios de pescado y productos pesqueros" que requiere que los procesadores de pescado y productos pesqueros desarrollen e implementar sistemas de Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP) para sus operaciones. El reglamento entró en vigencia el 18 de diciembre de 1997. También cuenta con la guia “Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance" Fourth Edition del 2011.

La unión europea cuenta con el reglamento (CE) No 1321/2013 de la comisión europea del 10 de diciembre de 2013, mediante la cual se establece la lista de productos primarios autorizados para dar sabor a humo para uso como tal en o sobre alimentos y / o para la producción de aromas de humo derivados.

En Colombia, la producción de pescado ahumado está reglamentada por la Normas Técnicas Colombianas, entre las que están: la NTC 6178 del 2016 para productos de la pesca y de la acuicultura. pescado ahumado, con sabor a humo y secado con humo, quien establece “los requisitos de calidad del pescado ahumado, con sabor a humo y secado con humo, elaborado con materia prima recién capturada (o cosechada) refrigerada y/o congelada, y los métodos de ensayo para evaluar su calidad. La NTC 1443 del 2016, que determina los requisitos del pescado entero, medallones y trozos, refrigerados o congelados aptos para consumo humano.

2 Hipótesis y objetivos de estudio

2.1 Hipótesis

Con la aplicación de diferentes niveles de sal, tiempos de salazón y métodos de aplicación de humo es posible obtener filetes de tilapia con sabor a humo con parámetros adecuados de calidad para su consumo

2.2 Objetivo general

Obtener filetes de tilapia con sabor a humo, mediante la aplicación de la técnica salazón en salmuera.

2.3 Objetivos específicos

2.3.1 Objetivo específico número uno:

2.2.1 Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de sal, tiempos de salazón, y la aplicación de humo líquido en las variables fisicoquímicas y sensoriales.

2.3.2 Objetivo específico número dos:

Establecer condiciones de salazón- ahumado y secado para el desarrollo de productos de tilapia con sabor a humo.

2.3.3 Objetivo específico número tres:

Analizar los cambios fisicoquímicos y microbiológicos de filetes de tilapia con sabor a humo obtenidos mediante el salazón-ahumado en salmuera, en condiciones de refrigeración (4 ºC) durante 35 días

3 Materiales y métodos

3.1 Obtención de la materia prima

Se utilizaron filetes frescos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), transportados en condiciones de refrigeración (4 °C) hasta el laboratorio de carnes del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá**.**

3.2 Preparación de los filetes y tratamientos experimentales

3.2.1 Análisis químicos y microbiológicos de los filetes frescos

3.2.2 Fase 1: Establecimiento de condiciones de salazón

Se decidió trabajar con un rango de concentraciones de salmuera 5 a 10 %, buscando coincidir con lo establecido para contenido de sal en pescado ahumado y con sabor a humo por la norma técnica Colombia (Icontec, 2016b) y el Codex Alimentarius (2013). Además, conocer la respuesta por parte de los consumidores, establecer las concentraciones de sal y características de producto obtenido.

El esquema general para la salazón y ahumado de los filetes se presenta en la Figura 1. En total se estudiaron 12 tratamientos, correspondientes a tres concentraciones de sal (C), dos modos de aplicación (A) y dos tiempos de salazón (t). Para este fin, se prepararon salmueras con concentraciones de sal de 5; 7,5 y 10 %, con una relación filete fresco: salmuera 1:2 (p/v) y dos tiempos de salazón (4 y 8 horas) a una temperatura de 4°C en cámara de refrigeración. Para el ahumado, se utilizó humo natural condesado y soluble en agua *Arosmoke* P-50 (Red Arrow International, Manitowoc, USA), que fue aplicado a los filetes mediante atomización sobre la materia prima (2,8 g/kg de masa, previamente diluido en agua destilada en una proporción de 30 ml / 100 ml de solución) o diluido en la salmuera (1 ml/litro de salmuera) según recomendaciones del proveedor. Luego de la salazón, los filetes fueron dejados en escurrido durante 18 horas a una temperatura de 4

°C en cámara de refrigeración y una humedad relativa del 90% con el fin de asegurar una distribución homogénea de sal en el músculo y evitar encostramiento. Finalmente, las muestras se llevaron a una reducción de humedad en la cámara adaptada (Plant Growth Chamber Thomson RGX 400E, made in china con control de humedad) a una temperatura de 10 °C con humedad relativa del 60% durante un tiempo de 24 horas.

Terminado el proceso, los filetes fueron sometidos a las determinaciones fisicoquímicas, a medición colorimétrica, determinación de fuerza de corte; y análisis microbiológicos y sensoriales.

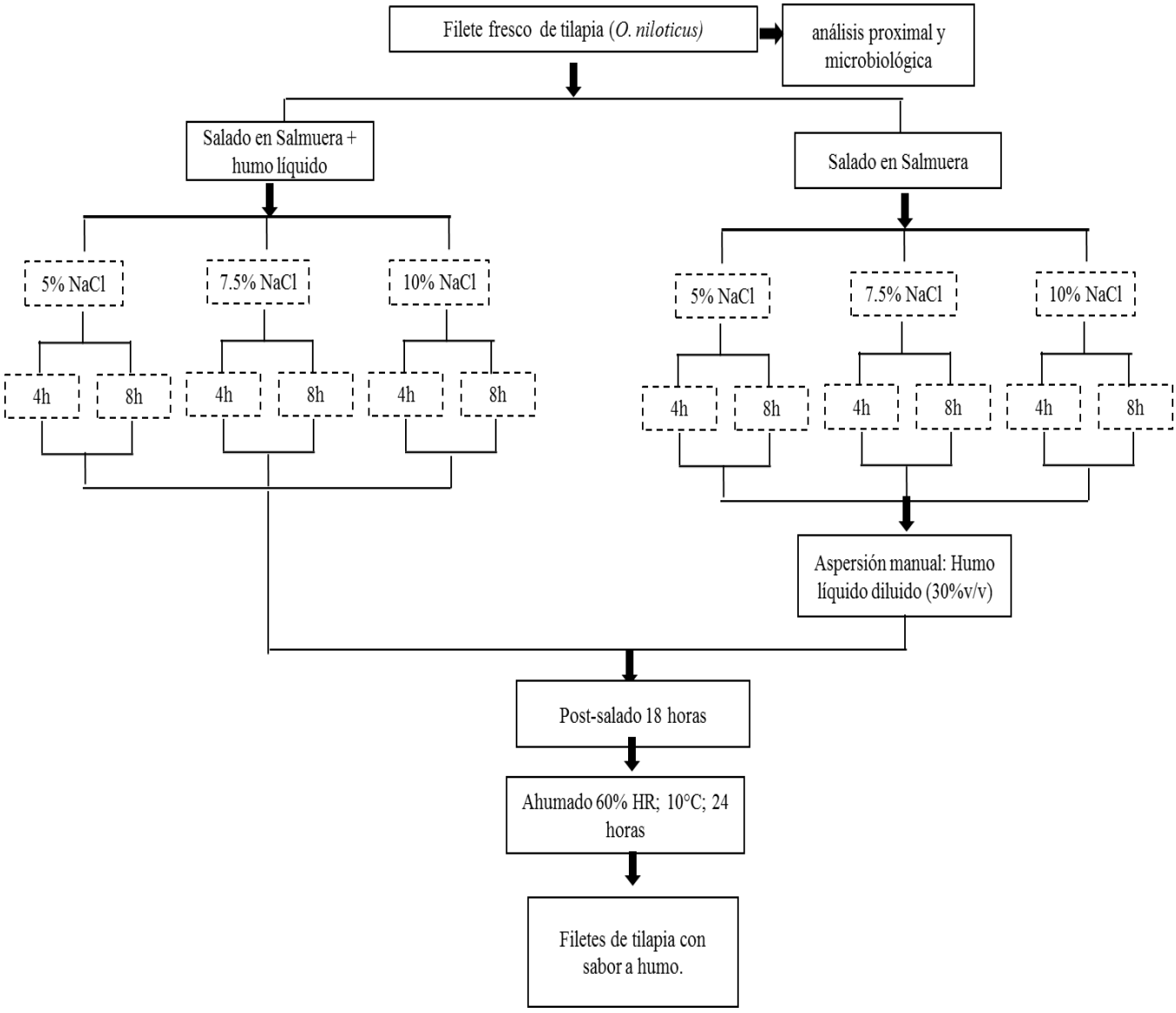


Figura 1. Esquema general de salazón y ahumado de filetes de tilapia

3.2.3 Fase 2: Evaluación estabilidad del producto obtenido

Una vez seleccionado el tratamiento, que cumplió con los requisitos de las normas vigentes; se procedió a evaluar la estabilidad del producto en condiciones de refrigeración (4 °C) y empacado al vacío.

Se utilizaron 36 filetes frescos de tilapia nilótica, los cuales fueron sometidos a un proceso de salazón, con una salmuera al 10% de NaCl y utilizó humo natural condensado y soluble en agua *Arosmoke* P-50 (Red Arrow International, Manitowoc, USA), durante 4 horas; bajos las condiciones anteriormente mencionadas. Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos de las muestras seleccionadas se realizaron en los días 0, 4, 7, 14, 21, 28, y 35 de almacenamiento. Todas las observaciones fueron realizadas en cada día de muestreo por triplicado (n=3).

Las condiciones establecidas se seleccionaron debido a que son las más utilizadas en la industria para almacenar productos ahumados y con sabor a humo durante su período de almacenamiento y comercialización.

3.3 Determinaciones analíticas

Se realizó análisis proximal, actividad de agua, contenido de sal, pH, determinación de color y textura, análisis microbiológico, degradación proteica y lipídica, a los filetes utilizados en la fase de establecimiento de condiciones de salazón; y a los utilizados en la evaluación de la estabilidad del producto obtenido. El análisis sensorial se realizó, a las muestras que cumplieron con lo establecido por la NTC 6178 (2016) y el Codex Alimentarius (2013)

3.3.1 Análisis proximal

Se determinó el contenido de humedad mediante el método AOAC 1990; 950.46, proteína cruda AOAC 1990; 935.11 y grasa AOAC 1990;920.39. (Association of Official Analytical Chemists, 1990)

3.3.2 Actividad de agua (a_w)

Se utilizó el equipo marca Rotronic modelo HygroLab C1 (Grindelstrasse, suiza); las muestras fueron molidas previamente y dispuestas en copas desechables propias del equipo para realizar las mediciones bajo condiciones de temperatura de 23,0 °C a 25,0 °C.

3.3.3 Contenido de cloruro de sodio

El contenido de cloruro se estimó según la metodología utilizada por Fuentes et al., (2010); con algunas modificaciones. Se homogenizaron 10 g de pescado fresco previamente molido empleando un ULTRATURRAX T25 por 1 minuto a 2000 rpm; luego se llevó a la centrífuga durante 10 minutos a 9000 rpm. Posteriormente se filtró la solución y llevó a un volumen conocido con agua destilada. Se tomó exactamente una alícuota de 20 µl para ser titulada en un Analizador de Cloruros SAT-500 TDA-DK (Tokio, Japan). Se utilizaron tres muestras por tratamiento (n=3) y cada muestra se analizó por triplicado.

Las concentraciones totales de cloruro de sodio en fase líquida (Z^{NaCl}) y en base seca (X^{NaCl}) fueron calculadas por medio de las ecuaciones (1) y (2), donde x^{NaCl} es el % sal determinado y x^{w} el contenido de humedad. Los cambios de la masa total (ΔM_t°) fueron calculadas mediante la ecuación (3) descrita por Barat, Rodríguez, Andrés, & Fito (2003).

$$Z^{NaCl} = \left(\frac{x^{NaCl}}{X^{w} - x^{NaCl}}\right) X100 \quad (1)$$

$$X^{NaCl} = \left(\frac{x^{NaCl}}{1 - x^{NaCl}}\right) X100 \quad (2)$$

$$\Delta M_t^{\circ} = \left(\frac{M_t^{\circ} - M_0^{\circ}}{M_0^{\circ}}\right) X100 \quad (3)$$

3.3.4 pH

El pH se determinó según metodología utilizada por Martínez, Salmerón, Guillén, & Casas (2010) con algunas modificaciones. Se tomaron 10 g de muestra molida y se homogenizaron utilizado un ultraturrax con 60 ml de agua destilada. Las mediciones se realizaron usando un medidor de pH (Metrohm, Herisau, Switzerland) debidamente calibrado a una temperatura de 25 °C, se realizaron 5 mediciones por muestra.

3.3.5 Estabilidad a la oxidación lipídica

La estabilidad oxidativa se evaluó midiendo los cambios en las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) generadas en los productos durante el almacenamiento en refrigeración. El procedimiento para la extracción de las TBARS se basó en el método de destilación reportado por

Goulas & Kontominas (2007) con pequeñas modificaciones: se mezclaron 10 g de carne con 97 mL de agua destilada, 3 mL de HCl 4 N y dos gotas de antiespumante en un balón de destilación de 500 mL. La mezcla se destiló por un espacio de 10 minutos hasta recoger 50 mL del destilado. 5 ml del destilado fueron mezclados con 5 mL de solución 0,02 M de ácido 2-tiobarbitúrico en un tubo de ensayo, la mezcla se calentó a 100 ºC en un baño maría durante 45 min y se midió la absorbancia de esta solución en un espectrofotómetro UV/VIS (Jasco V-503, Tokio, Japón) a una longitud de 532 nm. Los valores de TBARS presentes en los filetes de tilapia con sabor a humo y el control se calcularon en mg de malonaldehído/kg muestra (MAD/kg), usando una curva de calibración con 1,1,3,3-tetrametoxipropano como estándar (0, 5,0x10-9, 1,0x10-8, 2,0x10-08, 3,0x01-08; R^2=0,99

3.3.6 Estabilidad a la degradación proteica

El nitrógeno básico volátil total NBVT se usó como indicador de la degradación en las proteínas durante el almacenamiento de los filetes de tilapia. Según el método descrito por Goulas & Kontominas (2005); con algunas modificaciones: se tomaron 10 g de muestra molida, se homogenizaron en ultraturrax con 200 ml de agua destilada, se adicionaron 2 g de óxido de magnesio, 1-2 gotas de agente antiespumante. La mezcla fue llevada a un balón aforado de fondo redondo de 1000 ml con un agitador magnético que posteriormente se llevó a una plancha de agitación y manta de calentamiento acoplada a un montaje de destilación. El destilado se recogió en una solución de 25 ml de ácido bórico al 3% (v/v) y 2 gotas de indicador de Tashiro durante 25 minutos. Finalmente, la solución se valoró usando HCl 0,1 M y los resultados se expresaron como mg de NBVT por 100 g de producto.

3.4 Determinación instrumental del color

El color se determinó directamente sobre zona dorsal de los filetes de tilapia con sabor a humo. se analizaron tres filetes por tratamiento y 10 mediciones por filete (5 por cada lado). Para esta actividad se empleó el colorímetro Color Quest XE (Hunter Associates Laboratory. Murnau, Germany) utilizando el iluminante D65 y el observador estándar de 10 °. Se obtuvieron las coordenadas colorimétricas del sistema CIEL *a*b* (1976), luminosidad (L*), índice verde- rojo (-a*, +a*) e índice azul amarillo (-b*, +b*). El tono ($h°_{ab}$), croma (C^*_{ab}) y el cambio (ΔE) se calcularon según las ecuaciones 6, 7 y 8 respectivamente (Association, 2012).

$$h_{ab}^{\circ} = arcotangente(\frac{b^*}{a^*}) \quad (6)$$

$$C_{ab}^{*} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (7)$$

$$\Delta E\sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} + (\Delta L^*)^2 \quad (8)$$

3.5 Determinación de textura

Se realizó un análisis de perfil de Textura (TPA) en muestras de filetes de todos los tratamientos con analizador de textura TA-X T2i Stable Micro Systems. Se utilizó una celda de carga de sonda cilíndrica de 75 mm de diámetro equipada con un sensor de 50 N. Se obtuvieron los parámetros de dureza, masticabilidad, adhesividad, cohesividad, y elasticidad, según lo describen Martínez et al., (2007). A partir de la curva de fuerza-tiempo resultante, se determinaron los siguientes parámetros: dureza (N / cm 2), adhesividad, cohesividad, la elasticidad (cm), gomosidad (N / cm^2) y masticabilidad (N / cm). Adicionalmente, se determinó la fuerza de corte para las muestras saladas ahumadas, en la cual se utilizó una cuchilla Warner-Bratzler Shear Force (HDP / BS).

