

Nuevas tecnologías destinadas a prolongar el tiempo de conservación de los productos pesqueros refrigerados

El aumento de la demanda de productos de alta calidad y con tiempos prolongados de conservación ha conducido a buscar nuevas técnicas dentro del campo del procesado de alimentos, térmicas o no, como complemento a la refrigeración.

Las tecnologías que se discuten en este trabajo incluyen algunas ya clásicas, como: irradiación, atmósferas modificadas y envasado a vacío, y algunas innovadoras como: alta presión, calentamiento óhmico y campos eléctricos de pulsos.

M. PEREZ-MATEOS
y A.J. BORDERIAS
Instituto del Frío (CSIC)

1. TECNOLOGIAS DE NUEVO ENVASADO

1.1. Envasado bajo atmósferas modificadas

El envasado bajo atmósferas modificadas es un sistema de conservación en el cual la composición gaseosa se establece inicialmente, sin necesidad de ajuste posterior durante la conservación.

Con el objetivo de aumentar el tiempo de vida medio del pescado y de los productos pesqueros, se han estudiado varios tipos de gases, como, por ejemplo, el ozono y el óxido de etileno [1] y, con bastante éxito en el músculo de pescado, el amoníaco [2]. Sin embargo, el único sistema de atmósfera modificada que se ha desarrollado comercialmente ha sido el envasado a vacío y de mezclas de gases con CO₂ como ingrediente activo principal. El uso de mezclas de gases permite la adición de CO₂ en cantidad suficiente para ejercer un efecto inhibitorio sobre el desarrollo microbiano modificando al mínimo la apariencia y la producción de exudado que suele aparecer al utilizar un

100% de CO₂. Por ello, se usa diluido con oxígeno o nitrógeno. El nitrógeno parece ejercer una influencia indirecta sobre el desarrollo microbiano. La razón de utilizar O₂ no es muy evidente, pero, en parte, es para evitar riesgos de botulismo [3].

La acción inhibitoria del CO₂ sobre el crecimiento de los microorganismos se debe a la disminución del pH por la producción de ácido carbónico producido por la combinación del CO₂ con el agua y, por otra parte, a su acción sobre el sistema enzimático de las bacterias, causando daños que pueden llegar a ser letales [4].

El efecto del CO₂ sobre la inactivación de los microorganismos depende de la especie microbiana. La flora gram negativa se ve, generalmente, más inhibida que la gram positiva [5]; y siendo la flora gram negativa la más abundante en el pescado, la presencia de CO₂ aumenta significativamente el tiempo de vida media del pescado. Las atmósferas modificadas con CO₂ originan cambios en la flora común gram negativa, como *Pseudomonas*, y en la gram positiva, como *Lactobacillus*, pudiendo ser debido al

aumento de acidez del medio y a las condiciones anaeróbicas [6].

La vida media de los productos varía dependiendo del tipo de alimento, de la concentración de CO₂, del estado previo antes del envasado, de la temperatura y de otros factores. Sin embargo, se puede aumentar el tiempo de conservación en 2-10 días controlando la temperatura [7, 8]. El dióxido de carbono en contacto con pescados muy pigmentados puede causar el oscurecimiento de la superficie, debido a la oxidación de la oximioglobina a carboximioglobina [7].

La mayoría de los patógenos que se transmiten por los alimentos no crecen o sólo ligeramente a las temperaturas de distribución; pero cuando la temperatura es superior, la respuesta de CO₂ es escasa, ya que, en general, los microorganismos sobreviven [9]. Hay también evidencia de que la germinación de esporas de *Clostridium spp* puede verse favorecida por la presencia de CO₂ a presión atmosférica; aunque Doyle [10] encontró que la producción de toxinas se veía inhibida, probablemente, por la ralentización de las reacciones enzimáticas. Por otra parte, los productos ahumados, que se venden hoy día, presentan mayor riesgo que el pescado fresco, ya que el ahumado y el contenido de sal son insuficientes para actuar de manera eficaz [11, 12].

Proporción de gases recomendados para el uso en atmósferas modificadas

Han sido analizadas gran cantidad de mezclas de gases en diferentes combinaciones para la conservación del pescado. Algunos autores observaron el efecto del CO₂ a bajas concentraciones: 11,5% [13], 20% [7], 25% [14]; mientras que otros recomiendan 100% [15]. En la práctica, por lo general, se usan concentraciones entre 30-60%.

