



“Procesamiento integral de las especies patagónicas de cangrejos marinos de valor comercial *Ovalipes trimaculatus* y *Platyxanthus patagonicus*”

Tesis de Doctorado

JIMENA BERNADETTE DIMA



Presentada ante la Facultad de Ingeniería de la
Universidad Nacional de La Plata
como requisito para la obtención del grado académico de

DOCTOR EN INGENIERÍA

Dirección de Tesis:

Directora: Dra. Noemí Zaritzky

Co-director: Dr. Pedro Barón

Jurado de Tesis:

Dra. Susana Zorrilla

Ing. M. Isabel Yeannes

Fecha de defensa oral y pública: 14 de Marzo del 2013



***A mis padres y hermana
Susana, José Luis y Nadia
Los Amo***



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer especialmente

A mi marido, Marcos, mi compañero, la persona que me aguanta todo. Te amo.

A la Dra. Cynthia Sequeiro, encargada del Laboratorio de Bioquímica, por su apoyo en todo este camino, por su conocimiento y su cariño; por buena persona.

A mis compañeras de trabajo del CENPAT y del CIDCA, por su colaboración y buenos momentos. La Dra. Ximena Gonzáles y la Dra. Victoria Santos, profesionales jóvenes, inteligentes y buena gente.

A mi Co- director, Dr. Pedro Barón, por confiar en mi para ocupar un área nueva, poco desarrollada en el CENPAT, como es Tecnología.

Por último y muy especialmente quiero agradecer a mi directora la Dra. Noemí "MIMI" Zaritzky. Es un agradecimiento que pensé muchísimo, pero no me alcanzan en palabras las gracias. Por confiar en mi a 1400km de distancia, por recibirme en el CIDCA para trabajar, por contestarme con toda su humildad las pavadas más grandes. Porque le debo demasiado, porque la aprecio, porque aprendí mucho. Por el cariño, el respeto y la confianza. GRACIAS.

Quisiera agradecer también a las personas e instituciones que hicieron posible este trabajo

Al Centro Nacional Patagónico (CENPAT) y al Centro de Desarrollo y Criotecnología de Alimentos (CIDCA) por permitirme realizar mi trabajo. Al personal de náutica del CENPAT, por salir conmigo con 10°C bajo cero. A las Dras. Leda Giannuzzi y Fernanda Col Cárdenas, del CIDCA, por ayudarme a trabajar en pasteurización de alimentos, son profesionales y compañeras hermosas. A la empresa REFMAR SRL a cargo del Ing. Miguel Galarza por prestarnos los equipos de frío. A la Empresa "Madryn Mariscos", por prestarnos las instalaciones. A la empresa Cryovac, en Argentina, por donarnos los envases. A Javier Lecot, encargado del DSC, que se ha quedado después de hora para



que yo termine mi trabajo. A Miriam y Mauricio, del área de Oceanografía del CENPAT, por prestarme equipos y materiales para mi trabajo. A Normita por ayudarme en el área de histología.

Porque también soy lo que perdí. A los que ya no están y extraño mucho, gracias.



Los resultados de esta Tesis fueron publicados en los siguientes trabajos

◆ **Revistas Nacionales e Internacionales**

Dima, J.B., Barón, P., & Zaritzky, N., 2012. "Mathematical modeling of the heat transfer process and protein denaturation during the thermal treatment of Patagonian marine crabs". *Journal of food Engineering*. Vol 113(4): pp 623-634.

Santos, M.V., Dima, J.B., Barón, P., Califano, A., & Zaritzky, N., 2012. "Simulación numérica del proceso industrial recongelación de cangrejos patagónicos". *Revista de Mecánica Computacional*. AMCA Vol 2012: pp 2133-2149.

Dima, J.B., Barón, P., & Zaritzky, N., 2010. "Modelado de la transferencia de energía y análisis de la desnaturalización proteica en la etapa de procesamiento térmico de especies de crustáceos patagónicos". *Revista Argentina de Ingeniería Química*. AAIQ vol 2010. ISSN: 1850-3519.

Dima, J.B., De Vido, N., Leal, G., & Barón, P., 2009. "Fluctuations in the biochemical composition of the Patagonian stone crab *Platyxanthus patagonicus* A. Milne Edwards, 1879 (Platyxanthidae: Brachyura) throughout its reproductive cycle". *Scientia Marina*. Vol 73(3): pp. 423-430.

◆ **Actas de Congresos**

Dima, J.B., Santos, M.V., Barón, P., Califano, A., & Zaritzky, N. "Modelado matemático del proceso industrial de congelación de crustáceos marinos". *IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. CICYTAC 2012. 14-16 de noviembre. Cordoba Capital.

Dima, J.B., Santos, M.V., Barón, P., Califano, A., & Zaritzky, N. "Simulación numérica del proceso de congelación de cangrejos *Ovalipes trimaculatus* y *Platyxanthus patagonicus*".



Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas. CLICAP 2012. 28-30 de marzo, San Rafael, Mendoza.

Dima, J.B., Barón, P., & Zaritzky, N. "Optimización del proceso de pasterización y modelado de transferencia térmica de la carne de crustáceos de Patagonia Argentina". *XIII Congreso de la Asociación Argentina de Tecnólogos Alimentarios. AATA CYTAL 2011*. 19-21 de octubre, Buenos Aires. **Proceeding.**

Dima, J.B., Barón, P., & Zaritzky, N. "Mathematical modelling of the heat transfer process and protein denaturation during the thermal treatment of crabs from the Argentine Patagonia". *11th International Conference on Engineering and Food. ICEF. 2011*. 22-26 de mayo, Athenas – Grecia.

Dima, J.B., Barón, P., & Zaritzky, N. "Desnaturalización de proteínas durante el tratamiento térmico de crustáceos de la patagonia Argentina". *II reunión interdisciplinaria de tecnología y procesos químicos. RITEQ 2010*. 24-27 de octubre, Córdoba. **Presentación oral.**



ÍNDICE

CAPÍTULO 1	16
INTRODUCCIÓN	16
1. Características de las especies	16
1.1. Pesquerías y mercados	20
1.2. Características de la carne	23
1.3. Etapas del procesamiento	25
1.4. Proceso de cocción (Calentamiento primario).....	26
1.5. Separación de la carne	29
1.6. Pasteurización (Calentamiento secundario)	30
1.7. Envasado de la materia prima	31
1.8. Congelación	33
1.10. Revalorización de los desechos de crustáceos.....	37
OBJETIVOS	40
ESQUEMA GENERAL DE LA TESIS	42
CAPÍTULO 2	45
OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....	45
2. Introducción.....	45
2.1. Muestreo y acondicionamiento de materia prima.....	48
2.1.1. Materiales y métodos.....	48
2.1.2. Análisis estadísticos.....	50
2.1.3. Resultados del muestreo.....	50
2.2. Composición bioquímica de la carne de cangrejo	55
2.2.1. Métodos de medición.....	55
2.2.2. Resultados de la composición bioquímica proximal	56
2.3. Determinación de Nitrógeno Básico Volátil (NBV)	57
2.3.1. Método de medición.....	57