Para el análisis se tomó la parte dorsal (lomo) del filete de pescado y se obtuvieron 15 piezas de paralelepípedos de 2X3 cm (Figura 2). Las muestras fueron cortadas perpendicularmente a la orientación muscular a una velocidad constante de 2 mm / s con una cuchilla de ángulo invertido de 90° a temperatura ambiente. Los resultados se expresaron como fuerza máxima corte (N) (Rizo, Fuente, Barat, & Fernández Segovia, 2018).

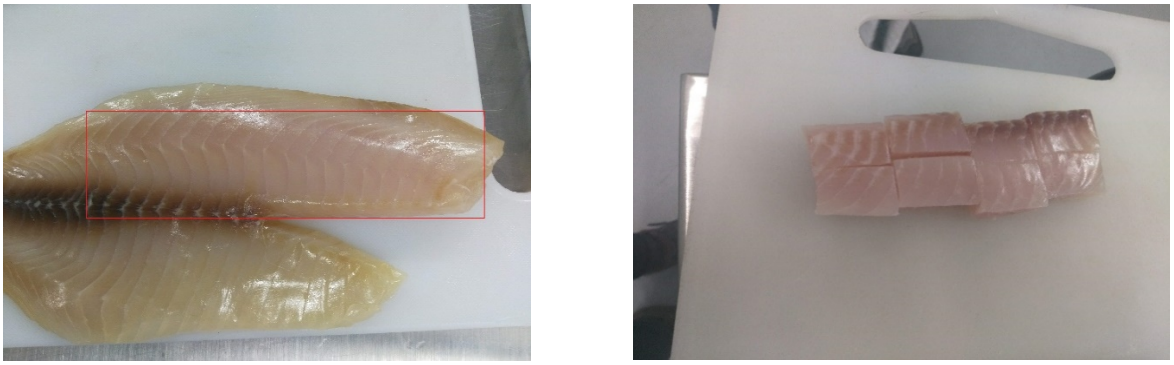


Figura 2. Sección de muestreo para el análisis de textura

3.6 Análisis microbiológico

Las pruebas fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). Se aplicaron las metodologías estándares de medición de acuerdo con el manual de técnicas de análisis para el control de calidad microbiológico de alimentos para el consumo humano del INVIMA (INVIMA, 1998). Se realizó determinación de *E. Coli* mediante la prueba bioquímica Rapid One (Thermo Scientific Remel ®), para confirmar la presencia de este microorganismos (Icontec, 2018)*; Staphyloccoccus* coagulasa positiva ufc/g (INVIMA 1998; método recuento en placa N°8), *Clostridium* sulfito reductor UFC/g (INVIMA, 1998; método recuento en placa N°10), *Salmonella* sp presencia/ Ausencia (P/A)(INVIMA, 1998; método detección N°18), *Listeria monocytogenes* presencia/ Ausencia (P/A) (INVIMA, 1998; método recuento en placa N°20), determinación de *Vibrio cholerae* presencia/ Ausencia (P/A) (INVIMA, 1998; método detección N°19) y *coliformes* totales número más probable (NMP) (INVIMA, 1998; método N°13) (INVIMA, 1998).

3.7 Análisis sensorial

Para el análisis sensorial se seleccionaron los tratamientos con el menor contenido de sal en fase líquida (Z^{NaCl}) que cumplían las especificaciones establecidas por el *Codex Alimentarius* del 2013 y los requisitos microbiológicos para pescado salado con sabor a humo (Icontec, 2016b). En este caso, el proceso de salazón y ahumado se llevó a cabo utilizando concentraciones de salmuera del 7,5 y 10% (p/v), tiempo de salazón 4 y 8 horas respectivamente y aplicación de humo líquido en salmuera. El proceso de secado fue similar al descrito anteriormente. Luego, las muestras de tilapia con sabor a humo se envasaron al vacío y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta que se realizó la evaluación sensorial (24 h aproximadamente después de finalizar todo el proceso).

Para la prueba se cortaron lonchas de tamaño uniforme (4 g aproximadamente). Las muestras se codificaron al azar con tres dígitos. La prueba fue aplicada a 50 consumidores habituales de productos con sabor a humo. Se evaluaron los atributos de apariencia, color, sabor y textura en una escala semiestructurada de 10 cm con dos puntos de anclaje (0: no me gusta y 10: me gusta). Adicionalmente, se pidió a los consumidores que evaluaran la intensidad de los descriptores: sabor a humo, sabor a pescado y sabor salado donde los anclajes correspondieron a 0 (poco intenso), 5 (normal) y 10 (muy intenso) (Watts, Ylimaki, Jeffry, & Elias, 1992). Los descriptores fueron seleccionados de acuerdo a estudios realizados anteriormente por Rizo, Máñes, et al. (2015) y por

las características de las muestras que más se identifican en productos con sabor a humo (Martínez et al. 2012).

3.8 Diseño experimental

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial 2*3*2, doce combinaciones totales, resultantes de dos tiempos de salazón (T: 4 y 8 horas), tres concentraciones de salmuera (C: 5, 7,5 y 10 % p/v) y dos formas de aplicación (a: atomización y s: dosificado en salmuera).

3.9 Análisis estadístico

Los datos se procesaron estadísticamente con Statgraphics Centurion XVI (Manugistics. Rockville. MD. USA, 2013) se aplicó un ANOVA multifactor para el caso de los análisis fisicoquímicos, con el objetivo de evaluar el efecto de la concentración de la salmuera, tiempo de salazón, forma de aplicación del humo y sus interacciones. Para el análisis sensorial se utilizó un ANOVA simple con el fin de comparar si hubo diferencias significativas en cada atributo evaluado, se aplicó el método LSD (least significant difference) para comprobar las diferencias entre los tratamientos con un nivel de significancia del 5%. Se utilizó un ANOVA simple para cada parámetro con el fin de determinar si hubo diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento. Todos los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos se consideraron como variables dependientes del tiempo de almacenamiento; y fue el factor en estos análisis. Se aplicó el método LSD (least significant difference) con un nivel de significancia del 5%.

4 Resultados y discusión

4.1 Análisis químicos y microbiológicos de los filetes frescos

En la Tabla 3, se presentan los resultados fisicoquímicos y los recuentos microbiológicos del material fresco de tilapia. En cuanto el contenido de humedad y grasa, los valores obtenidos fueron similares a lo reportado por Chaijan (2011), la materia prima de tilapia utilizada en el experimento se consideran como magra según lo establecido por Rizo et al. (2016a). El resto de los parámetros evaluados de la materia prima cumplió, con lo establecido por la Norma Técnica Colombia (Icontec, 2016a) para filetes de pescado fresco. Para el caso del valor máximo para NBVT las muestras se consideraron de "alta calidad" debido a que presentaron valores por debajo de 25 mg/100 g (Comision Europea, 2008; Oehlenschläger, 2014; Sernapesca, 2018). En general, los resultados microbiológicos obtenidos indican una buena calidad higiénica de la materia prima utilizada para este experimento.

Tabla 3. Composición fisicoquímica y microbiológica del filete de tilapia fresco. Datos expresados en términos de media y desviación estándar ±. Y, conteos microbiológicos de Presencia/ Ausencia (P/A) y unidades formadoras de colonia (ufc/g) (n=3).

Variable	Tilapia fresca
Humedad	80,12±0,03
Contenido de grasa	2,78±0,05
Proteína	19,01±0,1
pH	6,43±0,09
a_w	0,995±0,01
NBVT (mg/100g)	11,8±0,75
TBARS (mg MAD/Kg)	0,11±0,002
Vibrio cholerae (P/A	Ausencia
Salmonella (P/A)	Ausencia
Listeria monocytogenes ufc/g	Ausencia
Echeriachia coli ufc/g	Ausencia
Coliformes totales ufc/g	<3
S. aureus Coagulasa Positiva (ufc/g)	<100
Clostridium Sulfito Reductor (ufc/g)	<10

Z^{NaCl}: contenido de sal en fase líquido; a_w: actividad de agua; NBVT: bases volátiles nitrogenadas totales; TBARS: sustancias reactivas a ácido 2-tiobarbiturico; MDA: malonaldehído. Valores Promedios ± desviación estándar.

4.2 Fase 1: Establecimiento de condiciones de salazón

4.2.1 Caracterización del producto salado-ahumado.

El resultado del análisis estadístico del Anova multifactor se muestra en la Tabla 4. Se comparó el efecto de la concentración de la salmuera (C), tiempo de salazón (t) y forma de aplicación del humo líquido (A) en todas las variables estudiadas. Se pudo observar que los factores de t y C y sus interacciones presentaron efecto significativo ($p<0,05$) en las variables de cambios de peso $\Delta M_t°$, humedad (x^w %), concentración de sal (x^{NaCl} %), concentración de sal en fase líquida (Z^{NaCl}%) y actividad de agua (a_w). El factor aplicación del humo esta no presentó un efecto significativo ($p<0.05$) en la humedad ni en la a_w.

Los cambios de peso total en filetes de tilapia se vieron afectados significativamente ($p<0,05$) por los factores concentración de la salmuera (C), el tiempo de salazón (t) y aplicación (A) (Tabla 4). Los valores de cambio de peso fueron más altos en muestras procesadas con tiempos de salazón de 8 horas, que en muestras tratadas con 4 horas para cada una de las concentraciones de salmuera utilizada.

Tabla 4. Niveles de significancia obtenidos en la ANOVA multifactor para los parámetros fisicoquímicos, color y textura según los factores: concentración de salmuera (C). tiempo de salazón (t) y aplicación de humo líquido (A) y sus respectivas interacciones.

variable	t	C	A	C x t	t x A	C x A	C x t x A
x^{w}%	121,16***	197,72***	0,67 ^{ns}	8,33***	0,34^{ns}	0,57^{ns}	3,34^{ns}
x^{NaCl}%	5773,71***	20216,24***	23,02***	215,12***	6,62**	13,38***	3,78*
Z^{NaCl}%	5362,52**	17704,42***	8,87**	128,03***	0,42^{ns}	4,37*	3,47^{ns}
a_w	796,69 ***	1187,11***	1,211^{ns}	41,91***	0,06^{ns}	1,24^{ns}	2,62^{ns}
ΔM_t°	1229,07***	274,80***	34,77***	333,24***	15,74***	9,02**	2,80^{ns}
L*	0,82^{ns}	3,61**	3,21^{ns}	0,13^{ns}	0,02^{ns}	0,55^{ns}	0,79^{ns}
a*	16,30***	6,46**	0,26 ^{ns}	0,74^{ns}	0,02^{ns}	4,46*	4,71\$^{*}$
b*	35,91***	3,17 *	463,62***	10,26***	5,3*	8,85***	42,0***
C^*_{ab}	6,5*	0,9^{ns}	344,5***	12,3***	0,6^{ns}	4,42*	24,4***
h^{o}_{ab}	15,05***	0,01^{ns}	78,54 ***	0,27^{ns}	2,36^{ns}	3,57 *	6,67**
F_{max}(N)	2,83^{ns}	12,13***	3,60 ^{ns}	5,29*	1,1^{ns}	1,21^{ns}	0,76^{ns}

*** <0,001. ** p<0,01. * p<0,05. ns: no significativo.

La Figura 3 muestra los cambios de masa de las muestras al final del proceso. Los filetes con mayor pérdida de peso fueron los que se sometieron a concentraciones de salmuera al 10%. La pérdida de peso para este estudio estuvo por debajo de la 13% al final del proceso. Por otro lado, la aplicación de humo líquido, dio como resultado que, con 4 horas de salazón, la pérdida de peso es menor cuando es aplicado en salmuera, que por aspersión. El cambio de peso observados en este estudio fue similar a lo reportado en otros estudios realizados Rizo et al. (2016a) en bacalao cuando es salado-ahumado es realizado en una misma etapa. Según Barat, Rodríguez-Barona, Andrés, & Fito (2002), la pérdida de peso observada no sólo se debe a la deshidratación osmótica del filete, sino también a la desnaturalización proteica debida a la acción de la sal. Sin embargo, cuando se utiliza concentraciones de salmueras menores al 10%, hay un aumento en la capacidad de retención de agua, debido a que ocurre una menor desnaturalización de las proteínas en el músculo lo que lleva a un mayor rendimiento durante el proceso. El contenido de grasa en el filete de pescado influye en los cambios de peso durante la salazón, por lo tanto, la pérdida de peso es mayor en filetes de pescado magros que aquellos con contenidos altos de grasa (Gallart-Jornet et al., 2007a).

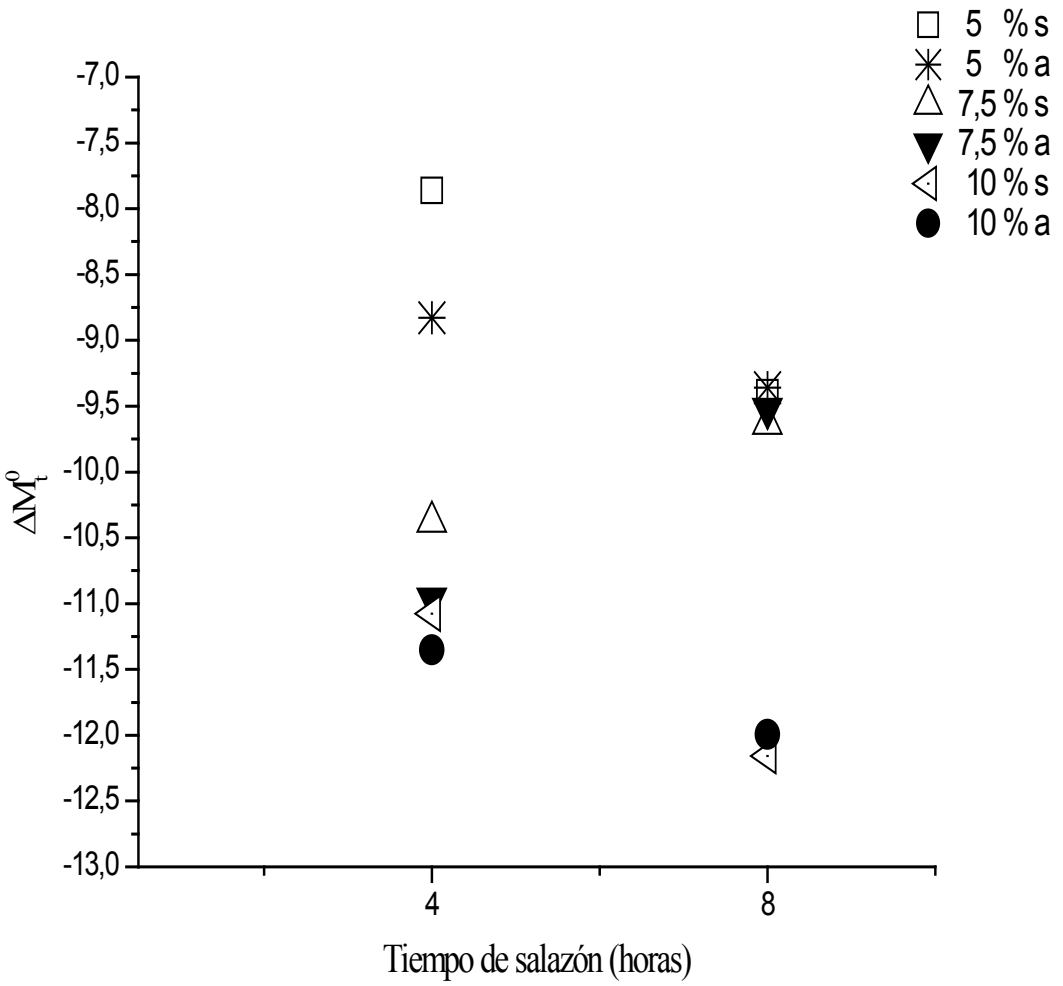


Figura 3. Cambios de masa en filetes de tilapia con sabor a humo utilizando diferentes concentraciones de sal (C: 5, 7.5 y 10 %); tiempos de salazón (t: 4 y 8 horas) y aplicación de humo (A: atomización (a) y salmuera (s)).