Existen discrepancias en el uso de O₂ junto con N₂ como gases diluyentes. Tiffney y Mills [16] encontraron que el O₂ incrementaba el tiempo de vida media del pescado blanco, por lo cual, lo recomendaron en una concentración de un 30%; pero no así en pescado graso ni en productos curados. Por otro lado, según Kimber [17] el pescado requiere una mezcla inerte de O₂ y N₂.

Aunque el efecto de CO₂ en la inhibición microbiana es independiente de la temperatura, se produce un efecto aparente al variar la solubilidad con la temperatura, de tal forma que con incrementos de temperatura disminuye la solubilidad de CO₂ y, por tanto, su efecto aparente. Por todo esto, es fundamental mantener los productos pesqueros envasados con atmósferas modificadas a temperaturas inferiores a 3°C [8].

Propiedades sensoriales de las atmósferas modificadas

- Al absorberse el CO₂ sobre la superficie del producto, disminuye la presión interna lo que conlleva a una retracción del envase además de la reducción de la concentración de CO₂ en el medio [18]. Para solventar este problema, algunos autores recomiendan utilizar una ligera sobrepresión y otros, reducir la cantidad de CO₂ absorbida mediante un pre-tratamiento con agua saturada en CO₂ o con soluciones de bicarbonato.

- Otra consecuencia en el tratamiento del pescado con concentraciones elevadas de CO₂ es la exudación. Esto puede evitarse limitando la cantidad de CO₂ y colocando un absorbente dentro del envase [19]. La menor humedad en los productos ahumados y pescados grasos los hace menos vulnerables a pérdidas de agua a concentraciones de CO₂ del 60%, sobre todo en comparación con lo que ocurre en pescado blanco; por esto Tiffney y Mills [16] redujeron la concentración inicial a un 40%.

- Por otra parte, pueden producirse decoloraciones blanquecinas en las superficies de corte [19] debido, probablemente, a la precipitación de proteínas sarcoplásmicas por la disminución del pH [20]. En el pescado entero, los ojos se tornan opacos y se decolora la pigmentación de la piel. Este proceso puede agravarse al almacenar bajo atmósferas modificadas ahumados curados. Cann [18] observó la aparición de blanqueamiento y/o una decoloración verde-marrón en filetes de salmón ahumado, modificándose el grado de aceptabilidad y reduciéndose la vida media del producto.

- A alta concentración de CO₂, la respuesta organoléptica del pescado no es del todo favorable. Se produce una

reducción del agua ligada, lo que conduce a una abundante pérdida de agua acompañada por una modificación en la textura que se hace más firme, fibrosa y seca [16, 21, 22]. Al abrir el envase, el olor acumulado se libera rápidamente pudiéndose acompañar con un fenómeno de "efervescencia" [16].

1.2. Envasado a vacío

El material del envase presenta una baja permeabilidad al oxígeno, tras eliminar el aire del interior y el sellado hermético. Ya que no es posible eliminar todo el aire, la atmósfera gaseosa se modifica durante la conservación, debido a los productos resultantes de la actividad metabólica y microbiana, junto con la parcial permeabilidad. Además, en el producto se produce una ligera compresión, pérdida de líquidos y cambios en el aspecto.

Desde el punto de vista microbiológico, García et al. [23] inocularon salmón con esporas tipo E y con cepas no proteolíticas B y F, almacenándolo a vacío con CO₂ a 70% y 100% (v/v) a diferentes temperaturas. Sólo a 4°C, el deterioro del alimento precedió a la aparición de toxigenicidad independientemente del tipo de atmósfera. A 30°C, el rechazo se correspondió con la presencia de toxicidad; mientras que a 8-12°C, los filetes fueron aceptados sensorialmente después de la producción de toxinas.

Una variación del envasado a vacío es el *skin package*. Este método implica el recubrimiento del producto con un *film* delgado y la aplicación de vacío, de modo que se forma una capa protectora casi invisible sobre el producto. Debido a que es un método caro, sólo es apropiado para ciertos productos.

1.3. Envueltas comestibles

Se elaboran con *films* proteicos de almidones o ceras, etc. Estas envueltas protegen al producto frente al oxígeno y evitan la pérdida de componentes como el aroma y la humedad, reduciendo las exigencias del envasado. También se utiliza este método para evitar la mezcla de aromas o intercambio de agua entre los diferentes

componentes de un mismo producto alimentario (por ejemplo, pizzas).

2. METODOS DE PROCESADO NO TERMICO

2.1. Tratamiento de protección microbiológico

Muchos microorganismos producen sustancias antimicrobianas; así, por ejemplo, las bacterias productoras de ácido láctico producen bacteriocinas que inhiben el desarrollo de las bacterias responsables de la putrefacción del alimento. Por tanto, por adición controlada de cepas seleccionadas productoras de ácido láctico sobre la superficie del pescado, se pueden originar condiciones antimicrobianas.