2.4. Medición de pH.....	60
2.4.1. Materiales y métodos.....	60
2.4.2. Resultados del pH.....	61
2.5. Recuento de mesófilos totales (PCA)	61
2.5.1. Materiales y métodos.....	61
2.5.2. Resultados del recuento de mesófilos totales (PCA).....	62
2.6. Capacidad de retención de agua (CRA).....	62
2.6.1. Materiales y métodos.....	62
2.6.2. Resultados obtenidos de capacidad de retención de agua (CRA)	63
2.7. Caracterización de las proteínas	64
2.7.2. SDS-PAGE de las proteínas del músculo	64
2.7.3. Resultados de las proteínas totales, miofibrilares y sarcoplásmicas obtenidas por SDS page para el músculo de cangrejo fresco	65
2.8. Caracterización histológica.....	66
2.8.1. Materiales y métodos.....	66
2.8.2. Resultados de la caracterización histológica	67
2.9. Síntesis del Capítulo	68
CAPÍTULO 3	71
PRIMERA ETAPA DE CALENTAMIENTO (COCCIÓN).....	71
3. Introducción.....	71
3.1. Muestreo y acondicionamiento de materia prima.....	74
3.1.2. Análisis estadísticos.....	74
3.2. Determinación de las curvas de penetración térmica en cuerpo y pinza de ambas especies de cangrejos a diferentes temperaturas de calentamiento en agua	75
3.2.1. Materiales y métodos.....	75
3.2.2. Resultados de las curvas de penetración térmica a diferentes temperaturas del agua de calentamiento	76
3.3. Simulación y modelado matemático de la transferencia de energía, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF).....	78



3.4. Determinación de las propiedades termofísicas del músculo: Densidad (ρ), Conductividad térmica (k) y Calor específico (C_p).....	80
3.4.1. Materiales y métodos.....	80
3.4.2. Determinación de las propiedades termofísicas del músculo: Densidad (ρ), Conductividad térmica (k) y Calor específico (C_p).....	81
3.5. Determinación experimental del calor específico (C_p) por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	83
3.5.1. Materiales y métodos.....	83
3.6. Determinación del coeficiente de transferencia calórica (h).....	85
3.7. Resultados de la simulación y modelado matemático de la transferencia de energía, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF).....	86
3.8. Determinación de la cinética de desnaturalización de proteínas por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	90
3.8.1. Materiales y métodos.....	90
3.8.2. Resultados de la cinética de desnaturalización de proteínas por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	91
3.9. Acoplamiento del modelo de transferencia de energía con la cinética de desnaturalización proteica.....	94
3.9.1. Modelado matemático.....	94
3.9.2. Resultados del acoplamiento del modelo de transferencia de energía con la cinética de desnaturalización proteica.....	96
3.10. Determinación de las condiciones de tiempo y temperatura de calentamiento para una adecuada separación de la carne de cangrejo de la capa calcárea en pinzas.....	101
3.11. Síntesis del Capítulo.....	102
CAPÍTULO 4.....	105
DETERMINACIÓN DEL RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LA CARNE COCIDA.....	105
4. Introducción.....	105



4.1.1. Método de medición.....	106
4.1.2. Análisis estadísticos.....	109
4.2. Rendimiento por sexo y especie	109
4.2.1. Métodos de medición.....	109
4.2.2. Resultados del rendimiento de cangrejos por sexo y especie	110
4.3. Rendimiento por método de cocción.....	113
4.3.1. Métodos de medición.....	113
4.3.2. Resultados de los rendimientos por método de cocción	113
4.4. Rendimiento según las partes del cuerpo.....	115
4.4.1. Métodos de medición.....	115
4.4.2. Resultados de rendimiento según las partes del cuerpo	116
4.5. Caracterización química del músculo cocido de cangrejo.....	117
4.5.1. Método de medición.....	117
4.5.2. Resultados de la composición química del cangrejo <i>D. patagonicus</i> y <i>O. trimaculatus</i> calentado por inmersión en agua a 100°C	118
4.6. Determinación de pérdida de peso por cocción, oxidación lipídica (TBA), capacidad de retención de agua (CRA), cálculo de bases nitrogenadas volátiles (NBV) y pH en carne de cangrejo calentada en agua y a vapor	118
4.6.1. Métodos de medición.....	118
4.6.2. Resultados de la caracterización química y física del músculo cocido.....	120
4.7. Color instrumental (Y, xy).....	122
4.7.1. Materiales y métodos.....	122
4.7.2. Resultados del cálculo de color instrumental (Y, xy).....	122
CAPÍTULO 5	126
SEGUNDA ETAPA DE CALENTAMIENTO (PASTEURIZACIÓN).....	126
5. Introducción.....	126
5.1. Preparación de la muestra. Determinación de las curvas de penetración térmica en pulpa de cangrejo envasada al vacío.....	128
5.1.1. Materiales y métodos.....	128



5.1.2. Análisis estadísticos.....	129
5.1.3. Resultados de las curvas de penetración térmica en pulpa de cangrejo envasada al vacío.	130
5.2. Determinación experimental del calor específico (C_p) por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	131
5.2.1. Método de medición.....	131
5.2.2. Resultados experimentales del calor específico por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	131
5.3. Modelado matemático y simulación numérica de la transferencia de energía, en pulpa de cangrejo envasada al vacío, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF).....	131
5.3.1. Modelo matemático.....	131
5.3.2. Resultados de la simulación y modelado matemático de la transferencia de energía, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF) en pulpa de cangrejo envasada al vacío.....	133
5.4. Determinación de la curvas de letalidad microbiana para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> : cálculos de los parámetros de reducción decimal (D), valor z y energía de activación (E_a).....	135
5.4.1. Materiales y métodos.....	135
5.4.2. Resultados de la curvas de letalidad microbiana para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> : cálculos de los parámetros de reducción decimal (D), valor z ($^{\circ}\text{C}$) y energía de activación (E_a).....	136
5.5. Acoplamiento de las historias térmicas con el cálculo de la letalidad microbiana de <i>S. aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> para la determinación del tiempo real del proceso de calentamiento	139
5.5.1. Modelo matemático.....	139
5.5.2. Resultados del acoplamiento de las historias térmicas con el cálculo de la letalidad microbiana de <i>S. aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> para la determinación del tiempo real del proceso de calentamiento	140