En todas las muestras se presentó mayor pérdida de humedad a medida que aumenta la concentración de sal y el tiempo de salazón (Figura 4). En este sentido, se evidencia efecto significativo ($p<0,05$) del tiempo y la concentración sobre esta variable. Sin embargo, el efecto de la aplicación del humo líquido no fue significativo ($p<0,05$) para la humedad. En ninguno de los casos, la interacción entre los factores fue significativo; lo que indica que estos, influyen en las variables estudiadas de una forma totalmente independiente. En este sentido, un aumento en el tiempo de salazón y la concentración de la salmuera; provocaría mayores pérdidas de humedad. Por lo tanto, se observa que los contenidos de humedad en los filetes frescos pasaron de 79,62% al 70,34%, cuando se utilizó

concentraciones de salmuera del 10% y un tiempo de 8 horas de salazón. Por otra parte, se evidencia que al utilizar salmueras con concentraciones del 5% y 7,5% y 4 horas de salazón; la pérdida de agua es menor, con valores de humedad del 75,74% y 74,74% respectivamente. En cuanto mayor sea la concentración de sal utilizada para la salazón, mayor será la absorción de sal y se presenta una mayor pérdida de agua (Chaijan, 2011). Los valores de humedad después del procesamiento de las muestras para este experimento fueron similares a los reportados por Rizo et al.(2016a), para pescado con bajo contenido de lípidos. El contenido de lípidos es uno de los factores que afectan los mecanismos de difusión durante las etapas de salazón (Gallart-Jornet et al., 2007a). La velocidad de difusión del agua es más rápida en pescados magros, que en aquellos con un alto contenido de grasa; lo que lleva a una etapa de salazón más rápida (Cardinal et al., 2001). El secado (reducción de humedad en producto), también influye en la pérdida de agua del filete; y se debe a una migración del agua causada por; la evaporación del agua superficial y luego por la difusión de la misma dentro del músculo hacia la superficie. (Cardinal et al., 2001)

En la industria del pescado ahumado, la humedad juega un papel importante ya que tiene relación con la estabilidad y la vida útil del producto (Fuentes et al., 2008). La industria francesa de salmón ahumado recomienda contenidos de humedad por debajo del 65% (Cardinal et al., 2001). Sin embargo, no existe valores de referencia para otras especies de pescado ahumado, ya que varían de acuerdo con las condiciones de procesamiento, preferencias de los consumidores, el contenido de sal y, las diferencias de contenido de humedad y grasa inicial del filete fresco (Fuentes, Fernandez, Barat, & Serra, 2010).

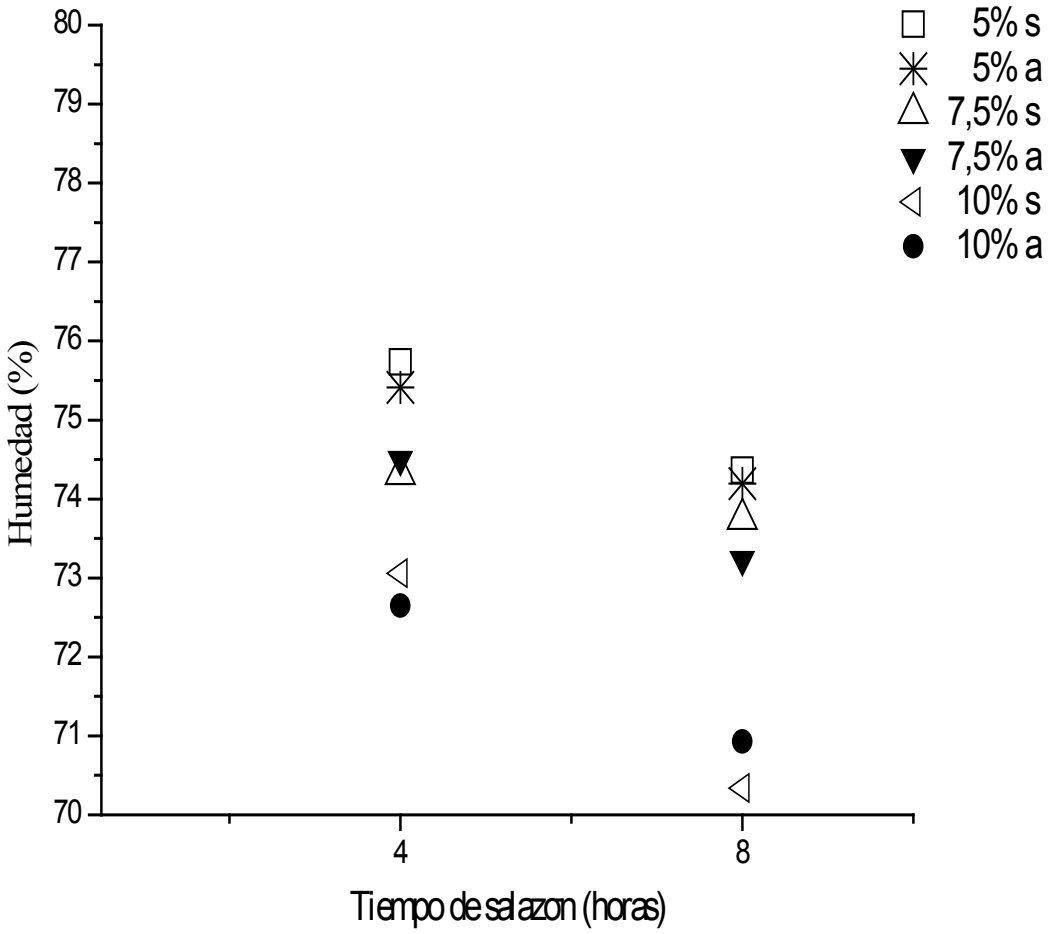


Figura 4. Humedad de los filetes de tilapia con sabor a humo utilizando diferentes concentraciones de sal (C: 5, 7.5 y 10 %); tiempos de salazón (t: 4 y 8 horas) y aplicación de humo (A: atomización (a) y salmuera (s)).

Los valores de actividad de agua de los filetes con sabor a humo se muestran en la Figura 5. La concentración de sal y tiempo de salado mostraron efecto significativo ($p<0,05$) en la a_w, resultado similar a lo observado en la humedad. Por lo tanto, a medida que aumentó la dosis de sal y tiempo de salazón, se detectó una reducción en los valores de la actividad de agua (a_w) llegado a valores en promedio de 0,954. El tratamiento que más presentó este comportamiento, fue el realizado con la salmuera al 10% con 8 horas de salazón. Estudios realizados por Chaijan (2011), encontraron que la disminución de la actividad de agua en el músculo de la tilapia se debe al aumento de sal y a la pérdida del contenido de agua en el músculo. Un cambio de actividad de agua entre un filete fresco y procesado puede atribuirse a un aumento de la concentración de sal en la fase líquida del alimento,

lo que lleva a una prolongación de su vida útil (Pittia & Antonello, 2015). Estudios realizados por Fuentes et al. (2010) en diferentes muestras de pescado ahumado comercial mostraron valores de actividad de agua que van desde 0,991 hasta 0,971; los cuales correspondieron a contenidos de sal altos y bajos respectivamente. Adicionalmente, en este trabajo también se pudo evidenciar que la técnica de aplicación del sabor a humo (A) no presentó efecto significativo ($p>0,05$) en las variables físico químicas de humedad (x^w) y actividad de agua (a_w) (Tabla 4). Por lo tanto, es preferible realizar la aplicación del sabor a humo directamente en la salmuera, de esta manera se reducen los procedimientos y se acortan costos y tiempos de procesamiento.

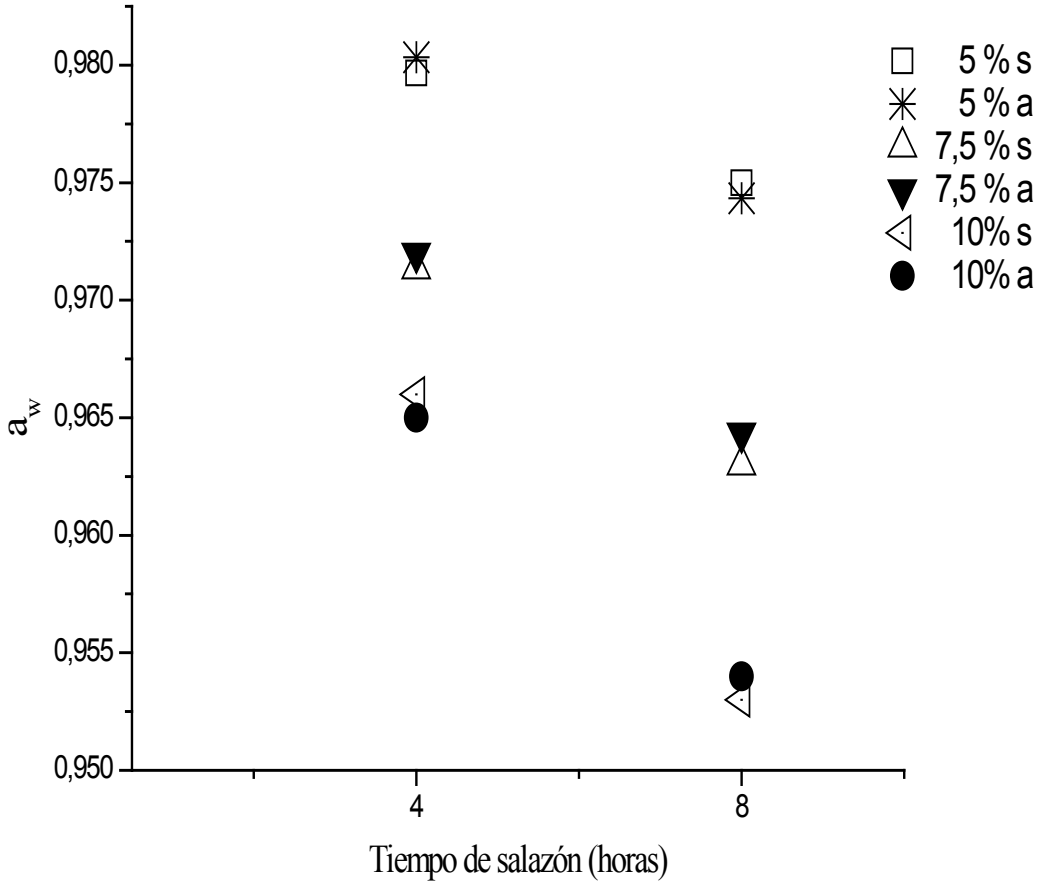


Figura 5. Actividad de agua de los filetes de tilapia con sabor a humo utilizando diferentes concentraciones de sal (C: 5, 7.5 y 10 %); tiempos de salazón (t: 4 y 8 horas) y aplicación de humo (A: atomización (a) y salmuera (s)). Valores expresados en términos de promedio.

En la Tabla 5 se muestran los valores del contenido de sal expresados en porcentaje (%) y fase líquida (Z^{NaCl}). El estudio reveló que existieron diferencias significativas ($p<0,05$) a lo largo del proceso de salado en el contenido de sal en fase líquida en el músculo del pescado. Este parámetro se vio afectado por la concentración de la salmuera y el tiempo de salado; efecto que también fue reportado por Nguyen, Anna, Gudmundsdottir, & Thorkelsson (2011). Adicionalmente, se observaron valores más altos de Z^{NaCl} en las muestras que fueron tratadas con salmueras al 10%, frente a las saladas con salmueras con una concentración del 5%. Ünlüsayin et al. (2010), informaron que una mayor concentración de sal causa deshidratación en el filete, debido a las diferencias de solutos (NaCl) entre la concentración de la solución y el agua propia del músculo. En cuanto al tiempo, se observó que, los valores de contenido de sal en el músculo fueron mayores en tiempos de salado de 8 horas. Resultados similares fueron reportados por Chaijan (2011), a mayor tiempo de salado, mayores serán los valores de sal. También se observó que la aplicación (A) y sus interacciones mostraron un efecto estadísticamente significativo ($p<0,05$) sobre esta variable, evidenciando valores altos en el contenido de sal en los filetes en los que el humo líquido fue aplicado disuelto en la salmuera frente a los tratamientos en los que se aplicó por aspersión.

Debido a que no existen valores de referencias el contenido de humedad y el contenido de sal en filetes de tilapia con sabor a humo; el Codex Alimentarius (2013) establece como referencia contenidos de sal en fase líquida Z^{NaCl} de 3-3,5% como mínimo en los productos clasificados como "pescado ahumado, pescado con sabor a humo y pescado seco ahumado" con el fin de proporcionar protección completa a temperaturas entre 3 ° C y 10 ° C. Una variabilidad en el contenido de sal en fase líquida puede tener implicaciones en la formación de la toxina botulínica (*Clostridium botulinum*) (Alimentarius, 2013). Con base a esta norma vigente, los productos obtenidos con los tratamientos de salmuera del 10% y 7,5% con tiempos de 4 y 8 horas de salados, cumplieron con estas recomendaciones. Sin embargo, para estudiar el comportamiento sensorial solamente se seleccionó los tratamientos realizados con salmueras al 10% y 4 horas al igual que 7,5% y 8 horas de salado. El tratamiento de 10% y 8 horas de salado no se seleccionó para el análisis debido a que evidenció un alto contenido de sal.

Tabla 5. Valores expresados en términos de media y desviación estándar (n=3) del contenido de sal x^{NaCl} (%) y contenido de sal en fase líquida Z^{NaCl} (%) en filetes de tilapia con sabor a humo obtenidos mediante la utilización de diferentes concentraciones de salazón.

C	A	t (horas)	x^{NaCl}	Z^{NaCl}
	s	4	1,36±0,03	1,74±0,01
5		8	2,02±0,01	2,64±0,00
	a	4	1,24±0,01	1,65±0,03
		8	1,98±0,01	2,60±0,01
	s	4	1,82±0,01	2,40±0,02
7,5		8	2,24±0,03	3,0±0,03
	a	4	1,81±0,01	2,37±0,02
		8	2,24±0,02	2,97±0,04
	s	4	3,02±0,02	3,97±0,05
10		8	3,42±0,02	4,63±0,05
	a	4	3,01±0,01	3,98±0,01
		8	3,41±0,01	4,58±0,04

4.2.2 Determinación de color instrumental

Los valores promedios obtenidos de las coordenadas cromáticas L *, a *, b *, croma (C^*_{ab}) y (h^o_{ab}) para muestras de filetes con sabor a humo se muestran en la Tabla 6. Los filetes con sabor humo presentaron valores bajos en las coordenadas L*, a* y b*. El tiempo y la concentración mostraron efecto significativo ($p< 0,05$) en las coordenadas a* y b* (Tabla 4). Los filetes tratados con las diferentes concentraciones de salmuera utilizadas revelaron valores más altos en las coordenadas a* y b* cuando el tiempo de salado tuvo una duración de 8 horas frente al de 4 horas. Así mismo, la técnica de aplicación del humo líquido evidenció un efecto significativo ($p< 0,05$) sobre las coordenadas L* y b* (Tabla 4) de las muestras tratadas. Por lo tanto, los valores promedio en una aplicación de humo líquido en salmuera (s) fueron más altos que cuando se realizó una aplicación por aspersión (a). Para este caso, las muestras tratadas con s (humo líquido en salmuera) tuvieron un mayor tiempo de contacto con el humo líquido que aquellas en las cuales se realizó una aplicación por aspersión, en las que el humo líquido fue aplicado después de la etapa de salado. Por otro lado, en comparación con los filetes frescos (sin tratamiento), se evidenció que el salado y ahumado reducen la luminosidad (L*). La reducción de la coordenada L* después del procesamiento coinciden con lo reportado por Roth, Birkeland, & Oyarzun. (2009) quienes encontraron un comportamiento

similar en los parámetros L* y a*al evaluar el salado y ahumado en filetes de salmón. El tono para las muestras analizadas, estuvo por debajo del 60 °, estando en la gama de colores rosados claros. El tono es la descripción del color como se expresa en el lenguaje (amarillo, rojo, verde, azul, etc.) (Association, 2012); por ejemplo, tonos bajos (<40) son deseables en salmón ahumado y se caracterizan por estar entre rosados claros y oscuros. (Gormley, 1992).