2.2. Irradiación

Por medio de la irradiación, se somete al producto a la radiación electromagnética de un haz de electrones de energía suficiente para romper los enlaces químicos. Este tipo de radiaciones se denominan comúnmente radiaciones ionizantes. Los niveles energéticos están limitados a 5 MeV (mega electrón voltio) para la radiación electromagnética y 10 MeV para los electrones para evitar producir cambios químicos a nivel nuclear y originar productos radiactivos [24].

Los tratamientos más comunes son:

- *Radapertización*: tratamiento del alimento con suficiente dosis de radiación ionizante para reducir el número y/o la actividad de los microorganismos viables a niveles no detectables por los métodos comunes de análisis microbiológico. Se logra prevenir el deterioro y el desarrollo de toxicidad, no dependiendo del tiempo de conservación ni de las condiciones de almacenamiento si se evitan procesos de recontaminación.

- *Radacidación*: tratamiento del alimento con suficiente radiación ionizante para reducir específicamente el número de bacterias patógenas no formadoras de esporas a niveles indetectables [25].

- *Radurización*: irradiación del alimento con suficiente radiación ionizante para conseguir el mantenimiento de la calidad al reducir los micro-

organismos responsables del deterioro del alimento.

Los tres procesos anteriores pueden ser aplicados a productos pesqueros, siendo la radurización el más utilizado. También, se ha estudiado su efecto sobre la destrucción de parásitos [26].

Efecto en los principales constituyentes del músculo de pescado

a) Proteínas

En la proteína existen muchos puntos susceptibles a la acción de la radiación. La radiación absorbida en un punto se transfiere a través de la molécula, causando la desorganización de los enlaces más sensibles [24]. Se forman radicales libres por separación de átomos o grupos de átomos. Aunque los radicales libres desaparecen finalmente, la duración y el punto de recombinación depende de factores tales como la temperatura y el estado de la proteína. Usualmente, las temperaturas bajas disminuyen la difusión de radicales libres favoreciendo su unión a la molécula proteica. También el estado de la proteína antes de la irradiación influye sobre el tratamiento; de modo que proteínas deshidratadas (en productos desecados y ahumados) limitan la movilidad de los radicales formados y su capacidad de recombinación. En presencia de agua libre, la desorganización de puentes de hidrógeno en el agua puede resultar en la ruptura, desdoblamiento o agregación de proteínas. La irradiación no destruye suficiente cantidad de enzimas para inhibir totalmente las reacciones enzimáticas en los productos pesqueros, tan sólo algunas enzimas se destruyen o se alteran.

La irradiación puede causar la destrucción de los aminoácidos; aunque la pérdida del valor nutritivo de la proteína no parece depender de la dosificación [24, 27]. Liuzzo et al. [28] mostraron que el contenido proteico de las ostras no se modificó significativamente con irradiaciones superiores a 4 kGy.

b) Lípidos

Los índices usuales de calidad se modifican poco a nivel de irradiación inferior a 50 kGy. Sin embargo, con una dosis entre 0,1-1 MGy se producen incrementos significativos en el contenido de ácidos grasos, en el número

de ácidos, en el índice de peróxidos, etc. [24]. En la mayoría de los productos pesqueros con dosis de irradiación entre 3-5 kGy, se ponen de manifiesto alteraciones en el sabor, olor y en la textura [29].

La autooxidación de grasas en productos pesqueros se desarrolla como en los productos no irradiados, estando fuertemente influenciada por la temperatura y por la presencia de oxígeno [24].

Durante la irradiación de grasas saturadas en ausencia de oxígeno, se producen: hidrógeno, dióxido de carbono, monóxido de carbono, hidrocarburos y aldehídos; siendo muy similar a lo observado al irradiar grasas insaturadas. La hidrogenación puede conducir a la producción de grasas saturadas [24]; sin embargo, la presencia de dobles enlaces puede originar la formación de otros compuestos insaturados. Los compuestos formados por calentamiento de las grasas son bastante similares a los producidos por irradiación aunque con algunas diferencias tanto cuantitativas como cualitativas.

Consideraciones nutricionales

Los datos disponibles indican que la irradiación puede destruir algunos aminoácidos, tales como cisteína, metionina y triptófano [30]; siendo las cantidades destruidas, generalmente, insignificantes comparadas con las contenidas en el pescado sin irradiar. Respecto al contenido en vitaminas, sí se produce una destrucción importante, pero no mucho mayor que en otros procesos. Durante los últimos años, se han realizado ensayos nutricionales con animales los cuales no mostraron deficiencias dietéticas o de toxicidad atribuibles a los productos pesqueros irradiados [31].