5.6. Experimentos de inoculación con el patógeno <i>S. aureus</i>	141
5.6.1. Materiales y métodos.....	141
5.6.2. Validación del proceso de pasteurización considerando la inactivación del patógeno <i>S. aureus</i>	141
5.7. Síntesis del Capítulo	142
CAPÍTULO 6	145
TIEMPOS DE CONGELACIÓN Y ATRIBUTOS DE CALIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO CONGELADO	145
6. Introducción.....	145
6.1. Preparación y acondicionamiento de la materia prima.....	148
6.1.1. Materiales y métodos.....	148
6.1.2. Análisis estadísticos.....	149
6.2. Determinación de curvas de congelación en pinzas y en pulpa de cangrejo envasada al vacío	150
6.2.1. Materiales y métodos.....	150
6.2.2. Resultados de las curvas de congelación de pulpa de cangrejo envasada al vacío..	152
6.3. Determinación de las propiedades termofísicas del músculo cocido.....	155
6.3.1. Materiales y métodos.....	155
6.3.2. Resultados de la determinación de las propiedades termofísicas.....	157
6.4. Modelado matemático y simulación numérica de la transferencia de energía en el proceso de congelación, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF)	158
6.4.1. Modelo matemático de congelación de pinzas de cangrejo.....	160
6.4.2. Modelo matemático de congelación de pulpa de cangrejo en “pouches”	164
6.5. Determinación del coeficiente de transferencia calórica en interfase (h) en el túnel de congelación. Curvas de velocidad de enfriamiento en sólidos altamente conductores.....	169
6.5.1. Materiales y métodos.....	169
6.5.2. Coeficiente de transferencia h. Resultados de las curvas de velocidad de enfriamiento en esferas de aluminio.....	171



6.6. Resultados de la simulación y modelado matemático de la transferencia de energía durante la congelación de pinzas y “pouches”, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF).....	173
6.6.1. Seguimiento del punto más caliente en las pinzas de <i>D.patagonicus</i>	177
6.6.2. Efecto de las condiciones operativas en los tiempos de congelación	178
6.7. Observación histológica de cristales de hielo	180
6.7.1. Materiales y métodos.....	180
6.7.2. Resultados de la observación histológica de cristales de hielo.....	181
6.8. Parámetros de calidad de los productos congelados almacenados a -22°C	182
6.8.1. Materiales y métodos.....	182
6.8.2. Pérdida por exudado.....	183
6.8.2.1. Método de medición.....	183
6.8.2.2. Resultados de la pérdida por exudado	183
6.8.3. Índice de oxidación lipídica (TBA).....	184
6.8.3.1. Método de medición.....	184
6.8.3.2. Resultados de la medición de TBA	184
6.8.4. Determinación de humedad	187
6.8.4.1. Métodos de medición.....	187
6.8.4.2. Resultados de humedad.....	187
6.8.5. Medición de pH.....	187
6.8.5.1. Materiales y métodos.....	187
6.8.5.2. Resultados del pH.....	188
6.8.6. Capacidad de retención de agua (CRA).....	190
6.8.6.1. Método de medición.....	190
6.8.6.2. Resultados de la capacidad de retención de agua (CRA).....	190
6.8.7. Color instrumental (Y, xy).....	191
6.8.7.1. Materiales y métodos.....	191
6.8.7.2. Resultados del cálculo de color instrumental (Y, xy).....	192
6.8.8. Evaluación de parámetros sensoriales.....	195



6.8.8.1. Materiales y métodos.....	195
6.8.8.2. Resultados de la evaluación de parámetros sensoriales	196
6.9. Síntesis del Capítulo	198
CAPÍTULO 7	201
REUTILIZACIÓN DE LOS RESIDUOS INDUSTRIALES.....	201
7. Introducción.....	201
7.1. Generación de residuos de cangrejos.....	203
7.2. Obtención de quitina del exoesqueleto de cangrejos.....	204
7.2.1. Materiales y métodos.....	204
7.2.2. Rendimiento en la obtención de quitina	205
7.3. Obtención de quitosano a partir de la quitina del exoesqueleto <i>O. trimaculatus</i>	206
7.3.1. Materiales y métodos.....	206
7.3.2. Porcentaje de quitosano obtenido partir de la quitina del exoesqueleto de <i>O. trimaculatus</i>	207
7.4. Valoración potenciométrica del quitosano.....	207
7.4.1. Materiales y métodos.....	207
7.5. Caracterización de quitina y quitosano por espectroscopía infrarroja (FTIR)	211
7.5.1. Materiales y métodos.....	211
7.6. Síntesis de Capítulo	214
CONCLUSIONES FINALES.....	216
BIBLIOGRAFÍA.....	223



Capítulo

1

Introducción



Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1. Características de las especies

La industria pesquera de la Provincia de Chubut se ha desarrollado con la captura y el procesamiento de un conjunto tradicional de peces y mariscos. En los últimos años, y como consecuencia de la disminución de los recursos pesqueros tradicionales, ha surgido interés desde el sector por recursos con posibilidades de mercado aún no aprovechadas, tales como, las almejas: *Panopea* y *Navaja* (Barón y col, 2004; Lasta y col, 1996), el alga *Undaria pinnatifida* (Casas y Piritz, 1996) y algunos cangrejos de gran porte. Aún así, la explotación y el procesamiento de nuevas especies suele verse retrasada por la falta de capacidades técnicas instaladas en la industria y la flota, lo cual trae como consecuencia un injustificado desaprovechamiento de los recursos naturales y la sobreexplotación de las especies tradicionales. En el litoral marítimo chubutense, en los golfos Nuevo y San Jorge (Argentina, 42°-43°S, 64°-65°O) (Fig 1.1), existen especies de cangrejos reconocidas como recursos pesqueros de valor comercial (Wyngaard, 2001; Leal y col. 2008; Dima y col. 2009) como: el cangrejo nadador *Ovalipes trimaculatus* y el cangrejo pinzas negras *Danielethus* (= *Platyxanthus*) *patagonicus*, entendiéndose por cangrejos a los crustáceos decápodos miembros de los órdenes Brachyura y Anomura. El género de esta última especie, *Platyxanthus patagonicus*, ha sido renombrado recientemente por Thoma y col. (2012) a *Danielethus patagonicus*. Se llama cangrejos a diversos crustáceos del orden de los decápodos (Fig 1.2). Estos crustáceos son muy comunes en las aguas marinas y también los hay de agua dulce y terrestre. Los braquiuros, también conocidos como cangrejos verdaderos, incluyen alrededor de 4.500 especies, mientras que los anomuros contienen cerca de 1.400 especies, entre las que se hallan las centollas, cangrejos hermitaños y langostillas (Collins y col. 2004).