El color en productos ahumados es un parámetro de calidad relevante por parte de los consumidores (Ortiz, Lemus, Vega, Ah-hen, & Puente, 2013); y depende en gran medida de la técnica de aplicación, tipo y concentración del humo líquido; así mismo, como del tiempo y técnica de salado y el tiempo y temperatura del secado (Bjørnevik et al., 2018; Cardinal et al., 2001; Rozum, 2014)**.** De igual manera, factores como: la especie de pescado, el tipo de alimentación y el sistema de producción influyen en el color final de los productos (Fuentes et al., 2010).

La característica común de cualquier alimento ahumado es una disminución de la coordenada L* (Ledesma & Rendueles, 2017). Estudios realizados por Rizo et al. (2016b) evidenciaron que la utilización de humo líquido en filetes de bacalao presentó una reducción en el valor L* en comparación con filetes frescos. Esta reducción se puede atribuir a la perdida de agua y la desnaturalización de las proteínas ocurridas durante el proceso de ahumado (Birkeland & Skara, 2008). Los principales cambios en el color de cualquier tipo de alimento se producen en la superficie externa. Esto se debe a un mayor tiempo de inmersión de los filetes en la salmuera y al contacto con el humo líquido (Arvanitoyannis & Kotsanopoulos, 2012). Componentes químicos como cetonas, alcoholes, ácidos, ésteres y fenoles presentes en el humo líquido (Montazeri et al., 2013); pueden ser los responsables de brindar el color en los productos de pescado ahumado (Rozum, 2014).

.

Tabla 6. Coordenadas de color obtenidas en muestras de filetes de tilapia con sabor a humo obtenidos mediante la utilización de diferentes concentraciones de sal (C),tiempos de salado (t) y forma de aplicación del humo líquido (A). valores promedio ± desviación estándar.

C	A	t (horas)	L*	a*	b*	Croma (ab*)	Tono (h^o_{ab})
Filete sin procesar			58,91±0,96	1,72±*0,33*	5,39±*0,66*	5,67±*0,61*	72,03±*4,17*
	s	4	48,18±1,80	2,50±0,73	2,58±0,49	3,61±0,78	46,60±6,64
5		8	46,85±1,38	3,74±0,47	7,64±0,91	7,85±0,83	76,89±4,29
	a	4	47,80±1,99	2,43±0,23	4,45±0,78	5,08±0,71	60,92±4,52
		8	46,67±3,13	3,57±0,49	5,53±0,96	6,13±0,86	64,68±6,22
	s	4	46,11±3,05	2,58±0,38	3,63±0,80	4,49±0,63	54,00±8,00
7.5		8	45,47±5,50	3,02±0,60	5,06±1,05	5,92±1,06	58,90±5,61
	a	4	47,05±4,91	3,29±0,26	2,59±0,60	4,22±0,34	37,84±7,35
		8	47,73±2,77	3,23±0,36	4,76±0,53	5,76±0,54	55,78±3,33
	s	4	47,77±5,92	3,40±0,30	2,47±0,23	4,21±0,27	36,09±3,68
10		8	45,00±2,78	2,48±0,32	6,23±0,48	6,71±0,52	68,32±2,09
	a	4	45,83±1,92	3,32±0,34	2,60±0,21	4,22±0,32	38,18±3,25
		8	44,25±2,61	3,52±0,27	5,82±0,44	6,81±0,45	58,79±2,17

4.2.3 Determinación de Textura

La Tabla 7 muestra los valores promedio de la textura de los filetes de tilapia con sabor a humo. La fuerza de corte mostró diferencias entre los tratamientos y se vio afectada por la concentración de salmuera ($p<0,05$) (Tabla 4). Los valores de fuerza de corte fueron mayores para las concentraciones de salmuera del 7,5 % y 10% en comparación con las muestras tratadas con 5%, mostrando un aumento gradual en la dureza en los filetes. Efectos similares fueron observados en estudios realizados en salmón por Bjørnevik et al. (2018). También se evidenció que el tiempo de salado y método de aplicación de humo líquido no mostraron efecto estadísticamente significativo ($p<0,05$) sobre esta variable. La fuerza requerida para cortar las muestras saladas ahumadas fue mayor, que filetes no procesados (Tabla 7). Esto concuerda con los resultados mostrados por Sigurgisladottir, Sigurdardottir, Torrissen, Vallet, & Hafsteinsson (2000), quienes estudiaron los efectos de diferentes procesos de salazón y ahumado en la textura de filetes de salmón del Atlántico.

El cambio de textura durante la salazón se atribuye a la solubilidad y desnaturalización de las proteínas musculares que afectan la estructura en la matriz tanto intra como extracelular (Barat et al.,

2003; Nguyen et al., 2011). Hultmanna, Røra, Ingelin, Skara, & Rustada (2004), indicaron que la temperatura del ahumado influye en los cambios de textura en salmón; presentado mayor dureza en muestras ahumadas a 20 °C que en aquellas donde se utilizó una temperatura del 30 °C. La textura, es un parámetro de calidad importante en productos de pescado ahumado o con sabor a humo y está influenciada por diferentes factores (Birkeland & Skara, 2008). Entre los que están el contenido y distribución de grasa muscular, las estructuras de las proteínas, las condiciones de almacenamiento, y la combinación de técnicas de procesamiento (salazón y ahumado) (Cheng et al., 2014). En cuanto, al efecto del humo sobre la textura de pescado ahumado, el formaldehído parece estar involucrado, este reacciona con el grupo amino del residuo de aminoácido N-terminal y las cadenas laterales de residuos de arginina, cisteína, histidina y lisina, presentado cambios en el producto aplicado (Varlet et al., 2010).

Tabla 7. Valores promedio ± desviación estándar de textura expresados en fuerza de corte (N) de los filetes de tilapia con sabor a humo.

C(%)	A	t (h)	Fuerza máxima de corte (N)
Filete sin procesar			22,04±1,38
5	As	4	24,47±3,50
		8	24,47±2,51
	Aa	4	24,07±4,97
		8	24,60±3,06
7.5	As	4	24,23±1,22
		8	25,37±4,60
	Aa	4	25,43±2,15
		8	31,53±3,95
10	As	4	34,77±4,65
		8	36,00±4,17
	Aa	4	34,47±4,57
		8	37,57±3,18

4.2.3 Análisis microbiológico y sensorial

4.2.3.1 Análisis microbiológico

Los recuentos microbiológicos de las muestras seleccionadas para el análisis sensorial se muestran en la Tabla 8. Se evidencia que los dos tratamientos seleccionados cumplieron con las normas establecidas para pescado ahumado y con sabor a humo (Codex Alimentarius, 2013; NTC 6178, 2016). Adicionalmente, las bajas cantidades de microorganismos mostraron que los procedimientos de salado y secado se realizaron bajo condiciones higiénicas. Por tanto, las muestras procesadas fueron aptas para el consumo humano.

Tabla 8. Conteo microbiológico de filetes de tilapia con sabor a humo. (n=3)

	4 horas 10%	8 horas 7,5%
Coliformes totales (NMP)	<3	<3
Echerichia coli (ufc/g)	<10	<10
S. aureus Coagulasa Positiva (ufc/g)	<100	<100
Clostridium Sulfito Reductor (ufc/g)	<10	<10
Salmonella sp (P/A)	Ausencia	Ausencia
Vibrio cholerae (P/A)	Ausencia	Ausencia

4.2.3.2 Análisis sensorial

Los resultados promedio de las puntaciones expresadas por los consumidores para cada uno de los atributos sensoriales evaluados para las dos muestras se presentan en la Figura 6. Se observaron diferencias significativas ($p< 0,05$) para los atributos sabor a salado, sabor a pescado y sabor a humo entre los dos tratamientos utilizados para la obtención de filetes de tilapia con sabor a humo. El color varía dependiendo de las formas de proceso y tipos de humos utilizados (Martínez et al., 2011). En este caso, el color no presentó una diferencia significativa ($p>0,05$) debido a que se utilizó el mismo procedimiento con adición de humo líquido, dosis y condiciones de secado. Las muestras saladas a una concentración del 10% y 4 horas, presentaron el mayor puntaje en los atributos de sabor a salado y sabor a humo, sin tener influencia en la aceptación del producto. En general, la aceptación fue mayor al 80%. La percepción del sabor a humo fue mayor que la percepción del sabor a pescado y a sal. Datos similares fueron reportados en Huang et al. (2019) en caballa española ahumada en frio,

donde el proceso de curado podría haber eliminado el olor y sabor a pescado; mientras el ahumado en frío resalto el sabor a humo. Estudios realizados por Varlet et al. (2007) en salmón ahumado el humo líquido no solo causa una efecto en el sabor a humo, sino que también genera una interacción que influye en el sabor a sal. Sin embargo, el mismo autor afirma que estas intensidades de sabor a salado y a humo, varían dependiendo, la técnica de ahumado y el humo líquido utilizado. El sabor a sal, a humo, el color y la apariencia son los principales descriptores seleccionados por los consumidores de salmón ahumado (Cardinal, Gunnlaugsdottir, Bjoernevik, Ouisse, & Luc, 2004). El sabor y olor a humo en los alimentos se da principalmente por los compuestos volátiles presente en el humo líquido cuando estos se adhieren al filete (Martínez et al., 2011). Siendo los compuestos fenólicos, como el siringaldehído y el coniferaldehído, los cuales son retenidos por el alimento e intensifican el sabor y olor del pescado ahumado (Varlet, Prost, & Serot, 2007). Los atributos sensoriales de sabor y olor dependen del tipo y composición del de humo utilizado; la composición de la materia prima y las condiciones en las que se realiza el ahumado (Sérot, Baron, Knockaert, & Vallet, 2004).

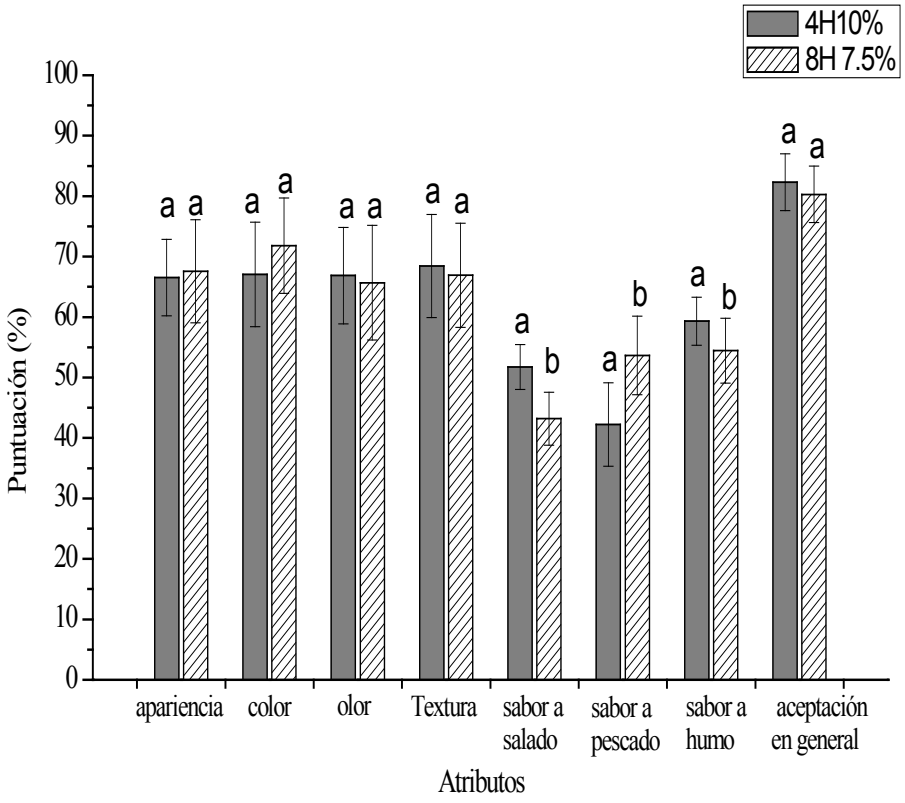


Figura 6. Puntuación (%) para los diferentes atributos evaluados en muestras de tilapia con sabor a humo. Valores promedios (n = 3). Las barras indican la desviación estándar. Letras desiguales indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

4.3 Fase 2: Evaluación estabilidad del producto obtenido

4.3.1 Cambios fisicoquímicos y microbiológicos durante el almacenamiento en refrigeración

Los cambios en los valores de pH, NBVT y TBARS en tilapia con sabor a humo durante el tiempo de almacenamiento se muestra en la Tabla 9. Los valores promedio de pH promedio para el pescado crudo y con sabor a humo fueron 6,43 y 6,14 respectivamente (Tabla 1 y Tabla 7). Se puede evidenciar un descenso en esta variable. Este cambio se puede relacionar con que el pH del humo líquido utilizado oscila entre 3,5- 5,5; y según Varlet et al. (2010) un pH bajo en el humo líquido da como resultado una reducción del mismo en el alimento utilizado. También, se puede atribuir a la absorción del ácido acético del humo (Rozum, 2014) y a la pérdida de humedad del filete (Martínez, Salmerón, Guillén, & Casas, 2007); y/o al incremento en la fuerza iónica de la solución salina dentro de las células (Leroi & Joffraud, 2000). Efecto similar fue reportado por Alcicek (2014), quien observó que al aplicar humo líquido en almejas (*Chamelea gallina*) se presentó una reducción de pH en comparación con las muestras sin tratar.

Respecto a los cambios de pH, se evidenció un aumento progresivo durante el tiempo de almacenamiento, pasando de 6,14 en el día 0 a 6,40 en el día 35. Mostrando diferencias significativas ($p<0,05$) a través del tiempo. Datos similares fueron reportados por Ariestya et al. (2016) en filetes de tilapia ahumado con humo líquido y Fuentes (2007) en filetes de lubina con sabor a humo conservados en condiciones de refrigeración y empacados al vacío. En general, el pH en pescado ahumado aumenta con el almacenamiento (Swastawati, Susanto, Cahyono, & Trilaksono, 2012). En el mercado pescado ahumado europeo, se encuentran productos con valores de pH que están entre 5,0 y 7,5; y varían según el tipo de procesamiento, especie, forma de ahumado (tradicional o humo líquido) y condiciones de almacenamiento (Fuentes, Fernandez, Barat, & Serra, 2010). La elevación en el pH en pescado ahumado se da principalmente por la proteólisis influenciado por reacciones bioquímicas naturales o al crecimiento de bacterias, que da lugar a la formación de compuestos básicos volátiles (como: amoníaco, trimetilamina, etc.) y producen un deterioro en el pescado (Goulas & Kontominas, 2005).

La degradación proteolítica de las muestras de filetes con sabor a humo se evaluó, midiendo los cambios en el contenido de NBVT. Para este estudio, los valores de NBVT aumentaron gradualmente, presentado diferencias significativas ($p<0,05$) entre los días 0, 7, 14 y 35 (Tabla 7).

Sin embargo, estos valores se mantuvieron durante todo el período estudiado, por debajo de los límites 30-40 mg/100g propuestos para pescado ahumado (citado por Ozogul & Balikci, 2013); obteniendo valores en promedio de 21,56 (mg/100 g) para el día 35; esto sugiere que durante el período de almacenamiento no hubo una actividad microbiana considerable. Ya que el aumento en NBVT puede estar relacionado con deterioro bacteriano de la proteína, transformando los aminoácidos en otros compuestos como aminas biogénicas o sabores extraños como el amoníaco (Oehlenschläger, 2014; Toldra & Reig, 2011). Estos valores, fueron similares a los informados para muestras de salmón ahumado en frío y almacenadas a 4 °C (Rizo, Mañes, et al., 2015); al igual que, para filetes de tilapia ahumada, utilizando humo líquido en microencapsulado, almacenadas a 5 °C (Ariestya et al.,2016) y tilapia ahumada en caliente, empacadas al vacío y conservada en condiciones de refrigeración (Yanar et al., 2006).