Aspectos bacteriológicos

En el pescado fresco, la putrefacción y autólisis se produce principalmente por ciertas bacterias del género *Pseudomonas* y *Achromobacter*; predominando *Achromobacter* en regiones templadas. La irradiación origina cambios cualitativos y cuantitativos en esta microflora.

Hobbs y Shewan [32, 33] observaron que a dosis de irradiación superiores a 3 kGy se destruyen la mayoría de las *Pseudomonas*. Los organismos que

sobreviven son fundamentalmente gram positivos y gram negativos del género *Achromobacter* [33]. En regiones tropicales, otras especies gram negativas y gram positivas se desarrollan a lo largo de la conservación del pescado tanto después de haber sido irradiado como no.

El pescado irradiado desarrolla una flora totalmente diferente, debido a que las bacterias responsables del deterioro se eliminan por el efecto de la irradiación. El resultado de ausencia de especies competidoras favorece el desarrollo de organismos formadores de esporas, tales como *Clostridium botulinum* que, en general, son más resistentes a la irradiación. Se logra reducir la flora responsable de la degradación del alimento, por lo que se aumenta el tiempo de vida media hasta el desarrollo de bacterias patógenas y/o producción de toxinas.

Un gran número de investigaciones han estado enfocadas al estudio del riesgo de los productos irradiados y la producción de toxina botulínica y otras toxinas de origen microbiano antes de la aparición de signos de deterioro del alimento [29, 32]. Excepto para los productos radapertizados, el control de producción de toxinas debe ser realizado después del tratamiento para evitar la producción de toxinas antes de la aparición de los olores indicativos del deterioro del alimento y conservar el producto bajo temperaturas de refrigeración al mantener el pH alto o bajo por medio del salado o por otro método. Esto demuestra que a dosis bajas de irradiación (hasta 3 kGy) es fundamental seguir las prácticas de higiene durante la manipulación del alimento [25].

En la práctica, la dosis de irradiación se ve limitada debido a la pérdida de aromas, a la aparición de olores y de otros signos de pérdida de calidad; siendo aconsejable la combinación de la irradiación con otros procesos convencionales como el tratamiento térmico. Por ejemplo, la combinación de calentamiento e irradiación reduce las condiciones requeridas en los procesos independientes: temperatura a 60-70°C frente a la temperatura de calentamiento tradicional y menor dosis de irradiación que la requerida sólo por irradiación. El calentamiento, generalmente, origina que los mi-

croorganismos sean más susceptibles al efecto de la irradiación. Además de las atmósferas modificadas y el envasado a vacío [34], también se han utilizado como coadyuvantes de la irradiación agentes químicos como cloruro sódico, cloruro cálcico, citrato cálcico, nitrato sódico, sorbato potásico; especias como mostaza, aceite o nuez moscada [24].

2.3. Pulsos eléctricos de alto voltaje

La tecnología de pulsos eléctricos de alto voltaje permite conservar los alimentos sin necesidad de aplicar calor. La inactivación de los microorganismos responsables del deterioro del alimento se realiza por exposición del producto a campos eléctricos intensos (10-20 kV/cm) durante períodos cortos de tiempo (en orden de segundos). Se produce un daño sobre la membrana celular que depende de la intensidad del campo eléctrico, del tiempo de tratamiento y de la naturaleza del microorganismo [35].

Esta tecnología no puede ser aplicada sobre el músculo de pescado entero, sino sobre músculo picado. En el músculo picado, no sólo se induce la pasteurización, sino también la liberación de grasa del interior celular sin desnaturalización de las proteínas ni inactivación de las vitaminas.

2.4. Alta presión

La alta presión es una tecnología relativamente nueva en su aplicación en el sector alimentario. Los avances en los estudios sobre la efectividad del tratamiento de la alta presión, se están utilizando para la prevención del crecimiento de microorganismos en los alimentos y para modificar la actividad enzimática. La aplicación de altas presiones en productos pesqueros no se restringe a su utilización para pasteurización; sino también para la gelificación de proteínas del músculo obteniéndose geles con una superficie más lisa y brillante [36].