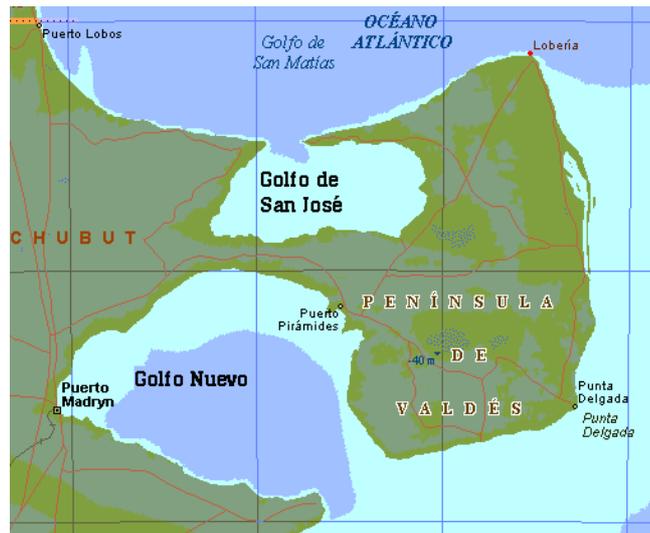


Figura 1.1 Imagen de la ubicación de los golfos Nuevo y San José.

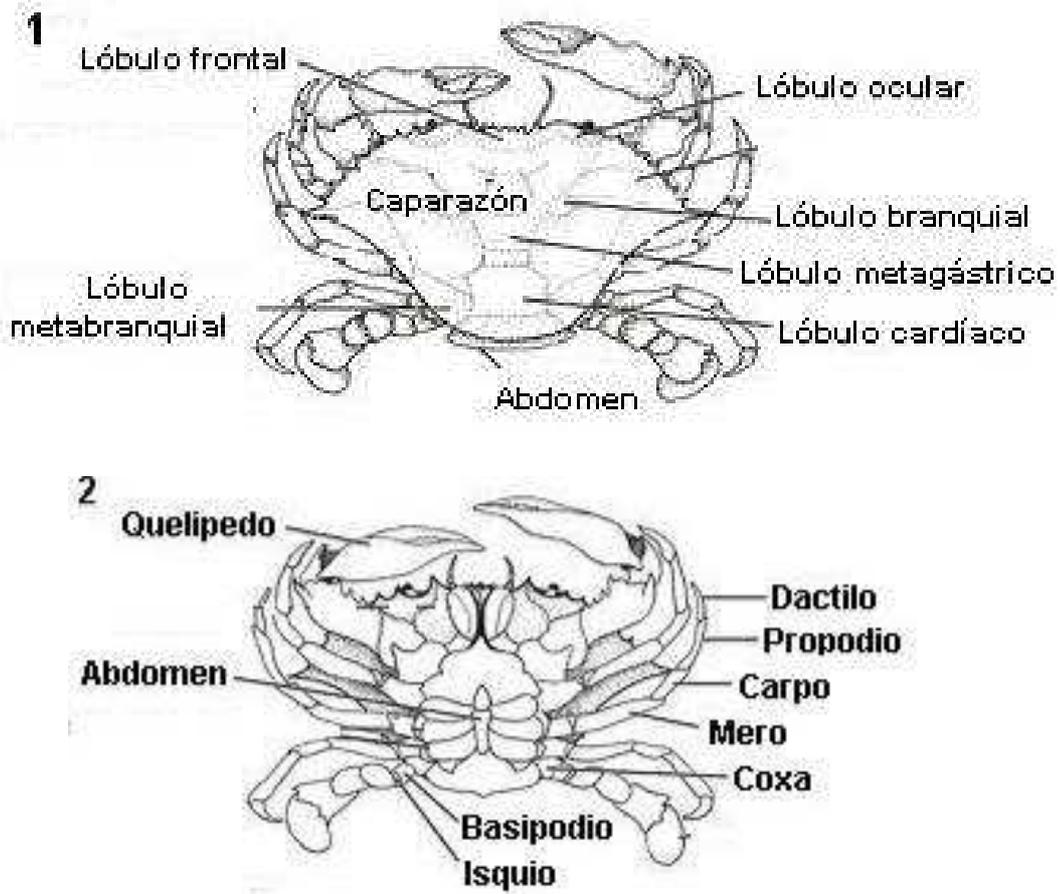


Figura 1.2 Esquema general de la anatomía externa del cangrejo. 1) Frontal, 2) Dorsal.



Su cuerpo está formado por un cefalotórax muy desarrollado, sobre el cual se repliega el abdomen. Sus apéndices torácicos son grandes, principalmente el primero, cuyo extremo distal consta de una pinza. A estos apéndices se les llama comercialmente "pinzas o quelas de cangrejo" y son una de las partes comestibles más importantes. Las pinzas, son usadas para la alimentación, defensa, y el apareamiento (Rosemberg, 2001). Como en todos los crustáceos, el crecimiento ocurre de manera discontinua, debido a la exocutícula rígida que se elimina en cada proceso denominado muda. En dicho proceso el caparazón viejo es remplazado por uno nuevo más delgado y blando, permitiendo el crecimiento del individuo hasta un 30% de su tamaño anterior. La muda varía según la edad, el sexo, la alimentación, el ambiente o la presencia de sustancias xenobióticas, temperatura, estructura poblacional, entre otras variables ambientales. (Collins y Petriella, 1999; Renzulli y Collins, 2000). Este proceso de mudas consiste en uno de los parámetros más importantes a tener en cuenta para el desarrollo sustentable de una pesquería de cangrejos, ya que durante esta etapa: i) el cangrejo en estado de caparazón blando, compensa su nuevo volumen con agua, hasta el desarrollo muscular y la calcificación de su nuevo exoesqueleto, ii) en muchos casos, incluyendo el de las especies en estudio del presente trabajo, la época de apareamiento coincide con la muda de las hembras, por lo cual es recomendable la aplicación de vedas de pesca para asegurar el éxito reproductivo de las especies (Collins y Petriella, 1999; Collins, 2001; Leal y col. 2008). El cangrejo nadador *Ovalipes trimaculatus* (Fig 1.3) (de Haan 1833), es un crustáceo decápodo perteneciente a la familia Portunidae. Esta especie, que habita fondos arenosos y poco profundos presenta un patrón de distribución geográfica muy amplio que abarca áreas del Océano Pacífico Sudeste, Atlántico Sudoeste, África del Sur y Océano Índico. En el litoral de Argentina se presenta en toda la región costera de la provincia de Buenos Aires desde la Bahía Samborombón hasta el litoral de Chubut (Olivier y col. 1966; Stephenson y Rees, 1968). Externamente, *Ovalipes trimaculatus*, es cerca de un cuarto más ancho que largo, posee un caparazón sin rugosidades muy



acentuadas, con dos fuertes depresiones centrales y con una mancha oscura en cada región metabranquial. Sus quelípedos (pinzas) son prácticamente iguales, con palmas con crestas finas en el dactilopodito y propodito; el dactilopodito del último par de patas es aplanado en forma de paleta que le permite la natación (Stephenson y Rees, 1968; Fenucci y Boschi, 1975). Estos cangrejos han sido señalados como un recurso con potencial pesquero (Fenucci y Boschi, 1975), pero hasta el momento no han sido extraídos a nivel industrial. En la actualidad, sólo es explotado en forma artesanal o para consumo doméstico, contrariamente a lo que ocurre con otras especies de cangrejos de la familia Portunidae, como el “cangrejo azul” (*Callinectes sapidus*) en EE.UU. y México, que representa una de las especies de cangrejos más explotadas mundialmente, sosteniendo capturas anuales con valores en el orden de los varios millones de dólares (Rosenfield, 1998).