El índice de ácido tiobarbitúrico (TBARS) es una medida de los productos de la oxidación secundaria de los compuestos carbonílicos que contribuyen a los aromas y sabores desagradables de los alimentos cuya grasa se ha oxidado (Jacobsen et al., 2010). Los valores de TBA reportados en esta investigación, aumentaron ligeramente sin mostrar cambios significativos ($p>0,05$) entre los 7 y 14 de almacenamiento. Sin embargo, después del día 21, se mostró un aumento sin llegar a alcanzar valores superiores a los límites por encima del cual el pescado puede ser rechazado por sabor y olor desagradable (Toldra & Reig, 2011). El valor máximo promedio para este estudio fue de 0,40 (mg MAD/Kg), lo que indica que no se presentó una oxidación de lípidos; esto se puede deber al efecto antioxidante del humo líquido (Marques et al., 2016); o al bajo contenido de grasa en la tilapia, lo que hace que no se presente este fenómeno (Tomac et al., 2015). Según Rozum (2014), los componentes fenólicos del humo líquido actúan como antioxidantes en los productos sobre los que se aplica. Estudios realizados por Swastawati, Surti, & Apriliani (2010), encontraron resultados similares para filetes de tilapia, utilizando humo líquido y ahumado en caliente.

Aunque no existe una reglamentación para establecer valores máximos para el índice de ácido tiobarbitúrico (TBARS), varios autores han sugerido que entre 1-2 mg MAD/Kg, en los cuales, los consumidores no detectaron una rancidez en el pescado (Connell, 1995; Ruiz-Capillas & Moral, 2001). Valores superiores a 3 MAD/Kg indica pérdida de la calidad del producto (Frangos, Pyrgotou, Giatrakou, Ntzimani, & Savvaidis, 2010**).** Los valores de TBARS, puede estar influenciados por diferentes factores, como por: la especie, el contenido de grasa, el saldo, la técnica de ahumado y las condiciones de conservación (Aubourg & Ugliano, 2002; Rizo et al., 2013; Yanar et al., 2006).

Tabla 9. Valores promedios y desviación estándar para los cambios de pH, NBVT (mg/100 g) y TBARS (mg MAD/Kg en muestras de filete con sabor a humo durante 35 días de almacenamiento a 4 °C. (n=3)

Tiempo de almacenamiento (días)	pH	NBVT (mg/100 g)	TBARS (mg MAD/Kg)
0	6,14±0,009[a]	12,30±0,73[a]	0,11±0,001[a]
7	6,23±0,008[b]	14,64±1,41[b]	0,13±0,002[b]
14	6,26±0,024[c]	16,08±1,35[c]	0,13±0,002[b]
21	6,31±0,010[d]	17,28±0,85[cd]	0,19±0,001[c]
28	6,38±0,005[e]	18,55±0,53[d]	0,26±0,005[e]
35	6,40±0,006[f]	21,56±0,66[e]	0,40±0,020[d]
A	***	***	***

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas. ns: no significativo, ** p <0.01, *** p <0.001.

4.3.2 Cambios de textura

Los cambios parámetros mecánicos obtenidos mediante el ensayo de análisis de perfil de textura (TPA) y la fuerza máxima de corte después de 0, 7, 14, 21, 28 y 35 días de almacenamiento se muestran en la Tabla 10. Para la fuerza máxima, no hubo diferencias significativas (p>0,05), en los primeros días de almacenamiento; tan solo, después del día 21 se presentó una disminución significativa (p<0,05), pasando en promedio de 33,38 N a 28,75 N. En los primeros 7 días de almacenamiento, no se observaron diferencias significativas en la dureza; los cambios se presentaron a partir del día 14. En cuanto a la adhesividad, los cambios fueron significativos a través del tiempo. La elasticidad fue constante, hasta el día 35, donde se presentó un cambio significativo (p<0,05). Al comparar las medias de la cohesividad, gomosidad y masticabilidad, durante todo el período de almacenamiento se reflejaron cambios significativos (p<0,05). En general, todos los valores de los parámetros de textura, disminuyeron con el tiempo de almacenamiento, excepto la adhesividad, que mostro un pequeño aumento para el día 35 de almacenamiento. Resultados similares fueron reportado para salmón ahumado con humo líquido (Martínez, Salmerón, Guillén, & Casas, 2010) y en lubina ahumada procesada con alta presión (Montiel, Alba, Bravo, Gaya, & Medina, 2012).

Durante el almacenamiento, el músculo de pescado puede sufrir cambios (Martínez, Salmerón, Guillén, & Casas, 2010). La desnaturalización y la agregación de las proteínas miofibrilares conducen modificaciones en las propiedades funcionales de las proteínas musculares y, en consecuencia, la pérdida de la capacidad de retención de agua y los cambios en la textura (Hultmann

& Rustad, 2002). Rørå & Einen (2003) mostraron que los cambios texturales en salmón atlántico durante el almacenamiento, como resultado de los cambios progresivos en la solubilidad y desnaturalización del colágeno. La dureza de los alimentos generalmente aumenta con el tiempo de ahumado y la temperatura (Ledesma & Rendueles, 2017). Martínez et al. (2007) estudiaron el efecto del humo líquido en la textura del salmón ahumado en frío; reportando mayor dureza en muestras tratadas, que en los filetes sin procesar. Estos autores, también informaron, que el tiempo de almacenamiento, presentaba una disminución en los parámetros de textura.

Tabla 10. Parámetros mecánicos de dureza (D), cohesividad (C), adhesividad (A), elasticidad (E), gomosidad (G), masticabilidad (M) y fuerza máxima de corte (Fmax) en tilapia con sabor a humo empacados al vacío. valores promedio ± desviación estándar.

	Tiempo de almacenamiento (días)					
	0	7	14	21	28	35
Fmax (N)	32,35±1,50^{a}	32,58±1,15^{a}	32,73±1,38^{a}	33,38±1,65^{a}	29,49±1,92^{b}	28,75±1,82^{b}
D (N)	53,49±0,97^{a}	53,08±0,66^{a}	51,69±0,94^{b}	51,38±0,85^{b}	49,83±1,77^{c}	40,35±1,13^{d}
A	-0,48±0,02^{a}	-0,45±0,02^{b}	-0,39±0,02^{b}	-0,35±0,02^{d}	-0,25±0,02^{e}	-0,16±0,01^{f}
E	0,64±0,02^{a}	0,64±0,01^{a}	0,64±0,01b^{a}	0,62±0,02^{a}	0,62±0,02^{a}	0,56±0,04^{b}
C	0,54±0,04^{a}	0,51±0,03^{cd}	0,52±0,01^{ab}	0,50±0,01^{d}	0,50±0,02^{d}	0,46±0,02^{e}
G (N/cm^2)	34,12±1,10^{a}	31,23±2,70^{b}	30,75±1,63^{b}	27,21±1,48^{c}	25,56±3,15^{c}	31,82±2,14^{b}
M (N/cm^2)	28,66±0,93^{a}	25,48±1,15^{b}	22,29±1,83^{c}	18,20±0,44^{d}	16,91±1,03^{e}	15,99±1,49^{e}

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas.

4.3.3 Cambios del color

El color es un parámetro importante en la determinación de la calidad de los alimentos y es uno de los criterios de compra en los consumidores de productos de pescado ahumado (Rørå, Monfort, & Espe, 2008). En el mercado, existe una amplia gama de colores que están entre los rosados claros, rosados intensos y naranjas; y varían, según la especie (salmón, trucha, lubina etc.), el tipo ahumado (frío, caliente, humo líquido etc.), el grosor de la pieza, la luz de almacenamiento y el tipo de empaque (Fuentes et al., 2010). Los valores obtenidos en la determinación de color (L*, a*, b*, Croma (ab*), Tono (h^{o}_{ab}) y los cambios de color (ΔE) en el filete de tilapia con sabor a humo, durante el almacenamiento, se presentan en la Tabla 10. Todos los parámetros aumentaron significativamente ($p<0,05$), a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento; excepto para el tono (h^{o}_{ab}), que exhibió un comportamiento contrario. Estudios realizados por Choubert, Dentella,

Atgie, & Baccaunaud (2005) en filetes de trucha ahumada, Rizo, Mañes, et al. (2015) en salmón con sabor a humo y Santos et al. (2017) en filetes de tilapia ahumada, empacados al vacío y en condiciones de refrigeración; reportaron un incremento en los valores de L* principalmente en los últimos días de almacenamiento. El aumento en parámetro L* podría atribuirse a la pérdida de agua producida durante el almacenamiento, lo que conduciría a mayores depósitos de agua en la superficie del filete de salmón (Fuentes, Fernández-Segovia, Serra, & Barat, 2012). El incremento en la variable b*, se puede deber a procesos oxidativos de los lípidos ocurridos durante el período de almacenamiento (Thanonkaew, Benjakul, Visessanguan, & Decker, 2006). Sin embargo, estos cambios no son tan pronunciados cuando la materia prima cuenta con bajos contenido de grasa (Tomac & Yeannes, 2015).

Tabla 11. Valores medios ± desviación estándar de las coordenadas de color (L *, a *, b * Croma (ab*), Tono (h^{o}_{ab}) y ΔE) de los filetes de tilapia con sabor a humo durante el almacenamiento en refrigeración.

Tiempo	L*	a*	b*	Croma (ab*)	Tono (h^{o}_{ab})	ΔE
0	45,42±1,22^{a}	1,70±0,29^{a}	3,05±0,03^{a}	3,49±0,15^{a}	61,05±1,22^{a}	-
7	50,00±1,33^{b}	2,21±0,09^{b}	3,16±0,05^{a}	3,86±0,07^{b}	55,07±1,08^{b}	4,64±1,59^{a}
14	51,58±1,32^{c}	2,88±0,26^{c}	3,82±0,21^{b}	4,79±0,22^{c}	52,97±2,9^{b}	6,35±1,49^{b}
21	51,89±1,17^{c}	2,89±0,18^{c}	4,00±0,20^{c}	4,94±0,21^{c}	54,10±2,05^{b}	6,66±1,36^{b}
28	52,23±0,89^{c}	3,49±0,27^{d}	4,19±0,16^{d}	5,45±0,21^{d}	50,25±2,51^{c}	7,17±1,48^{b}
35	53,83±0,80^{d}	3,99±0,06^{e}	4,69±0,14^{e}	6,16±0,11^{e}	49,54±0,92^{c}	8,90±1,38^{c}
A	***	***	***	***	***	***

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas. ns: no significativo, ** p <0.01, *** p <0.001

4.3.4 Análisis microbiológico

Los resultados obtenidos para el día 0, se realizaron a las 24 horas, después de la elaboración del producto. Se observa que, en ningún tiempo de almacenamiento, se observaron recuentos para *Listeria monocytogenes, Vibrio cholerae Escherichia coli* (ufc/g), y *Salmonella* spp. (Tabla 11). El recuento de coliformes totales (NMP/g), mostró un incremento significativo a partir del día 21. En cuanto *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) ufc/g y *Clostridium* sulfito reductor ufc/g el análisis reportó valores de <100 ufc/g y <10 (ufc/g) respectivamente durante todo el período de tiempo analizado. De acuerdo con los resultados obtenidos en las condiciones experimentales dadas, los filetes de tilapia con sabor a humo desarrollados cumplieron con los estándares establecidos por la

Norma Técnica Colombiana para productos de la pesca y de la acuicultura, pescado ahumado, con sabor a humo y secado con humo (Icontec, 2016b). Resultados similares en salmón ahumado en frío fueron reportados por (Erkan et al., 2011).

La *Listeria monocytogenes* y el *Clostridium botulinum* son las principales bacterias de monitoreo en pescado ahumado en frío; y las causantes de enfermedades trasmitidas por alimentos en este tipo de productos (Løvdal, 2015; Peck, 2006). Se desarrollan principalmente a causa de un inadecuado manejo en la temperatura durante el período de almacenamiento (Lingbeck et al., 2014). *L. monocytogenes* es capaz de sobrevivir a las técnicas de procesamiento, como el ahumado y la salazón y crecer en condiciones de empacado al vacío y temperaturas de refrigeración (Warriner, 2009). Su contaminación se da principalmente durante el procesamiento (Dos Fernandes, 2011). Varios estudios indican que el contenido de sal en fase líquida Z^{NaCl} de 3-5% no es suficiente para prevenir el crecimiento de *L. monocytogenes* en salmón ahumado en frío, empacado al vacío, en temperaturas de refrigeración del 5 °C; pero, cuando la concentración fue mayor a 6% Z^{NaCl}, se presentó una inhibición significativa para este tipo de microrganismo (Pittman et al., 2012). Sin embargo, altas concentraciones de sal pueden ser perjudicial para la salud humana (Fouladkhah, Berlin, & Bruntz, 2015). En este estudio, se evidenció que, con contenido de sal en fase líquida de 3,97% Z^{NaCl}; no se presentó crecimiento de *L. monocytogenes*, ni *C. botulinum* durante el período de almacenamiento; esto se puede explicar, por el efecto de la tecnología de barrera (proporcionado por la mezcla del humo líquido, la salazón, el envasado y la refrigeración) como herramienta para la inhibición del deterioro microbiológico. Adicionalmente, la aplicación de buenas prácticas de manufacturas durante el procesamiento y una adecuada calidad higiénica de la materia prima (filetes frescos); garantizó una protección efectiva en el producto desarrollado.

La determinación del tiempo máximo en el cual un producto es apto para el consumo, se obtiene mediante el estudio del conjunto de los cambios físico químicos, microbiológicos y sensoriales ocurridos durante el almacenamiento (Nithin et al., 2015).

Según Buguen, Escriche, & Chiralt (2003), quienes estudiaron el tiempo de almacenamiento del salmón ahumado en frío y envasado al vacío, encontraron que la vida útil del producto era limitada por el crecimiento microbiológico a 25 días; aunque, los parámetros empleados para medir el deterioro químico (oxidación lipídica y proteica) permanecieron por debajo de los límites de aceptabilidad hasta 30 días. En general, el pescado ahumado en frío condiciones de refrigeración y,

según el análisis sensorial, cuenta con una vida útil de 2-4 semanas (Dondero, Cisternas, Carvajal, & Simpson, 2004). Sin embargo, en ocasiones pueden estar alrededor de las 6-8 semanas (Erkan et al., 2011).

Tabla 12. Cambios microbiológicos para filetes de tilapia con sabor a humo, empacados al vacío y condiciones de refrigeración

Tiempo de almacenamiento	0	7	14	21	28	35	valor de referencia
Detección de *Listeria monocytogenes* en (25 g de muestra)	A	A	A	A	A	A	Ausencia/presencia
Detección de *Escherichia coli*	A	A	A	A	A	A	Ausencia/presencia
Vibrio choleraeen 25 g de muestra	A	A	A	A	A	A	Ausencia/presencia
Detección de Salmonella en 25 g de muestra	A	A	A	A	A	A	Ausencia/presencia
NMP Coliformes Fecales /g	<3	<3	3	3,6	5	290	100-1000
Staphylococcus aureus Coagulasa (+) ufc/g	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<10
Recuento esporas *Clostridium* sulfito reductor ufc/g	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<100

NMP= número más probable, ufc= unidades formadoras de colonia, A= Ausencia, (+) = positivo.

5 Conclusiones.

El salado en salmuera a una concentración del 10% y 4 horas permitió obtener un producto de tilapia con sabor a humo, con valores fisicoquímicos y microbiológicos similares a los estipulados por las normas vigentes (Codex Alimentarius, 2013 y NTC 6178, 2016). En general, se observó que la concentración de la salmuera, el tiempo de salazón y la utilización de humo líquido provocaron cambios en los paramentos fisicoquímicos de color y de textura en los filetes. La humedad final, la actividad de agua y el contenido de sal en los filetes obtenidos de tilapia con sabor a humo, dependieron de la concentración de la salmuera y el tiempo de salazón. El modo de aplicación del humo líquido no tuvo efecto sobre las variables evaluadas; sin embargo, al ser utilizado diluido en la salmuera, redujo la manipulación de la matriz y disminuyó las etapas durante el proceso. A nivel sensorial, las condiciones de procesamiento seleccionadas presentaron un 80% de aceptación general del producto por parte de los consumidores.

Los valores fisicoquímicos y el análisis microbiológico, en condiciones de refrigeración, demostró, que los productos elaborados son aptos para el consumo hasta por un mínimo 35 días.

6 Recomendaciones

Es necesario determinar la vida útil sensorial de este tipo de productos, con el fin de determinar el punto en el cual, el consumidor rechaza el alimento.

En el desarrollo de productos es importante evaluar todos los factores que incurren en este; por esta razón es de suma importancia realizar estudios de factibilidad económica del producto.

Es importante formular proyectos encaminados a la transferencia de los resultados obtenidos en el desarrollo de filetes con sabor a humo al sector piscícola.