Efecto de la alta presión sobre los microorganismos

El efecto de las altas presiones sobre los microorganismos ha sido ampliamente estudiado [37, 38, 39]. En soluciones tamponadas y a temperatura ambiente, presiones de 400-700 MPa aplicadas durante 10-20 minutos re-

ducen el número de la mayoría de las células vegetativas en un factor de 10^5 - 10^6 , aunque las esporas no se ven afectadas en estas condiciones. La mayoría de los estudios están efectuados en suspensiones de células vegetativas o esporas en soluciones tamponadas; sin embargo, no se ha considerado el efecto de protector de los constituyentes del alimento frente a la inactivación por presión. Uno de los estudios realizados por Shoji y Sasaki [40] en músculo de atún y manto de calamar evalúan el contenido de microorganismos totales viables después del tratamiento a 200 MPa y 450 MPa durante 15 minutos, pasando de un contenido inicial de microorganismo de $5,2 \cdot 10^6$ y $4,9 \cdot 10^4$ colonias/g de tejido, respectivamente, a menos de 300 colonias/g de tejido. Basándose en estos resultados, se logra aumentar el tiempo de vida medio del producto; sin embargo, no se alcanzan niveles de esterilización. Para destruir células vegetativas, hasta niveles de esterilización, se requiere la combinación de tratamiento de presión moderada y temperatura de pasteurización [41]. En relación con este efecto combinado se ha estudiado el efecto de la presión (400 MPa) sobre *Lactobacillus casei* y *Escherichia coli* siendo más efectiva a temperaturas de 0°C y 60°C. También se ha estudiado la combinación de presión y calentamiento óhmico [42] observando un efecto positivo sobre esporas de *E. coli* y *B. subtilis*.

Efecto de la alta presión sobre las proteínas de pescado

Al presurizar miofibrillas de pescado a 150 MPa durante 30 minutos, se destruye la ordenación de las mismas, adhiriéndose los filamentos unos a otros, con una consecuente pérdida de estriación [43]. Por otro lado, estas mismas miofibrillas tratadas a 38°C durante dos horas mantuvieron su apariencia estriada. Estos resultados sugieren que el mecanismo de desnaturalización de la proteína miofibrilar por tratamiento de alta presión difiere a la desnaturalización inducida por calentamiento. Sin embargo, la cadena pesada de miosina y actina no se alteraron por ninguno de los dos tratamientos, según se refleja en la movilidad mostrada en geles de electroforesis SDS-PAGE [40]. Por tanto, el tratamiento de alta presión del mús-

culo de pescado no causó degradación ni cohesión de proteína miofibrilares.

También Carlez et al. [44] observaron que los mecanismos de gelificación por presurización de proteínas miofibrilares de pescado difieren del mecanismo de gelificación térmica. Tratamiento de presurización de 300 MPa, 5-10°C, 15 minutos, origina menos desdoblamientos y menor agregación proteica que por tratamiento térmico a 90°C, 30 minutos. Esta menor agregación se corresponde con la mayor solubilidad proteica de los geles inducidos por presión en distintas soluciones tamponadas.

Otros estudios en SDS-PAGE revelan que las proteínas sarcoplásmicas extraídas de músculo de bacalao y caballa disminuyen con la presión aplicada en el tratamiento, lo que sugiere que ciertas proteínas sarcoplásmicas se degradarían y/o agregarían por el efecto de la presión [43].

Efecto de la alta presión sobre la oxidación de lípidos

Al presurizar grasas extraídas de músculo de sardina a 500 MPa durante una hora, el índice de peróxidos y el de TBA no mostraron cambios [45]. Por otra parte, al presurizar músculo de bacalao a presiones de 200, 400 y 600 MPa durante 15 y 30 minutos, el índice de peróxidos de las grasas extraídas aumentó con la presión aplicada y con el tiempo de procesado. Este efecto fue más marcado en músculo de caballa. Los resultados de este estudio muestran que existen algunos factores presentes en el músculo que activan la oxidación lipídica durante el tratamiento de alta presión. Tanaka et al. [45] encontraron que ciertos iones metálicos juegan un papel importante como promotores de la autooxidación de los lípidos en músculo presurizado.

Efecto en las propiedades sensoriales

El músculo de pescado presurizado muestra un aspecto opaco similar al presentado después del cocinado. En general, el sabor y aroma después de la presurización es similar al del pescado fresco y en algunos casos, como en las ostras, se consigue, incluso, mejorar las características organolépticas [46]. Productos tipo kamaboko elaborados con esta tecnología son

más elásticos y con una superficie más uniforme.