Figura 1.3 Fotografía de *O. trimaculatus*.

El cangrejo pinzas negras, *Danielethus* (= *Platyxanthus*) *patagonicus* (A. Milne Edwards, 1879) (Fig 1.4), es una especie perteneciente a la familia Platyxanthidae. *D. patagonicus* es un cangrejo de gran porte que se distribuye desde el litoral uruguayo hasta la costa



central de la provincia del Chubut, a profundidades de entre 15 y más de 160 metros (Boschi y col. 1992). Posee un caparazón muy irregular, distinguiéndose perfectamente las regiones del mismo. Sus quelípedos son muy grandes, desiguales, fuertes, y mucho más desarrollados en machos que en hembras. El caparazón y las patas son de color rojizo con dibujos irregulares en sus quelas (Boschi, 1964). En la actualidad, esta especie es muy poco explotada, no registrándose valores de captura; contrariamente a lo que ocurre con otras especies de cangrejos de la familia Platyxathidae y Xanthidae, llamados comúnmente cangrejos de las piedras o “Stone Crabs”, dentro de los cuales se encuentra el “cangrejo moro” (*Menippe mercenaria*), de gran importancia comercial en EE.UU. (Florida), Cuba y México principalmente (Alvarez y Briquets, 1983).



Figura 1.4 Fotografía de *D. patagonicus*.

1.1. Pesquerías y mercados

Contrariamente a lo que ocurre en nuestro país, en otras regiones del mundo, los cangrejos braquiuros son el sustento de pesquerías de gran desarrollo (Boschi, 1964; Miller, 1976). En 1985, su captura mundial los colocó como el segundo grupo de crustáceos más capturados (FAO, 2003). En países de nuestra región, como Chile o Brasil, las capturas de cangrejos suelen ser de varios miles de toneladas (FAO, 2008). A



nivel mundial, en países como EE.UU., México, Japón, las exportaciones de productos de cangrejo procesado han aumentado durante los últimos 20 años, llegando a más de 300.000 toneladas en el 2007, con un valor estimado de más de 2 billones de dólares (FAO, 2008). Si bien en Argentina las capturas de cangrejos son extremadamente bajas, en los últimos años su procesamiento comenzó a generar interés debido a la alta aceptación de su carne y el valor comercial que alcanzan en el mercado.

A nivel mundial, estos crustáceos forman la base de la industria del enlatado y congelado, especialmente en USA, Rusia y Japón. A modo de ejemplos, en la costa este de los EE.UU. y el golfo de México, la pesquería del cangrejo azul (*Callinectes sapidus*) ha sostenido capturas anuales cuyo valor ha estado en el orden de los millones de dólares en años recientes. En Brasil, esa misma especie ha dado sustento a una explotación artesanal de gran importancia socioeconómica para la región (Branco y Masunari, 2000). Entre las especies de cangrejos de mayor valor comercial se incluyen: el cangrejo Dungeness (*Cancer magister*), el cangrejo azul (*Callinectes sapidus*), el cangrejo moro (*Menippe mercenaria*), el cangrejo de Jonas (*Cancer borealis*), las centollas (varias especies de la familia Paralithodes), el cangrejo de las nieves (*Chionocetes bairdi*, *C. opilio*, *C. tanneri*) y el cangrejo rojo o amarillo (*Gerión quinquegens*) (Osterling, 2000). Otras especies importantes que se encuentran en todo el mundo incluyen: el buey de mar (*Cancer pagurus*), el cangrejo de arena (*Portunus pelagicus*), el cangrejo Gazami (*Portunus trituberculatus*) y el cangrejo de manglar o lodo (*Squilla serrata*) entre otros. Las centollas o cangrejos *lithodidos* constituyen un recurso natural de alto valor comercial. En el Pacífico Norte, varias especies son explotadas desde principios de siglo, entre ellas se encuentran, la centolla de Alaska o "red king crab" (*Paralithodes camtschaticus*), la centolla azul (*P. platypus*), y la dorada (*Lithodes aequispina*). La explotación comercial de estas especies fue realizada por EE.UU. y Rusia, siendo estos países, durante 1983-1992, los responsables del 90% del total de los desembarques mundiales (FAO, 1994). Al sur del paralelo 40°S, en las costas Pacífica y Atlántica de



América del Sur, se desarrolla la pesquería de centolla (*Lithodes santolla*) y el centollón o falsa centolla (*Paralomis granulosa*), explotadas y comercializadas por Argentina y Chile. En las costas de Tierra del Fuego, especialmente en el Estrecho de Magallanes y Canal Beagle, ambas especies son frecuentemente capturadas por medio de trampas (Lovrich, 1997). Los principales compradores de esta pesquería son en primer lugar EE.UU., seguidos por Japón y los países europeos (Lovrich, 1997). Una de las especies de cangrejo más comunes en nuestra región es el cangrejo rojo (*Chaceon notialis*), que se distribuye en el Océano Atlántico Sudoccidental (OAS), principalmente en aguas uruguayas. *C. notialis* es endémico de aguas profundas, extendiéndose entre las latitudes 33°S y 43°S (Spivak, 1997), para aguas de la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya (ZCPAU) del OAS. La explotación comercial de este recurso comenzó en 1993 (Defeo y Masello, 2000), pero desde el año 2002, la pesquería es evaluada anualmente, ampliándose la zona de estudio hasta profundidades de 1600m, con el fin de establecer medidas de manejo en base a un enfoque precautorio. Por último, podemos destacar los cangrejos del género *Callinectes*, abundantes en las zonas estuarinas, principalmente en la costa de América Intertropical; se capturan utilizando un "aro jaibero" y la "atarraya"; y forman parte de la fauna de acompañamiento en la pesca del camarón (SUBPESCA, 2007). En México la pesquería comercial de jaibas se realiza principalmente en Tamaulipas y Veracruz representando un 30% del consumo total doméstico (SEMARNAP, 1999). Entre las principales especies de jaibas podemos destacar por su demanda internacional: la jaiba azul (*Callinectes sapidus*), la jaiba enana (*Callinectes similis*), la jaiba de mar (*Arenaeus cribarius*) y la jaiba mora (*Homalaspis plana*) (SUBPESCA, 2007). La producción de jaibas alcanzó en 1988, un total de 9.147 toneladas, de las cuales 2.766 se capturaron en el Pacífico y 6.381 en el Atlántico. (FAO, 1994). En términos generales, las capturas de cangrejos suelen estar en el orden de varios miles de toneladas (FAO, 2008) y representan el sustento de varias pesquerías a



nivel mundial. La Figura 1.5 muestra los valores de capturas totales de cangrejos para el continente Americano reportados por la FAO (2008).