Para futuros estudios se considera pertinente la búsqueda de estrategias para reducción de sal en este tipo de alimentos, sin afectar las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales.

7 Bibliografía

Aba, I. P., & Nwankwo Ifanny. (2013). Effects of smoke-drying temperatures and time on physical and nutritional quality parameters of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Fisheries and Aquaculture, 5 (3), 29–34.

Abolagba, O. J., & Melle, O. O. (2008). Chemical composition and keeping qualities of a scaly fish tilapia , oreochromis niloticus smoked with two energy sources. African Journal of General Agriculture, 4(2), 113–117.

Akoh, C., & Min, D. (2008). FOOD LIPIDS. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. (C. Akoh & D. Min, Eds.), America (Third edit).

Albarracín, W. (2009). Salado y descongelado simultáneo en salmuera para la obtención de jamón curado de cerdo de raza ibérica.

Albarracín, W., Sánchez, I. C., Grau, R., & Barat, J. M. (2011). Salt in food processing; usage and reduction: A review. International Journal of Food Science and Technology, 46(7), 1329–1336.

Alcicek, Z. (2014). Effects of different liquid smoke flavor levels on the shelf life of venus clam (*Chamelea Gallina*, L 1758) meat. Journal of Food Processing and Preservation, 38(3), 964–970.

Alimentarius, C. (2013). Standard for Smoked Fish, Smoke-Flavoured Fish and Smoke-Dried Fish - (311- 2013). Rome.

Andrés, A., Rodríguez-Barona, S., Barat, J. M., & Fito, P. (2002). Note: Mass Transfer Kinetics During Cod Salting Operation. Food Science and Technology International, 8(5), 309–314.

Arason, S., Nguyen, M., Thorarinsdottir, K., & Thorkelsson, G. (2014). Preservation of Fish by Curing. In I. S. Boziaris (Ed.), Seafood Processing: Technology, Quality and Safety (pp. 129–160). Jhon Wiley.

Araujo, H. C. de, & Gonçalves, A. A. Tecnologia de Obstáculos em Productos Pesqueiros (2011).

Ariestya, D. I., Swastawati, F., & Susanto, E. (2016). Antimicrobial Activity of Microencapsulation Liquid Smoke on Tilapia [*Oreochromis Niloticus* (*Linnaeus*, 1758)] Meat for Preservatives in Cold Storage (± 5 C°). Aquatic Procedia, 7, 19–27.

Arvanitoyannis, I. S., & Kotsanopoulos, K. (2012). Smoking of Fish and Seafood: History, Methods and Effects on Physical, Nutritional and Microbiological Properties. Food and Bioprocess Technology, 5(3), 831–853.

Association, A. M. S. (2012). AMSA Meat Color Measurement Guidelines: AMSA. American Meat

Science Association. Champaign, Illinois USA: American Meat Science Association.

Association of Official Analytical Chemists. (1990). Official Methods of Analysis: Changes in Official Methods of Analysis Made at the Annual Meeting. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C. (Vol. 15 th). Association of Official Analytical Chemists.

Aubourg, S. P., & Ugliano, M. (2002). Effect of brine pre-treatment on lipid stability of frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). European Food Research and Technology, 215(2), 91–95.

Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A., & Fito, P. (2002). Influence of increasing brine concentration in the cod-salting process. Journal of Food Science, 67(5), 1922–1925.

Barat, J. M., Rodríguez, S., Andrés, A., & Fito, P. (2003). Cod salting manufacturing analysis. Food Research International, 36(5), 447–453.

Barat, J. M., & Toldrá, F. (2011). Reducing salt in processed meat products. Processed Meats: Improving Safety, Nutrition and Quality. Woodhead Publishing Limited.

Bencze, A. M., Regost, C., & Lampe, J. (2003). Liquid holding capacity, texture and fatty acid profile of smoked fillets of Atlantic salmon fed diets containing fish oil or soybean oil. Food Research International, 36(3), 231–239.

Birkeland, S., & Skara, T. (2008). Cold Smoking of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Fillets with Smoke Condensate an Alternative Processing Technology for the Production of Smoked Salmon. Sensory and Food Quality Cold, 73(6), 326–332.

Birkeland, Sveinung, Bencze, A. Ma., Skara, T., & Bjerkeng, B. (2004). Effects of cold smoking procedures and raw material characteristics on product yield and quality parameters of cold smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets q. Food Research International, 37, 273–286.

Bjørnevik, M., Cardinal, M., Vallet, J. L., Nicolaisen, O., & Örn, G. (2018). Effect of salting and cold-smoking procedures on Atlantic salmon originating from pre-or post rigor filleted raw material. Based on the measurement of physiochemical characteristics. LWT - Food Science and Technology, 91(6), 431–438.

Blaha, F., Nassereddine, S., Bacelar, Z. C., & Gonçalves, A. A. (2011). Legislação do pescado. In Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação.

Britz, P. (2008). Tilapia: Biology, Culture and Nutrition. African Journal of Aquatic Science, 33(1), 103–103.

Bugueño, G., Escriche, I., Martínez-Navarrete, N., Camacho, M. del M., & Chiralt, A. (2003). Influence of storage conditions on some physical and chemical properties of smoked salmon (*Salmo salar*) processed by vacuum impregnation techniques. Food Chemistry, 81, 85–90.

Cardinal, M., Gunnlaugsdottir, H., Bjoernevik, M., Ouisse, A., & Luc, J. (2004). Sensory characteristics of cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) from European market and relationships with chemical , physical and microbiological measurements. Food Research International, 37, 181–193.

Cardinal, M., Knockaert, C., Torrissen, O., Sigurgisladottir, S., Morkore, T., Thomassen, M., &

Vallet, luc J. (2001). Relation of smoking parameters to the yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). Food Research International, 34(6), 537–550.

Casas, C., O, M., Guillén, M. ., C, P., & Salmerón, J. (2006). Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet , determined by different methods. Food Control, 17, 511–515.

Chaijan, M. (2011). Physicochemical changes of tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle during salting. Food Chemistry, 129(3), 1201–1210.

Chatzikyriakidou, K., & Katsanidis, E. (2012). Effect of Liquid Smoke Dipping and Packaging Method on the Keeping Quality of Raw and Cooked Chub Mackerel (*Scomber japonicus*) Fillets. Journal of Aquatic Food Product Technology, 21(5), 445–454.

Chen, L., & Opara, U. (2013). Texture measurement approaches in fresh and processed foods A review. Food Research International, 51(2), 823–835.

Cheng, J. H., Sun, D. W., Han, Z., & Zeng, X. A. (2014). Texture and structure measurements and analyses for evaluation of fish and fillet freshness quality: A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13(1), 52–61.

Choubert, G., Dentella, E., Atgie, C., & Baccaunaud, M. (2005). Effect of light on colour stability of sliced smoked rainbow trout Oncorhynchus mykiss fed astaxanthin. Food Research International, 38, 949–952.

Comision Europea. REGLAMENTO (CE) No 1022/2008 DE LA COMISIÓN de las comunidades Europeas (2008).

Connell, J. J. (1995). Control of Fish Quality (4th Editio). Wiley.

Coppes, Z., Pavlisko, A., & De Vecchi, S. (2002). Texture Measurements in Fish and Fish Products. Journal of Aquatic Food Product Technology, 11(1), 89–105.

De Souza, M. L. R., Baccarin, A. E., Macedo Viegas, E. M., & Kronka, S. D. N. (2004). Defumação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) inteira eviscerada e filé: Aspectos referentes às características organolépticas, composição centesimal e perdas ocorridas no processamento. Revista Brasileira de Zootecnia, 33(1), 27–36.

Defaveri, M., Nicoletti, G., & Brigido, R. V. (2016). Desenvolvimento de presunto defumado de tilápia com teor reduzido de sódio. Tecnologias Para Competitividade Industrial, Florianópolis, 9, 150–162.

Dondero, M., Cisternas, F., Carvajal, L., & Simpson, R. (2004). Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. Food Chemistry, 87, 543–550.

Dos Fernandes, R. H. (2011). Microbiologia do pescado. In Tecnologia do pescado: Ciência, tecnologia, inovação e legislação (pp. 33–42). Rio de Janeiro.

Dos Santos, L., Zara, R. F., Visentainer, J. V., Matsushita, M., De Souza, N. E., & Rodriguez, M. L. (2007). Sensory evaluation and yield of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) smoked fillets in

rosemary (Rosmarinus officinalis) presence. Ciênc. Agrotec., Lavras, 31, 406–412.

Erickson, M. C. (2008). Lipid Oxidation of Muscle Foods. In C. Akoh & D. Min (Eds.), FOOD LIPIDS Chemistry, Nutrition, and Biotechnology (Third edit, pp. 322–347).

Erkan, N., Üretener, G., Alpas, H., Selçuk, A., Özden, Ö., & Buzrul, S. (2011). The effect of different high pressure conditions on the quality and shelf life of cold smoked fish. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12(2), 104–110.

Espe, M., Kiessling, A., Lunestad, B. T., Torrissen, O. J., & Rørå, A. M. B. (2004). Quality of cold smoked salmon collected in one French hypermarket during a period of 1 year. LWT - Food Science and Technology, 37(6), 627–638.

FAO. (2018). The state of world fisheries and aquaculture. FAO. https://doi.org/issn 10

Fedeacua. (2015). Plan de negocio sectorial de la piscicultura colombiana.

Fellows, P. (2017). Smoking. In Food Processing Technology (Fourth Edi, pp. 717–732).

Figueroa, N. Z., Téllez, S. J., Ramírez, J. A. M., Álvarez, A. O., Vázquez, M. V., & Velazquez, G. (2010). Desarrollo de un proceso de ahumado de filete de croca (*Micropogonias undulatus*). Tecnólog@, 3(3), 64–73.

Fouladkhah, A., Berlin, D., & Bruntz, D. (2015). High-Sodium Processed Foods: Public Health Burden and Sodium Reduction Strategies for Industry Practitioners, 31(4), 341–354.

Frangos, L., Pyrgotou, N., Giatrakou, V., Ntzimani, A., & Savvaidis, I. N. (2010). Combined effects of salting , oregano oil and vacuum-packaging on the shelf-life of refrigerated trout fillets. Food Microbiology, 27(1), 115–121. 2

Fuentes, A, Barat, J. M., Fernández-Segovia, I., & Serra, J. A. (2008). Study of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) salting process: Kinetic and thermodynamic control. Food Control, 19(8), 757–763. 4

Fuentes, A, Fernández-Segovia, I., Serra, J., & Barat, J. (2012). Effect of partial sodium replacement on physicochemical parameters of smoked sea bass during storage. Food Science and Technology International. https://doi.org/10.1177/1082013211415156

Fuentes, A, Fernandez, I., Barat, J. M., & Serra, J. A. (2010). Physicochemical characterization of some smoked and marinated fish products. Journal of Food Processing and Preservation, 34, 83–103. https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2008.00350.x

Fuentes, Ana. (2007). Desarrollo de productos ahumados a partir de lubina (*Dicentrarchus labrax* L.). tesis Doctoral. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA.

Gallart-Jornet, L., Barat, J. M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., & Fito, P. (2007a). A comparative study of brine salting of Atlantic cod (Gadus morhua) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). Journal of Food Engineering, 79(1), 261–270.

Gallart-Jornet, L., Barat, J. M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., & Fito, P. (2007b). Influence of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting. Journal of Food Engineering, 80(1), 267–

275.

Gonçalves, A. A. (2011). Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação. (Atheneu, Ed.). Sao Paulo, Rio de Janeiro, belo horizonte.

Gonçalves, A. A., & De oliveira, A. (2011). Defumado do pescado. In Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação (pp. 166–181).

Gormley, T. R. (1992). A Note on Consumer Preference of Smoked Salmon Colour. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 31(2), 199–202.

Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2005). Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): Biochemical. Food Chemistry, 93(3), 511–520.

Goulas, A. E., & Kontominas, M. G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry, 100(1), 287–296.

Gram, L., & Henrik, H. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. Food Microbiology, 33(121–137).

Guillén, M. D., Errecalde, M. C., Salmerón, J., & Casas, C. (2006). Headspace volatile components of smoked swordfish (*Xiphias gladius*) and cod (*Gadus morhua*) detected by means of solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. Food Chemistry, 94(1),

Hong, L. I. N., Jie, J., & Donghua, L. I. (2008). Potential Hazards in Smoke-Flavored Fish, 7(3), 294–298.

Huang, X., Qi, L., Fu, B., Chen, Z., Zhang, Y., & Du, M. (2019). Flavor formation in di ff erent production steps during the processing of cold- smoked Spanish mackerel. Food Chemistry, 286, 241–249.

Hultmann, L., & Rustad, T. (2002). Textural Changes During Iced Storage of Salmon (*Salmo salar*) and Cod (Gadus morhua). Journal of Aquatic Food Product Technology ISSN:, 11, 105–123.

Hultmanna, L., Røra, A. M. ., Steinsland, I., Skara, T., & Rustada, T. (2004). Proteolytic activity and properties of proteins in smoked salmon (*Salmo salar*): effects of smoking temperature. Food Chemistry, 85(3), 377–387.

Icontec. (2016a). Norma Técnica Colombiana 1443. Productos de la pesca y de la acuicultura. pescado entero, medallones, filetes y trozos (refrigerados o congelados) (Icontec). Bogota, Colombia.

Icontec. (2016b). Norma técnica colombiana 6178. Productos de la pesca y de la acuicultura. pescado ahumado, con sabor a humo y secado con humo. (Icontec). Bogotá.

Icontec. (2018). Norma Técnica Colombiana 4458. Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de coliformes o Escherichia coli o ambos. Técnica de recuento de colonias utilizando medios fluorecentes. Bogota, Colombia: Icontec.

INVIMA. (1998). Manual de tecnicas de analisis para control de calidad microbiologico de

alimentos. (M. Holguín, I. Higuera, B. Rubio, M. Vargas, A. Muños, & G. Diaz, Eds.). Bogotá, Colombia.

Jacobsen, C., Nielsen, H. H., Jørgensen, B., & Nielsen, J. (2010). Chemical processes responsible for quality deterioration in fish. In Chemical deterioration and physical instability of food and beverages (pp. 439–465). Woodhead Publishing Limited.

Jain, D., Pathare, P. B., & Manikantan, M. R. (2007). Evaluation of texture parameters of Rohu fish (*Labeo rohita*) during iced storage Dilip. Journal of Food Engineering, 81, 336–340.

Jittinandana, S., Kenney, P., Slider, S., & Kiser, R. (2002). Effect of brine concentration and brining time on quality of smoked rainbow trout fillets. Journal of Food Science, 67(6), 2095–2099.

Karásková, P., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Alcañiz, M., Masot, R., & Barat, J. M. (2011). Development of a low-cost non-destructive system for measuring moisture and salt content in smoked fish products. Procedia Food Science, 1, 1195–1201.

Kim, I., Yang, H., Noh, B., Chung, S., & Min, S. C. (2012). Development of a defatted mustard meal-based composite film and its application to smoked salmon to retard lipid oxidation. Food Chemistry, 133(4), 1501–1509.

Ledesma, E., & Rendueles, M. (2017). Smoked Food. In Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Foor and Beverages industry (pp. 201–243). Oviedo, Spain: Elsevier B.V.

Ledesma, E., Rendueles, M., & Díaz, M. (2016). Current developments in biotechnology and bioengineering food and beverages industry.

Leroi, F., & Joffraud, J. J. (2000). Salt and Smoke Simultaneously Affect Chemical and Sensory Quality of Cold-Smoked Salmon during 5° C Storage Predicted Using Factorial Design. Journal of Food Protection, 63(9), 1222–1227.

Lingbeck, J. M., Cordero, P., O'Bryan, C. A., Johnson, M. G., Ricke, S. C., & Crandall, P. G. (2014). Functionality of liquid smoke as an all-natural antimicrobial in food preservation. Meat Science, 97(2), 197–206.

Løvdal, T. (2015). The microbiology of cold smoked salmon. Food Control, 54, 360–373.

Marques, J., Franklin, P., Saorin, B. M., Pegoraro, A., Cansian, R. L., Dallago, R. M., & Valduga, E. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of liquid smoke and its potential application to bacon. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 38, 189–197.