3. NUEVOS PROCESOS TÉRMICOS

3.1. Resistividad óhmica

La resistividad óhmica es un método en el que la corriente eléctrica alterna (en la práctica corriente alterna de baja frecuencia: 50 ó 60 Hz) pasa a través de un alimento [47]. El calor se genera internamente, consiguiéndose un rápido calentamiento. Debido a que el calor se genera simultáneamente en la fase líquida y sólida, el incremento de temperatura en el producto es uniforme, comparado con el proceso convencional en el cual el calor se aplica en el exterior del producto y transmitido gradualmente hacia el interior [48]. La mayoría de los platos preparados contienen sales iónicas disueltas en la salsa y que favorecen la transmisión del efecto óhmico.

El gradiente de temperaturas entre el exterior y el interior del producto no es muy grande como en el calentamiento tradicional y tanto el líquido como el producto se calientan prácticamente simultáneamente. No hay que recurrir a un sobrecalentamiento del líquido para asegurar esterilidad en el centro del producto por lo que se logra evitar un sobrecalentamiento. Otra ventaja es que no hay superficies de transferencia de calor, lo cual reduce la posibilidad de la formación de depósitos y de partículas quemadas en el producto final [49].

También el calentamiento óhmico se usa para la elaboración de geles de músculo de pescado. El calentamiento óhmico como proceso de calentamiento rápido es un método efectivo para mejorar la funcionalidad gelificante del *surimi* de especies con alta actividad proteásica y que, de otra forma, necesitarían inhibidores enzimáticos [50].

3.2. Cocinado a vacío

Los productos pesqueros se envasan a vacío bajo condiciones higiénicas y, una vez empaquetados, se calientan en agua hasta alcanzar la temperatura interna deseada. Se evitan temperaturas elevadas, para evitar pérdidas de agua y jugosidad, y con un

tiempo de vida medio limitado a 6-20 días [51, 52].

4. BIBLIOGRAFIA

- [1] Silva, M. Alternatives to modified atmosphere packaging. En: Martin, R.E. (Ed.); Proceedings First National Conference on Modified and Controlled Atmosphere Packaging of Seafood Products, The National Fisheries Institute: San Antonio, Washington DC, USA, pág. 267-274 (1981).
- [2] Mandal, S.K. y Muckherjee, S.K. Chemical changes of fish muscle during preservation with ammonia. J. Agr. Food Chem. 22 (5) pág. 832-835 (1974).
- [3] Davis, H.K. Some effects of modified atmosphere packaging gases on fish and chemical tests for spoilage. En: Chilling and Freezing of New Fish Products, Int. Inst. Refrig. Commission C2: Aberdeen, Escocia, pág. 201-207 (1990).
- [4] King, A.D. y Nagel, C.W. Growth inhibition of a *Pseudomonas* by carbon dioxide. J. Food Sci. 32, pág. 575-579 (1967).
- [5] Stier, R.F.; Bell, L.; Ito, K.A.; Schafer, B.D.; Brown, L.A.; Seeger, M.L.; Allen B.H.; Porcina, M.N. y Lerke, P.A. Effect of modified atmosphere storage on *C. botulinum* toxigenesis and the spoilage microflora of salmon filets. J. Food Sci. 46, pág. 1.639-1.642 (1981).
- [6] Banks, H.; Nickelson, R. y Finne, G. Shelf-life studies on carbon dioxide packaged finfish from the Gulf of Mexico. J. Food Sci. 45, pág. 157-162 (1980).
- [7] Brown, W.D.; Albright, M.; Watts, D.A.; Heyer, B.; Spruce, B. y Price, R.J. Modified atmosphere storage of rockfish (*Sebastes miniatus*) and silver salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J. Food Sci. 45, pág. 93-96 (1980).
- [8] Bezanson, A. Prepackage: Expand your fresh fish retail sales. Seafood Am. 1 (3) pág. 24-28 (1981).
- [9] Clark, D.D. y Takacs, J. Gases as preservatives. En: ICMSF Microbial Ecology of Foods, Vol. I: Factors affecting life and death of microorganisms, Academic Press: Londres, Inglaterra, pág. 170-192 (1980).
- [10] Doyle, M.P. Effect of carbon dioxide on toxin production of *Clostridium botulinum*. European. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 17, pág. 53-56 (1983).
- [11] ACMSF (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food), Report on Vacuum Packaging and Associated Processes, HMSO: Londres, Inglaterra (1992).
- [12] White, R. y Roberts, R. Developments in Modified Atmosphere and Chilled Foods Packaging. Pira International: Leatherhead, Inglaterra (1992).
- [13] Nelson, R.W. y Trestven, W.I. Storage of Pacific salmon in controlled atmosphere. En: Proceedings XIV International Congress Refrigeration, Int. Inst. Ref.: Moscú, Rusia, 1975, (3) pág. 736-743 (1977).