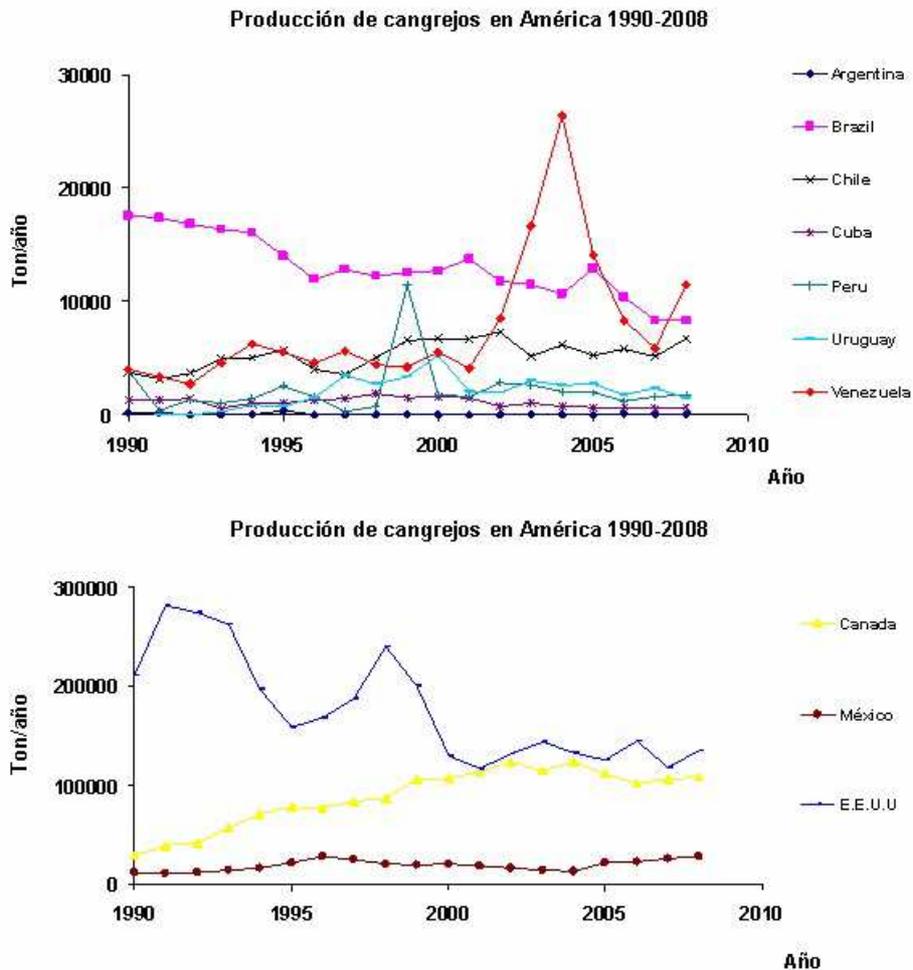


Figura 1.5 Valores de capturas totales de cangrejos en países de América, FAO (2008).

1.2. Características de la carne

La textura y el sabor de estos crustáceos, sumado a su vistosa apariencia son los factores que han contribuido a su gran demanda en los mercados internacionales. Otra característica es que son considerados una fuente de alto valor nutritivo, debido a su contenido en aminoácidos esenciales, ácidos grasos polinsaturados y proteínas (Galetti, 2010). La composición bioquímica de la carne de cangrejo depende de cada especie y de varios factores biológicos y ecológicos. En general, la carne de cangrejo se puede



considerar principalmente una fuente de proteínas y agua, con un bajo contenido graso (Edwards y Early, 1976; Naczk y col. 2004, Dima y col. 2009). Las proteínas de los crustáceos contienen casi todos los aminoácidos esenciales y al igual que las proteínas de la leche y de la carne de mamíferos, poseen un alto valor biológico. El alto grado de asimilación de la proteína del cangrejo se debe especialmente a la clase de aminoácidos existentes, sobre todo en lo referente a los aminoácidos esenciales como: treonina, valina, leucina, isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina, triptófano, histidina y arginina. Varios reportes han destacado la presencia de: ácido glutámico (151mg/g), ácido aspártico (99mg/g), arginina (99mg/g), lisina (81mg/g) y leucina (77mg/g), formando proteínas de alta calidad con composiciones bien equilibradas de aminoácidos esenciales (Naczk y col. 2004; Vilasoa-Martínez y col. 2007). Los ácidos grasos representan un porcentaje alto en la carne de cangrejo; dentro de los más importantes se encuentran: el ácido oleico (18:1), el ácido palmitoleico (16:1), el ácido palmítico (16:0) y el ácido linoleico (18:2 n₆), en porcentajes aproximados de 31,0, 14,3, 14,2 y 11,9, respectivamente (De-Wei Chen y col. 2007). Por otro lado, la carne de cangrejo es una fuente importante de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) que es importante para la salud, sobre todo en la generación de colesterol de alta densidad (De-Wei Chen y col. 2007). Al mismo tiempo la carne de cangrejo presenta una excelente fuente de minerales, especialmente zinc, hierro y fósforo (Gökođlu y Yerlikaya, 2003). Además de su importancia en la dieta, las proteínas afectan la textura de los alimentos, como también lo hacen los pequeños péptidos y aminoácidos, que contribuyen a la alimentación y buen sabor de su carne (Vilasoa-Martínez y col. 2007). Dentro del grupo de proteínas más importantes se encuentran las proteínas miofibrilares; correspondiendo casi las tres cuartas partes a las proteínas contráctiles (miosina, actina y actomiosina entre las principales) y destacándose al mismo tiempo la presencia de tropomiosina y paramiosina (Mizuta y col. 2001; Benjakul y Sutthipan, 2009). Estas proteínas son muy inestables durante el almacenamiento en congelado, ya que se alteran rápidamente sus propiedades



funcionales (Tornberg, 2005). También se encuentran presentes las proteínas sarcoplásmicas, que son solubles en agua e incluyen algunas enzimas y transportadores de oxígeno. Por otro lado se encuentran también las proteínas del estroma, las cuales no son solubles, excepto en soluciones de sal concentrada o exposición a altas temperaturas, incluyéndose en este grupo el colágeno y la elastina (Li, 2006). El estudio de las proteínas musculares de diferentes especies marinas se ha enfocado mediante la determinación de los parámetros cinéticos de sus transiciones endotérmicas tales como la entalpía de desnaturalización y la energía de activación (Rattanasatheirn y col. 2008; Paredi y col. 1998; Park y Lanier, 1989). El conocimiento de las mismas resultará de gran importancia en la transformación de la carne de cangrejo para la obtención de productos.