Martinez, O, Salmerón, J., Guillén, M. D., & Casas, C. (2007). Textural and physicochemical changes in salmon (*Salmo salar*) treated with commercial liquid smoke flavourings. Food Chemistry, 100(2), 498–503. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.071

Martinez, Olaia, Salmeron, J., Guillen, M., & Casas, C. (2011). Characteristics of dry- and brine-salted salmon later treated with liquid smoke flavouring. Agricultural and Food Science, 20(3), 217–227. https://doi.org/10.2137/145960611797471543

Martinez, Olaia, Salmerón, J., Guillén, M. D., & Casas, C. (2010). Effect of freezing on the physicochemical, textural and sensorial characteristics of salmon (*Salmo salar*) smoked with a

liquid smoke flavouring. LWT - Food Science and Technology, 43(6), 910–918. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.026

Martinez, Olaia, Salmerón, J., Guillén, M. D., Pin, C., & Casas, C. (2012). Physicochemical, sensorial and textural characteristics of liquid-smoked salmon (*Salmo salar*) as affected by salting treatment and sugar addition. International Journal of Food Science and Technology, 47(5), 1086–1096. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02945.x

Merino, M. C., Bonilla, S. P., & Bages, F. (2013). Diagnóstico del estado de la acuicultura en Colombia. Plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia AUNAP-FAO. plan Nacional de Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia. Bogota, Colombia: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.

Merino, M. C., Bonilla, S. P., & Bages, F. (2014). Plan Nacional para el Desarrollo de la Acuicultura Sostenible en Colombia - PlaNDAS. Informe Técnico y de Gestión 2011. Retrieved from

Montazeri, N., Oliveira, A. C., Himelbloom, B. H., Leigh, M. B., & Crapo, C. a. (2013). Chemical characterization of commercial liquid smoke products. Food Science & Nutrition, 1(1), 102–115.

Montiel, R., Alba, M. De, Bravo, D., Gaya, P., & Medina, M. (2012). Effect of high pressure treatments on smoked cod quality during refrigerated storage. Food Control, 23(2), 429–436. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.011

Montiel, R., Cabeza, M., Bravo, D., Gaya, P., Cambero, I., Ordeñez, J. A., Medina, M. (2013). A Comparison Between E-Beam Irradiation and High-Pressure Treatment for Cold-Smoked Salmon Sanitation: Shelf-Life, Colour, Texture and Sensory Characteristics. Food and Bioprocess Technology, 6(11), 3177–3185. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0954-y

Muratore, G., Mazzaglia, A., & Lanza, C. M. (2007). Swordfish Fillets Flavored With Smoke Condensate. Journal of Food Processing and Preservation, 31(2007), 167–177.

Nguyen, M. Van, Arason, S., Thorarinsdottir, K. A., Thorkelsson, G., & Gudmundsdóttir, A. (2010). Influence of salt concentration on the salting kinetics of cod loin (*Gadus morhua*) during brine salting. Journal of Food Engineering, 100(2), 225–231.

Nguyen, M. Van, Thorarinsdottir, K., Gudmundsdottir, A., Thorkelsson, G., & Arason, S. (2011). The effects of salt concentration on conformational changes in cod (*Gadus morhua*) proteins during brine salting. Food Chemistry, 125(3), 1013–1019.

Nithin, C. T., Ananthanarayanan, T. R., Yathavamoorthi, R., Bindu, J., Joshy, C. G., & Srinivasa Gopal, T. K. (2015). Physico-chemical Changes in Liquid Smoke Flavoured Yellowfin Tuna (Thunnus albacares) Sausage During Chilled Storage. Agricultural Research, 4(4), 420–427.

Oehlenschläger, J. (2014). Seafood Quality Assessment. In y I. S. Boziaris (Ed.), Seafood Processing: Technology, Quality and Safety (First Edit, pp. 359–386).

Olafsdottir, G., Nesvadba, P., Natale, C. Di, Careche, M., Jorg Oehlenschlager, Tryggvadottir, S., Jørgensen, B. M. (2004). Multisensor for fish quality determination. Trends in Food Science & Technology, 15, 86–93.

Ortiz, J., Lemus, R., Vega, A., Ah-hen, K., & Puente, L. (2013). Influence of air-drying temperature on drying kinetics , colour , firmness and biochemical characteristics of Atlantic salmon (*Salmo salar* L .) fillets. Food Chemistry, 139(1–4), 162–169.

Ozogul, Y., & Balikci, E. (2013). Effect of Various Processing Methods on Quality of Mackerel (*Scomber scombrus*). Food and Bioprocess Technology, 6(4), 1091–1098. https://doi.org/10.1007/s11947-011-0641-4

Pardo-carrasco, S., Muñoz -Ramirez, A., Atencio-García, V. J., & Bonilla, S. P. (2018). Aquaculture in Colombia. World Aquaculture, 22–26.

Peck, M. W. (2006). Clostridium botulinum and the safety of minimally heated , chilled foods : an emerging issue ? Journal of Applied Microbiology, 101, 556–570.

Pittia, P., & Antonello, P. (2015). afety by control of water activity: drying, smoking, and salt or sugar addition. In Regulating Safety of Traditional and Ethnic Foods (pp. 7–28). Teramo,Italy: Elsevier Inc

Pittman, J. R., Schmidt, T. B., Corzo, A., Callaway, T. R., Carroll, J. A., & Donaldson, J. R. (2012). Effect of Stressors on the Viability of Listeria During an in vitro Cold-Smoking Process. Agriculture, Food and Analytical Bacteriology, 2(3), 195–208.

Ribeiro costa, A. P., Ricardo de Andrade, D., Vazquez Vidal Junior, M., Martinis Cordeiro, C. A., Souza, G., Erthal Junior, M., & Melo de Souza, C. (2008). Defumação de filés de piau-vermelho (*Leporinus copelandii*) com o uso de fumaça líquida. Revista Ceres, 55(4), 251–257.

Rizo, A., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., & Barat, J. . (2010). Desarrollo de un nuevo proceso para la obtención de salmón ahumado.

Rizo, Arantxa., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., & Barat, J. M. (2013). Development of a new salmon salting-smoking method and process monitoring by impedance spectroscopy. LWT - Food Science and Technology, 51(1), 218–224.

Rizo, Arantxa, Fuente, A., Barat, J. M., & Fernández Segovia, I. (2018). Development of a novel smoke-flavoured salmon product by sodium replacement using water vapour permeable bags. Journal of the Science of Food and Agriculture, 98(7), 2721-2728.

Rizo, Arantxa, Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., & Barat, J. (2016a). Smoke-flavoured cod obtained by a new method using water vapour permeable bags. Journal of Food Engineering, 179, 19–27. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.01.028

Rizo, Arantxa, Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., & Barat, J. M. (2016b). Feasibility of processing temperatures on the quality and shelf-life of smoke- flavoured cod. LWT - Food Science and Technology, 69, 546–553. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.021

Rizo, Arantxa, Fuentes, A., Fernández Segovia, I., & Barat, J. (2017). Development of a novel smoke-flavoured trout product: An approach to sodium reduction and shelf life assessment. Journal of Food Engineering, 211, 22–29. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.04.031

Rizo, Arantxa, Mañes, V., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., & Barat, J. M. (2015). Physicochemical and microbial changes during storage of smoke-flavoured salmon obtained

by a new method. Food Control, 56, 195–201. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.03.030

Rizo, Arantxa, Máñes, V., Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., & Barat, J. M. (2015). A novel process for obtaining smoke-flavoured salmon using water vapour permeable bags. Journal of Food Engineering, 149, 44–50. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.10.009

Rodrigues, M. L., Do Amaral, L. A., Macedo, E., Do Nascimento, S., Gasparino, E., Graton, J. M., & Del Vesco, A. (2013). Qualidade microbiológica e vida útil de filés defumados de tilápia-do-nilo sob refrigeração ou congelamento. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 48(8), 1071–1079. https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800037

Rørå, A. M. B., & Einen, O. (2003). Effects of Freezing on Quality of Cold- smoked Salmon Based on the Measurements of Physiochemical Characteristics. Journal of Food Science, 68(6).

Rørå, A. M. B., Monfort, M. C., & Espe, M. (2008). Effects of Country of Origin on Consumer Preference of Smoked Salmon Collected in a French Hypermarket Effects of Country of Origin on Consumer Preference of Smoked Salmon Collected in a French Hypermarket. Journal of Aquatic Food Product Technology, 13(1049–8850). https://doi.org/10.1300/J030v13n01

Røra, A. M., Fjæra, S., & Skjervold, P. (2004). Salt diffusion in pre-rigor filleted Atlantic salmon. Aquaculture, 232, 255–263. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00460-5

Roth, B., Birkeland, S., & Oyarzun, F. (2009). Stunning, pre slaughter and filleting conditions of Atlantic salmon and subsequent effect on flesh quality on fresh and smoked fillets. Aquaculture, 289(3–4), 350–356. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.013

Rozum, J. (2014). Liquid smoke (smoke condensate) application. In Encyclopedia of Meat Science (Vol. 3, pp. 315–320). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00146-X

Ruiz-Capillas, C., & Moral, A. (2001). Residual effect of CO2 on hake (Merluccius merluccius L.) stored in modified and controlled atmospheres. Eur Food Res Technol, 212, 413–420.

Santos, F. M. da S., Silva, A. I. M. da, Vieira, C. B., Silva, M. H. de A. A. L. C. da, Carneiro-da-Cunha, M. das G., Souza, B. W. S. de, & Bezerra, R. de S. (2017). Use of chitosan coating in increasing the shelf life of liquid smoked Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillet. Association of Food Scientists & Technologists. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2570-3

Sernapesca. (2018). Manual de inocuidad y certificación: Control de Exportación y Certificación Control de Exportación y Certificación. Chile.

Sérot, T., Baron, R., Knockaert, C., & Vallet, J. L. (2004). Effect of smoking processes on the contents of 10 major phenolic compounds in smoked fillets of herring (*Cuplea harengus*). Food Chemistry, 85, 111–120. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.06.011

Shahidi, F. (2014). CURING. In Encyclopedia of Meat Sciences (pp. 417–424). https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00110-0

Sigurgisladottir, S., Sigurdardottir, M. S., Torrissen, O., Vallet, J., & Hafsteinsson, H. (2000). Efects of diferent salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets, 33, 847–855.

Sikorski, Zdzislaw, & Kolodziejska, L. (2002). Microbial Risks in Mild Hot Smoking of Fish Microbial. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 42(1), 37–41. https://doi.org/10.1080/10408690290825448

Sikorski, ZE, & Sinkiewicz, I. (2014). Smoking: Traditional. In Encyclopedia of Meat Sciences (Vol. 3, pp. 321–327). Gdánsk: Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00227-0

Stołyhwo, A., & Sikorski, Z. E. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish – a critical review. Food Chemistry, 91, 303–311. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.012

Swastawati, F., Surti, T., & Apriliani, D. (2010a). Analysis of thiobarbituric acid and benzo(α) pyrene value of smoked nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using differentliquid smokes, 13(3), 160–165.

Swastawati, F., Susanto, E., Cahyono, B., & Trilaksono, W. A. (2012). Sensory Evaluation and Chemical Characteristics of Smoked Stingray (*Dasyatis Blekeery*) Processed by Using Two Different Liquid Smoke. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatic, 2(3), 212–216.

Tavares, M., & Gonçalves, A. A. (2011). Aspectos físico-químicos do pescado. In Tecnologia do pescado: ciência, tecnologia, inovação e legislação (pp. 21–33).

THANONKAEW, A., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., & DECKER, E. A. (2006). Development of Yellow Pigmentation in Squid (Loligo peali) as a Result of Lipid Oxidation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 956–962.

Toldra, F., & Reig, M. (2011). The stability and shelf life of seafood. In Food and beverage stability and shelf life (pp. 779–792). https://doi.org/10.1533/9780857092540.3.779

Tomac, A., Cova, M. C., Narvaiz, P., & Yeannes, M. I. (2015). Texture, color, lipid oxidation and sensory acceptability of gamma-irradiated marinated anchovy fillets. Radiation Physics and Chemistry, 106, 337–342. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2014.08.010

Tomac, A., & Yeannes, M. I. (2015). Quality Changes in Gamma Irradiated Marinades of Anchovy (*Engraulis anchoit*) During Refrigerated Storage Quality Changes in Gamma Irradiated Marinades of Anchovy (*Engraulis anchoita*) During Refrigerated Storage. Journal of Aquatic Food Product Technology, 24(7), 686–697. https://doi.org/10.1080/10498850.2013.806623

Torres, E. F., Rodrigo, D., & Martínez, A. (2016). Preservation of Foods. In Encyclopedia of Food and Health (pp. 491–496). https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00566-3

Ünlüsayin, M., Erdilal, R., Gümüş, B., & Gülyavuz, H. (2010). The Effects of different salting methods on extract loss from rainbow trout. Pakistan Veterinary Journal, 30(3), 131–134.

Varlet, V., Prost, C., & Serot, T. (2007). Volatile aldehydes in smoked fish : Analysis methods , occurence and mechanisms of formation. Food Chemistry, 105, 1536–1556. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.041

Varlet, V., Serot, T., Knockaert, C., Cornet, J., Cardinal, M., Monteau, F., … Prost, C. (2007). Organoleptic characterization and PAH content of salmon (*Salmo salar*) fillets smoked according to four industrial smoking techniques. Journal of the Science of Food and

Agriculture, 87(2), 847–854. https://doi.org/10.1002/jsfa.2786

Varlet, V., Serot, T., & Prost, C. (2010). Smoke flavoring technology in seafood. In Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis (pp. 233–254). San Diego, California: Taylor and Francis Group.

Warriner, K. (2009). What is the hysteria with Listeria ? Trends in Food Science & Technology, 20(6–7), 245–254. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.03.008

Watanabe, W. O., Losordo, T. M., Fitzsimmons, K., & Hanley, F. (2002). Tilapia Production Systems in the Americas : Technological Advances , Trends , and Challenges. Reviews in Fisheries Science, 10, 465–498. https://doi.org/10.1080/20026491051758

Watts, B., Ylimaki, G., Jeffry, L. E., & Elias, L. . (1992). Métodos sensoriales básicos para la evalucion de alimentos.

Yanar, Y., Çelik, M., & Akamca, E. (2006). Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (Oreochromis niloticus) stored at 4°C. Food Chemistry, 97(2), 244–247. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.043

8 Anexos

A Anexo: Ficha técnica de humo líquido Arosmoke P-50

Red Arrow
Smoke • Grill • Browning • Cooking Flavors

TECHNICAL DATA SHEET

AROSMOKE P-50

DESCRIPTION	A water soluble smoke flavor.	
MICROBIAL PROPERTIES	None	
TYPICAL DATA	pH	3.5-5.5
	Total Acidity (Acetic acid)	2.0-4.0%
	Specific Gravity (25°C)	1.061-1.096 g/ml
	Flavor	Meets Specifications
PHYSICAL DATA	Clear brown viscous liquid with hickory smoke aroma.	
	Density	8.9-9.1 lbs/gal
SUGGESTED USES	To impart a hickory smoke flavor with no browning effect. Use in cured meats by dissolving in brine prior to injection at 0.1% of finished weight of product. Can be used as a direct addition in meats, snack foods and dehydrated soups. Rate may be adjusted according to the product application.	
APPROVALS	FDA. Certified Kosher Pareve. Certified Halal. This product is in compliance with Regulation (EC) No 2065/2003, (EU) No 1321/2013 and (EC) No 1334/2008 of the European Parliament.	
STORAGE	Recommended shelf life is two years when stored in tightly closed containers (7-24°C).	
PACKAGING (Item Code)	Available in 20 (P50-005-RAI), 122 (P50-030-RAI) and 224 (P50-055-RAI) kg net units.	
INGREDIENTS	Polysorbate 80, smoke flavor.	
ALLERGENS	None	

Revised: 09/15/15
Supersedes: 03/10/15

DISCLAIMER: The information contained herein is for informational purposes only and should not be relied upon as a basis of product performance. NO WARRANTIES OF MERCHANTIBILITY OR FITNESS FOR A SPECIFIC USE OR PARTICULARLY PURPOSE, EXPRESSED OR IMPLIED, ARE MADE. No guarantees whatsoever are made and no instructions or suggestions may be relied upon by purchaser. It is purchaser's responsibility to conduct their own tests and investigations of the foregoing to evaluate appropriate use, effectiveness and processes for their particular or intended purpose. Nothing herein shall be construed as permission to violate any patent or as a warranty of non-infringement of any patent.