- [14] Villemure, G.; Simrad, R.E. y Picard, G. Bulk storage of cod fillets and gutted cod (*Gadus morhua*) under carbon dioxide atmosphere. *J. Food Sci.* 51, pág. 317-320 (1986).
- [15] Stemstrom, I.M. Microbial flora of cod fillets (*Gadus morhua*) stored at 2°C in different mixtures of carbon dioxide and nitrogen-oxygen. *J. Food Protect.* 48, pág. 585-589 (1985).
- [16] Tiffnety, P. y Mills, A. Storage trials of controlled atmosphere packaged fish products. *Tech. Rep. n.º 191.* Sea Fish Industry Authority (1982).
- [17] Kimber, A. Update on the gas flush pack. *Food Manuf.* 59 (3) pág. 22-25 (1984).
- [18] Mills, A. y Tifney, P. The use of controlled atmosphere packaging for the storage of fish. *Chilled Foods 1*, pág. 22-23 (1982).
- [19] Cann, D.C. Packing Fish in a Modified Atmosphere, *Torry Advisory Note n.º 88*, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Torry Research Station: Aberdeen, Escocia (1984).
- [20] Starham, J.A. y Bremner, H.A. Shelf-life extension of packaged seafoods: a summary of research approach. *Food Australia* 41 (2) pág. 614-620 (1989).
- [21] Wang, M.Y. y Brown, W.D. Effects of elevated CO₂ atmosphere on storage of freshwater crayfish (*Pacifastacus leniusculus*). *J. Food Sci.* 48, pág. 158-162 (1983).
- [22] Haard, N.F. y Lee, Y.Z. Hypobaric storage of Atlantic salmon in carbon dioxide atmosphere. *Can. Inst. Food Sci. Tech.* 15, pág. 68-71 (1982).
- [23] Garcia, G.W.; Genigeorgis, C. y Kindroth, S. Risk of growth and toxin production by *Clostridium botulinum* non-proteolytic types B, E and F in salmon filets stored under modified atmospheres at low and abused temperatures. *J. Food Protect.* 50, pág. 330-336 (1987).
- [24] Urbain y Walter, M. Food Irradiation. En: *Advances in Food Research*, Chichester, C.O. (Ed.): Academic Press, Nueva York, USA, (24) pág. 155-127 (1978).
- [25] Teufel, P. Microbiological Implication of the Food Irradiation Process. En: *Food Irradiation Information*, International Project in the field of food irradiation: Karlsruhe, Alemania, pág. 33-47 (1981).
- [26] Van Mameren, J. y Houwing, H. Effect of Irradiation on *Anasakis* Larvae in Salted Herring. En: *Elimination of Harmful Organisms in Food and Feed by Irradiation*, International Atomic Energy Agency: Viena, Austria, pág. 73-80 (1968).
- [27] Brooke, R.O.; Ravesi, E. M.; Gadbois, D.F. y Steinberg, M.A. Preservation of fresh unfrozen fishery products by low-level radiation. III. The effects of radiatin pasteurization on amino acids and vitamins in clams. *Food Tech.* 18, pág. 1.060-1.064 (1964).
- [28] Liuzzo, J. A.; Novak, A. F.; Grodner, R. M. y Ramachandra, R.M. Radiation Pasteurization of Gulf Shellfish. Publication ORO-676 U.S. Atomic Energy Commission, Technical Information Division: Washington DC, USA (1970).
- [29] Hannesson, G. Objectives and Present Status of Irradiation of Fish and Seafoods. En: *Food Irradiation Information n.º 1* International Project in the Field of Food Irradiation: Karlsruhe, Alemania, pág. 28-64 (1972).
- [30] FDA. Recommendations for Evaluating the Safety of irradiated Foods. Final Report of the Irradiated Food Committee to the Director. Bureau of Doods. U.S. Federal Food and Drug Administration: Washington DC, USA (1980).
- [31] Anon. Acid preservation could make offals a source of in-come. *Fish Farmer* 4 (2) pág. 9-11 (1981).
- [32] Hobbs, G. *Clostridium botulinum* in Irradiated Fish. En: *Food Irradiation Information*. No 7. International Project in the Field of Food Irradiation: Karlsruhe, Alemania, pág. 39-54 (1977).
- [33] Hobbs, G. y Shewan, J.M. Present Status of irradiation Preservation of Fish and Fishery Products in Europe. En: *Freezing and Irradiation of fish*. Fishing News (Books) Ltd.: Londres, Inglaterra, pág. 488-494 (1967).