1.3. Etapas del procesamiento

Senkel y col. (2005) describieron las etapas que se siguen en la industria del cangrejo azul para la obtención de un producto a base de la carne de cangrejo fresco; los mismos incluyen: la recolección manual, la cocción, la refrigeración, el embalaje y el transporte (Senkel y col, 2005). La carne de cangrejo también es pasteurizada y/o congelada, en un proceso similar al mencionado, para lograr una mayor vida útil (Trenholm, 1998). Las formas de comercialización de productos a base de carne de cangrejo difieren según el mercado y la especie. Los cangrejos pueden comercializarse como cangrejos enteros vivos, como pulpa pasteurizada y refrigerada o como productos congelados o enlatados (Edwards y Early, 1976; Gates y col. 1993). En general, los productos a base de cangrejo son envasados de manera natural sin aditivos ni preservadores, mediante un proceso que permita conservar intacta la carne, tal como lo exigen los consumidores en Europa y Estados Unidos (Parry, 1995). Como se describió anteriormente, la obtención de un producto a base de carne de cangrejo implica varios procesos: cocción, extracción de carne, pasteurización, congelado y almacenamiento, entre otros procesos posibles. Los métodos y parámetros de cocción provocan cambios en la textura, rendimiento, sabor y otras propiedades fisicoquímicas de la carne de cangrejo (Burton y Robert, 1972; Li,



2006). Por otro lado, la optimización del proceso de pasteurización como base de inactivación de microorganismos patógenos previo al proceso de congelación del producto final, resulta de suma importancia para la seguridad del alimento (Trenholm, 1998). Asimismo, la congelación y el posterior almacenamiento a bajas temperaturas son operaciones importantes para su preservación. En el proceso de congelación, la formación y el crecimiento de los cristales de hielo producen modificaciones en el producto. Los componentes celulares solubles pueden saturarse y precipitar; modificaciones en el pH pueden afectar los complejos coloidales; cambios muy marcados en la presión osmótica pueden romper las membranas semi-permeables afectando su capacidad de retención de agua y alterando sus cualidades organolépticas como textura y color durante el almacenamiento (Kolbe y Kramer, 2007). Dado que existen diferentes formas y tamaños de cangrejos, con fisiología y composición bioquímica diferentes, el estudio particular de cada proceso de transformación de la materia prima será característico de cada especie. Por lo expuesto anteriormente, el estudio de las etapas del proceso productivo, resulta de gran importancia a fin de establecer los métodos y parámetros óptimos de industrialización para la transformación y obtención de productos de valor agregado a base de carne de cangrejo.

1.4. Proceso de cocción (Calentamiento primario)

Es importante destacar que en el proceso de industrialización del cangrejo los individuos deben ser mantenidos vivos hasta su procesamiento, ya que rápidamente después de la muerte su carne sufre alteraciones irreversibles de origen químico, enzimático, y microbiológicos que impiden su comercialización (Codex Alimentarius, 1983). La cocción es el primer paso esencial en el procesamiento para la extracción de la carne de cangrejo (Burton y Robert, 1972; Edwards y Early, 1976; Codex Alimentarius, 1983). Un calentamiento correcto: 1) permite la separación de la carne del exoesqueleto, 2) disminuye la población bacteriana y 3) otorga al producto el olor, color y sabor característico de la carne de cangrejo.



Las proteínas de los productos marinos son más susceptibles a la desnaturalización que las proteínas de las carnes rojas (Huss, 1998). El tratamiento térmico de los tejidos de la carne produce alteraciones químicas en los residuos de aminoácidos que forman nuevos enlaces intra o intermoleculares. Estos cambios pueden alterar las propiedades funcionales y nutricionales de las proteínas, y dependen del tiempo y las condiciones de temperatura de los tratamientos aplicados (Baxter y Skonberg, 2007; Skipnes, 2008). Por lo tanto, el estudio del comportamiento térmico de las proteínas miofibrilares es tecnológicamente importante en la predicción y la determinación de la calidad final de los productos a base de pulpa de cangrejo.

Existen diferentes métodos de calentamiento reportados para la industria de cangrejo. Varios autores sugieren el calentamiento por inmersión en agua, que otorga mayor humedad al producto, lo cual se traduce en una retención de agua por parte de las fibras musculares otorgando mayor rendimiento a un menor costo de instalación (Moody, 1982, Trenholm, 1998; Quitral-Robles y col. 2003); al mismo tiempo el calentamiento por inmersión permite la difusión de compuestos no deseados al agua de cocción (Baxter y Skonberg, 2008). Por el contrario, el calentamiento con vapor, otorga un mejor “flavor” a la carne, resaltando propiedades organolépticas como el aroma, debido a la retención de compuestos aromáticos característicos de dichas especies (Ward y col. 1983; Chung, 1999). Sin embargo, dado que los crustáceos poseen mayor concentración de amoníaco en relación a los vertebrados (Kaushik, 2000), podría causar un exceso de producción de aminas debido al uso de elevadas temperaturas (Quitral-Robles y col. 2003). La adición de cloruro de sodio en el agua de cocción, entre un 2 y 3%, es frecuentemente utilizada ya que mejora la capacidad de formación de geles de las proteínas mediante la extracción de proteínas solubles en sal (Baxter y Skonberg, 2008); sin embargo, las dietas con contenido de cloruro de sodio se han asociado con enfermedades cardiovasculares y los fabricantes de alimentos intentan la sustitución de la sal en sus productos (Zayas, 1997). Independientemente del método utilizado, es esencial que



durante esta etapa el calentamiento sea uniforme; una cocción en exceso hace que la carne se contraiga excesivamente, provocando pérdida de humedad y disminución del rendimiento (Quitral-Robles y col. 2003; Baxter y Skonberg, 2007), mientras que un calentamiento insuficiente dificulta la separación de la carne del caparazón.

La utilización de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para el estudio de la desnaturalización de las proteínas durante la cocción es considerada la técnica más adecuada para estudiar la energía de las transiciones y plegamiento-desplegamiento de las proteínas en productos marinos (Hastings y col. 1985). La técnica de DSC permite la caracterización termodinámica de los cambios conformacionales inducidos por los cambios de temperatura en las proteínas, ácidos nucleicos y biomembranas. El propósito de la técnica es el estudio de los cambios en la entalpía que ocurren cuando se varía la temperatura del sistema de forma programada. El equipo dispone de dos celdas, una de referencia (que en general suele ser una cápsula vacía) y la otra para la muestra. A ambas celdas se las somete a un aumento programado de temperatura, de manera que la muestra y la referencia se mantengan a la misma temperatura, analizándose los cambios entálpicos que se producen en el sistema. Varios autores han reportado las temperaturas y entalpías de desnaturalización de proteínas para diferentes especies marinas (Paredi y col. 1998; Rattanasatheirn y col. 2008; Benjakul y Sutthipan, 2009), que ayudan al estudio de las transiciones de las proteínas durante diferentes procesos tecnológicos a las que son sometidas. La tecnología de calentamiento utilizada para la cocción de los cangrejos es un factor importante en el proceso de industrialización de dichas especies ya que no sólo influye sobre la cantidad de carne a extraer, sino también sobre la calidad fisicoquímica de la carne cocida de los mismos. Si bien existe variada bibliografía sobre tiempos y formas de cocción (Codex Alimentarius, 1983; Edwards y Early, 1976; Ward y col. 1983; Trenholm, 1998), es difícil determinar períodos de calentamiento de un modo general debido a las diferencias de tamaño, estructura y fisiología particular de cada especie de cangrejo. Por ello la determinación de tiempos y



método de cocción para las especies de *O. trimaculatus* y *D. Patagonicus* requerirá de un estudio particular de las mismas.