Red Arrow International LLC • 633 South 20th Street, Manitowoc, WI 54220 USA
mailing address: P.O. Box 755, Manitowoc, WI 54221-0755 USA • *tel:* 1.920.769.1100 • *fax:* 1.920.769.1282
International@redarrowusa.com • www.redarrowinternational.com

B Anexo: Análisis microbiológico

AllChem
COMPAÑÍA LTDA.
NIT. 830.115.051-1
TRANSVERSAL 39 No. 20A - 72 TELÉFONO: 7450682 • BOGOTÁ, D.C.• www.allchem.com.co
LABORATORIO DE ANÁLISIS, ENSAYOS Y ASESORÍAS

INF - 1807082-1

Bogotá D.C. **2019-02-05**

INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS EN ALIMENTOS

Usuario / Empresa	UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - 899999063		
Direccion	CARRERA 45 No. 26 - 85	Teléfono	3165000 ext 20081-15311
Muestras suministradas por:	Sonia Andrea Ruiz		

DATOS DE LA MUESTRA

Tipo de muestra	Pescado Ahumado FF: 26/09/18		
Fecha de muestreo	2018-09-28	Lugar de Muestreo	N.R
Fecha de recepción	2018-09-28	Hora de Muestreo	15:00
Fecha de análisis	2018-09-28	Lote de muestra	1
Codigo de Muestra	***HI2801***	Temperatura	-14°C

ANALISIS DE MUESTRA

Análisis	Técnica	Método	Unidades	Resultado	Límites
Coliformes Totales	NMP	AOAC 966,24	NMP	< 3	N.E
E.coli.	Simplate	AOAC 2005,03	UFC / g	<10	400
***S. aureus* Coagulasa Positiva**	AES*	AOAC 975.55	UFC / g	< 100	100-1000
***Clostridium* Sulfito Red.**	R. en Placa	NTC 4834	UFC / g	<10	N.E
Listeria SP.	Detección	NTC 4666	P / A **	Ausencia	Ausente
Vibrio cholerae **	Detección	AOAC 988,20	P / A **	Ausencia	Ausencia
Salmonella SP.	Detección	AOAC 995,20	P / A **	Ausencia	Ausencia

Concepto / Observaciones:

Los parametros analizados en la muestra **CUMPLEN** con los límites sugeridos por el INVIMA para **Pescado.**

**Parametro Subcontratado
*Aislamiento y enumeración en superficie.

Los resultados de los análisis expresados en el presente informe unicamente están relacionados con los ítems analizados.
Pasados 30 días de la fecha de emisión de este informe, no se aceptan quejas y/o reclamos.
Las contra-muestras para análisis se conservaran 15 días despues de la emisión del presente informe.
El presente informe anula y reemplaza el informe 1807082-0.

FIN DEL INFORME

AllChem COMPAÑÍA LTDA.
NIT. 830.115.051-1
TRANSVERSAL 39 No. 20A - 72 TELÉFONO: 7450682 • BOGOTÁ, D.C.• www.allchem.com.co
LABORATORIO DE ANÁLISIS, ENSAYOS Y ASESORÍAS

INF - 1808756-1

Bogotá D.C. **2019-02-05**

INFORME DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS EN ALIMENTOS

Usuario / Empresa	**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - 899999063**		
Direccion	CARRERA 45 No. 26 - 85	Teléfono	3165000 ext 20081-15311
Muestras suministradas por:	Sonia Andrea Ruiz		

DATOS DE LA MUESTRA

Tipo de muestra	Pescado Ahumado FF: 31/10/18		
Fecha de muestreo	2018-12-06	Lugar de Muestreo	N.R
Fecha de recepción	2018-12-06	Hora de Muestreo	15:00
Fecha de análisis	2018-12-06	Lote de muestra	1
Codigo de Muestra	***HL0603***	Temperatura	-14°C

ANALISIS DE MUESTRA

Análisis	Técnica	Método	Unidades	Resultado	Limites
Coliformes Totales	NMP	AOAC 966,24	NMP	<3	N.E
E.coli.	Simplate	AOAC 2005,03	UFC / g	<10	400
***S. aureus* Coagulasa Positiva**	AES*	AOAC 975.55	UFC / g	< 100	100-1000
***Clostridium* Sulfito Red.**	R. en Placa	NTC 4834	UFC / g	<10	N.E
Listeria SP.	Detección	NTC 4666	P / A **	Ausencia	Ausente
Vibrio cholerae **	Detección	AOAC 988,20	P / A **	Ausencia	Ausencia
Salmonella SP.	Detección	AOAC 995,20	P / A **	Ausencia	Ausencia

Concepto / Observaciones:

Los parametros analizados en la muestra **CUMPLEN** con los límites sugeridos por el INVIMA para **Pescado.**

**Parametro Subcontratado
*Aislamiento y enumeración en superficie.

Los resultados de los análisis expresados en el presente informe unicamente estan relacionados con los items analizados.
Pasados 30 días de la fecha de emisión de este informe, no se aceptan quejas y/o reclamos.
Las contra-muestras para análisis se conservaran 15 días después de la emisión del presente informe.
El presente informe anula y reemplaza el informe 1808756-0.

FIN DEL INFORME

C Anexo: congresos y ponencias

VIERNES / *FRIDAY*

TECNOLOGÍAS DE PROCESAMIENTO / *PROCESSING TECHNOLOGIES*

Viernes / *Friday,* October 26 11:20 - 13:00 Salón C

Chair: Robinson Rafael Rosado Cárcamo

11:20 **Thiago Cahu**, Janilson Silva, Lidiane Portela, Sumara Gomes, Flavia Monte, Helane Costa, Augusto Freitas Jr., Carolina Cordula, Helena Nader, Ranilson Bezerra
A PROCESS TO OBTAIN COLLAGEN, CHONDROITIN SULFATE AND CHITIN FROM FISH SKIN

11:40 **Andreia Ferreira**, Juliett Silva, Renata Nascimento, Thiago Cahu, Ranilson Bezerra, Luiz Carvalho Junior
MICROPARTÍCULAS DE PROTEÍNA OBTIDAS DO HIDROLISADO E CONCENTRADO PROTEICO DE TILÁPIA *Oreochromis niloticus* MICROENCAPSULADAS ATRAVÉS DE TÉCNICA SPRAY DRYING

12:00 **Adriana Vallejo Isaza**, Robinson Rosado Cárcamo, Isaura García Cordero
EVALUACIÓN DE HAMBURGUESAS ELABORADAS A BASE DE PULPA DE CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus* COMPARANDO DOS FORMULACIONES DE HARINA DE TRIGO, PRODUCIDAS EN CÓRDOBA - COLOMBIA

12:20 **Liliana Patricia Mancera Rodríguez**, Adriana Patricia Muñoz-Ramírez, Jairo Humberto López Vargas
EVALUACIÓN SENSORIAL DE PATÉ DE CACHAMA BLANCA *Piaractus brachypomus* ELABORADO CON DIFERENTES FUENTES DE LÍPIDOS

12:40 **Sonia Andrea Ruiz Alonso**, Adriana Patricia Muñoz-Ramírez, Jairo Humberto López Vargas, Lunier Joel Girón Hernández
EVALUACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAL Y TIEMPOS DE SALADO SOBRE LAS VARIABLES FISICOQUÍMICAS DE FILETES DE TILAPIA *Oreochromis niloticus* CON SABOR A HUMO

WORLD AQUACULTURE Society

LAQUA18

Bogotá, Colombia • October 23-26, 2018

International Conference & Exposition

Certificate of Participation

Sonia Andrea Ruiz Alonso

Adriana Patricia Muñoz-Ramírez, Jairo Humberto López Vargas, Lunier Joel Girón Hernández

for Oral Presentation of

EVALUACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAL Y TIEMPOS DE SALADO SOBRE LAS VARIABLES FISICOQUÍMICAS DE FILETES DE TILAPIA *Oreochromis niloticus* CON SABOR A HUMO

Luis André Sampaio, President

EVALUACIÓN DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SAL Y TIEMPOS DE SALADO SOBRE LAS VARIABLES FISICOQUÍMICAS DE FILETES DE TILAPIA *Oreochromis niloticus* CON SABOR A HUMO

Sonia Andrea Ruiz Alonso*, Adriana Patricia Muñoz Ramírez, Jairo Humberto López Vargas, Lucian Joel Girón Hernández

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Carrera 30 # 45-03, Bogotá, Colombia
saruizal@unal.edu.co

Establecer condiciones de procesamiento adecuado sería el primer paso para obtener productos con calidad nutricional y que a su vez garanticen la inocuidad de los mismos. En este sentido, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes concentraciones de sal y tiempos de salado sobre las variables fisicoquímicas de filetes de tilapia (contenido de humedad, cloruro de sodio y actividad del agua), con el fin de encontrar condiciones de proceso adecuadas para desarrollar un producto con sabor a humo.

Se utilizaron filetes de tilapia (*Oreochromis niloticus*), sal común de grado alimenticio, agua destilada y humo líquido de referencia comercial. Los filetes se sometieron a un salado en salmuera con tres concentraciones diferentes (C: 5%, 7,5% y 10%) en dos tiempos (T: 4h y 8h), en una relación de 1:2 a 4°C. Se realizaron determinaciones analíticas de contenido de humedad (χ_w), contenido de cloruro de sodio (χ^{NaCl}) y actividad de agua (a_w). Adicionalmente se estimó la sal en fase líquida (Z^{NaCl}) y en base seca ($\bar{\chi}^{NaCl}$).

El análisis multifactorial mostró que cada uno de los factores (C) y (T) tuvo efecto estadísticamente significativo ($p<0,05$) sobre Z^{NaCl}, (χ_w), (χ^{NaCl}) y $\bar{\chi}^{NaCl}$ y (a_w).

Por otro lado, se encontró que el tiempo no afectó la actividad de agua (a_w). Muestras saladas con una concentración de sal en la salmuera del 10% y un tiempo de inmersión de 8 H fueron las que más se aproximaron al contenido de sal establecido por el estándar del *Codex Alimentarius*, de 5% de sal en fase líquida en los productos pescado ahumado, pescado con sabor a humo y pescado seco ahumado (Codex, 2013).

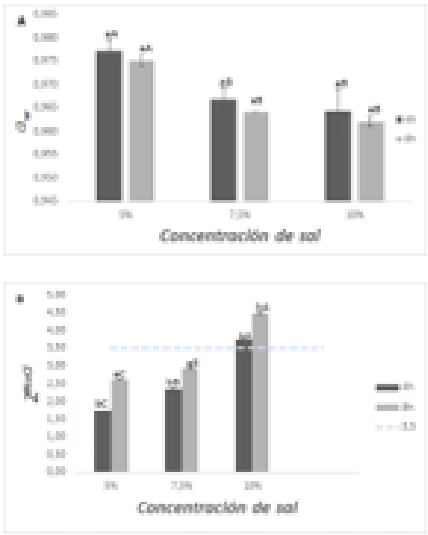
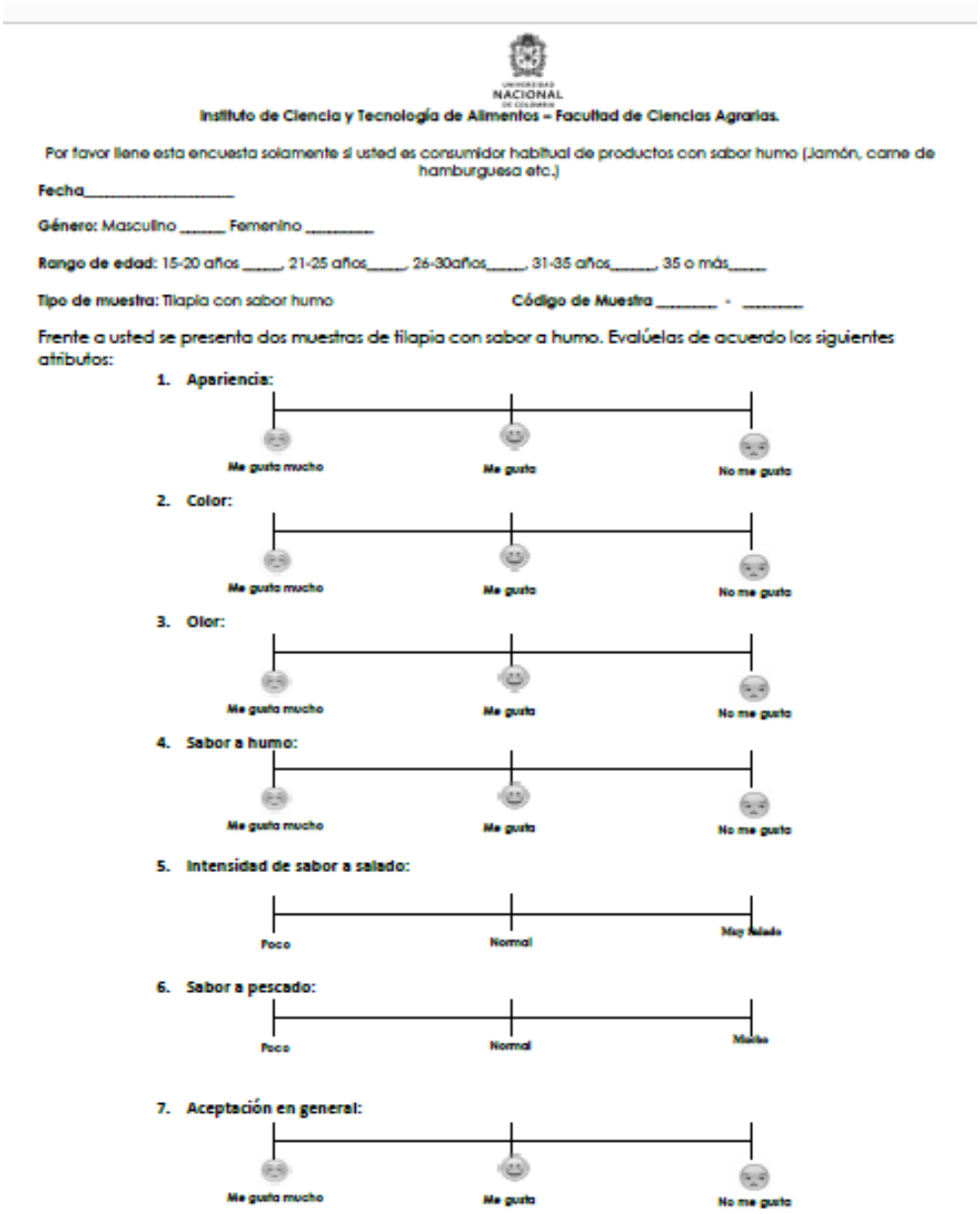


Figura 1. Actividad de agua (A) y sal en fase líquida (B) de filetes de tilapia con sabor a humo. Valores medios ± SD (n = 3). Letras minúsculas y mayúsculas indican diferencias significativas para la dosis de sal (C) y el tiempo (T), respectivamente ($p<0,05$).

D Anexo: Formato análisis sensorial



NACIONAL

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos – Facultad de Ciencias Agrarias.

Por favor llene esta encuesta solamente si usted es consumidor habitual de productos con sabor humo (Jamón, carne de hamburguesa etc.)

Fecha_____

Género: Masculino _____ Femenino _____

Rango de edad: 15-20 años_____, 21-25 años_____, 26-30años_____, 31-35 años_____, 35 o más_____

Tipo de muestra: Tilapia con sabor humo **Código de Muestra** _____ - _____

Frente a usted se presenta dos muestras de tilapia con sabor a humo. Evalúelas de acuerdo los siguientes atributos:

1. **Apariencia:**

Me gusta mucho — Me gusta — No me gusta

2. **Color:**

Me gusta mucho — Me gusta — No me gusta

3. **Olor:**

Me gusta mucho — Me gusta — No me gusta

4. **Sabor a humo:**

Me gusta mucho — Me gusta — No me gusta

5. **Intensidad de sabor a salado:**

Poco — Normal — Muy Salado

6. **Sabor a pescado:**

Poco — Normal — Mucho

7. **Aceptación en general:**

Me gusta mucho — Me gusta — No me gusta