- [34] Thakur, B.R. y Singh, R.K. Combination processes in food irradiation. *Trends Food Sci. Tech.* 6, pág. 7-11 (1995).
- [35] Martin, O.; Zhang, Q.; Castro, A.; Barbosa Cánovas, G. y Swanson, B. Empleo de pulsos eléctricos de alto voltaje para la conservación de alimentos. *Microbiología e ingeniería del proceso*. *Rev. Esp. Cien. Tec. Ali.* 34, pág. 1-34 (1994).
- [36] Okamoto, M.; Deuchi, T. y Hayashi, R. En: *Use of High Pressure in Food*; Hayashi, R. (Ed.); San-ei Publ.: Kyoto, Japón, pág. 89-102 (1989).
- [37] Cheftel, J.C. High-pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci. Tech. Inter.* 1, pág. 75-90 (1995).
- [38] Knorr, D. Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. En: *New methods of food preservation*; Gould, G. W. (Ed.); Blacki Academic and Professional: Londres, Inglaterra, pág. 159-175 (1994).
- [39] Patterson, M.F.; Quinn, M.; Simpson, R. y Gilmour, A. Effect of high pressure on vegetative pathogens. En: *High pressure processing of foods*, Leward, D. A.; Johnston, D. E.; Earnshaw, R. G. y Hasting A. P. M. (Eds.); Nottingham University Press: pág. 47-63 (1995).
- [40] Shoji, T. y Saeki, H. En: *Use of High Pressure in Food*; Hayashi, R. (Ed.); San-ei Publ.: Kyoto, Japón, pág. 75-78 (1989).
- [41] Knorr, R.; Bottcher, A.; Dornennurg, H.; Oxen, P.; Richwin, A. y Seyderhelm, I. High pressure effects on microorganisms, enzyme activity and food functionality. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C., Hayashi, R.; Heremens, K. y Masson, P. (Eds.); Editions John Libbey Eurotext: Montrouge, Francia, pág. 211-218 (1992).
- [42] Shimada, K. Effect of combination treatment with high pressure and alternating current on the lethal damage of *Escherichia coli* cells and *Bacillus subtilis* spores. En: *High Pressure and Biotechnology*; Balny, C.; Hayashi, R.; Heremens, K and Masson, P. (Eds.); Editions John Libbey Eurotext: Montrouge, Francia, pág. 49-51 (1992).
- [43] Ohshima, T.; Ushio, H. y Koizumi, C. High-pressure processing of fish and fish products. *Trends Food Sci. Tech.* 4, pág. 370-375 (1993).
- [44] Carlez, A.; Borderías, J.; Dumay, E. y Cheftel, J.C. High pressure gelation of fish myofibrillar proteins. En: *Food Macromolecules and Colloids*. Dickinson, E. y Lorient, D. Eds. Royal Society of Chemistry, Cambridge, Inglaterra, pág. 400-409 (1995).
- [45] Tanaka, M.; Xueyi, Z.; Nagashima, Y. y Taguchi, T. Effect of high pressure on the lipid oxidation in sardine meat. *Nippon Suisan Gakk.* 57, pág. 957-963 (1991).
- [46] Hoover, D. G.; Metrick, C.; Papineau, A.M.; Farkas, D.F. y Knorr, D. Biological effects of high hydrostatic pressure in food microorganisms. *Food Tech.* 43, pág. 99-107 (1989).
- [47] Biss, C.H.; Coombes, S.A. y Skudder, P.J. The development and application of ohmic heating for the continuous processing of particulate food stuffs. En: *Processing Engineering in the Food Industry*; Field, R.W. y Howell, J.A. (Eds.); Elsevier Applied Sci. Publishers: Essex, Inglaterra, pág. 17-27 (1989).
- [48] Parrot, D.L. Use of ohmic heating for aseptic processing of Food particulates. *Food Tech.* 46 (12), pág. 68-72 (1992).
- [49] Skudder, P. Ohmic heating. En: *Aseptic processing and packaging of particulated foods*; Willhort, E. (Ed.); Bkackie Academic and Professional: Londres, Inglaterra (1990).
- [50] Yongsawatdigul, J.; Park, J.W.; Kolbe, E.; Abu Dagg, Y. y Morrissey, M.T. Ohmic heating maximizes gel functionality of pacific whithing surimi. *J. Food Sci.* 60, pág. 10-14 (1995).
- [51] Ohlsson, T. Minimal processing preservation methods of the future: an overview. *Trends Food Sci. Tech.* 5, pág. 341-344 (1994).
- [52] Schellekens, M. New research issues in sous-vide cooking. *Trends Food Sci. Tech.* 7, pág. 256-262 (1996).