1.5. Separación de la carne

Normalmente la extracción de la carne de cangrejo se realiza en forma manual. La misma es separada y clasificada por el operario en diferentes secciones; según de donde se extraiga la carne poseerá un valor diferencial en el mercado (Trenholm, 1998). Existen métodos alternativos a la extracción manual, tales como el uso de chorros de aire comprimido, sistemas de aspiración, desprendimiento por vibración o por uso de fuerza centrífuga, rodillos y molienda a martillo con posterior separación de las partes blandas por diferencia de densidad en solución de salmuera. Sin embargo, generalmente rinden menores cantidades de carne comestible y menor calidad del producto (Gillman, 2001; Ward y col. 1983; Edwards y Early, 1976). Por ello, la extracción de la carne de cangrejo se sigue realizando de forma manual, considerando que un personal entrenado puede extraer mayor cantidad de carne y producir un prolijado y clasificado de la materia prima al mismo tiempo (Gillman, 2001; Edwards y Early, 1976; Trenholm, 1998). La evaluación del rendimiento en carne de organismos sujetos a explotación comercial representa un pre-requisito para su explotación (Zugarramurdi y col. 2003; Galetti, 2010). El rendimiento en carne de cangrejos permitirá determinar la cantidad de individuos que deben ser explotados para obtener un volumen mínimo de producto que garantice la rentabilidad de la operación de una planta o línea de producción particular, así como el número de operarios, el tiempo de operación y la capacidad de almacenamiento de cangrejos vivos y de sus productos derivados (Gates y Parker, 1992; Galetti, 2010). Para conocer el rendimiento en carne de las especies de cangrejo deben tenerse en cuenta: la morfometría, el sexo, el estadio de muda, la sección corporal de la cual se extrae la carne y la técnica empleada para lograr el desprendimiento de la carne, entre otros factores (Gates y Parker, 1992; Cifuentes y Quiñinao, 2000; De-Wei Chen y col. 2007; Barrento y col. 2009). Estimaciones sobre cangrejos comerciales muestran que los rendimientos en



algunas especies alcanzan valores de hasta el 39% (Edwards y Early, 1976; Cifuentes y Quiñinao, 2000; Yomar-Hattori y col. 2006). La extracción de la carne comestible de cangrejo, representa quizás la etapa más crítica en el procesamiento de la misma. Por un lado, dicha extracción debe ser realizada en el menor tiempo posible para evitar la contaminación microbiana debido a la excesiva manipulación (Codex Alimentarius, 1983), dado que, la mayor probabilidad de contaminación de la carne se produce en esta etapa y depende fundamentalmente de los sistemas de saneamiento y de la higiene de la planta. Por otro lado, la misma influye sobre la cantidad de carne que un empleado entrenado o maquinaria pueda extraer, lo cual repercute directamente en el análisis de costos (Yomar-Hattori y col. 2006). Por lo tanto resulta de gran interés analizar el rendimiento en carne de cangrejo, discriminando el estudio entre las especie de trabajo.

1.6. Pasteurización (Calentamiento secundario)

La mayoría de los productos a base de carne de cangrejo se consideran listos para consumir y son generalmente de alto riesgo de contaminación bacteriana debido a la manipulación postcocción necesaria para la obtención de su carne (Senkel y col. 2005). La pasteurización, el uso de bajas temperaturas y la eliminación de oxígeno, son las metodologías principales que se utilizan en el procesamiento de la carne de cangrejo fresco para evitar la proliferación de microorganismos (Gillman, 2001; Galetti, 2010). Cualquier bacteria presente en los equipos o utensilios de trabajo, áreas de la planta o personal infectado, es decir, ya sea por una deficiencia en la seguridad sanitaria o una enfermedad o lesión del personal de trabajo puede ser transferida a la carne, ya que son consideradas las fuentes principales de contaminación (Edwards y Early, 1976; Trenholm, 1998). Entre los patógenos más comunes y de fácil contaminación para los productos a base de carne de cangrejo se encuentra el *Staphylococcus aureus* (Huss, 1997). Los estafilococos son organismos de fácil contagio ya que se pueden encontrar en el agua, el aire, y en todos los artículos que entran en contacto con el hombre. La tasa de portadores humanos puede ser hasta del 60% de los individuos sanos (Huss, 1997). Hay varios



agentes patógenos que podrían estar presentes en un producto de pulpa de cangrejo picada y que podrían plantear problemas de seguridad alimentaria. Dentro de los agentes patógenos de principal preocupación se reporta también *Listeria monocytogenes* (Gillman, 2001; Trenholm, 1998). *L. monocytogenes* está ampliamente distribuida en el medio ambiente y se pueden encontrar en una serie de productos alimenticios incluyendo carne vacuna, aves y mariscos (Huss, 1997). *L. monocytogenes* no es térmicamente resistente y si los productos son debidamente calentados se destruye (Jay, 2000). En la actualidad la FDA (Food and Drug Administration) de los Estados Unidos de Norteamérica exige la ausencia de *L. monocytogenes* en productos pesqueros listos para el consumo (Huss, 1997), ya que la listeriosis es particularmente peligrosa y puede ser letal para los bebés, niños y personas inmunodeprimidas. Para caracterizar la velocidad de muerte de los microorganismos durante el proceso de pasteurización se utiliza frecuentemente el factor de reducción decimal D, y el valor z. Una vez que el valor D y el valor z son hallados, se debe determinar el tiempo al que debe someterse el producto al tratamiento térmico para producir letalidad en el microorganismo objetivo. El saneamiento y la higiene estricta asegurarán un nivel reducido de actividad bacteriana (Huss, 1997; Codex Alimentarius, 1983). El Codex Alimentarius (1983) ha recomendado para la pasteurización de carne de cangrejo envasada un calentamiento de 85°C manteniendo dicha temperatura durante un minuto. Sin embargo se han reportado varios trabajos donde la utilización de temperaturas tan altas puede producir cambios no deseados en la carne durante su posterior almacenamiento (Gates y Parker, 1992; Gates y col. 1993; Trenholm, 1998). Por lo expuesto resulta de gran importancia analizar el proceso de pasteurización posterior a la extracción de la carne de cangrejo, para asegurar la calidad bacteriológica del producto final que se va a comercializar.

1.7. Envasado de la materia prima

Luego de que la carne se extrae del exoesqueleto, debe ser inmediatamente colocada en contenedores para la pasteurización y el posterior congelado. Los productos que han sido



envasados y pasteurizados dentro del período de una hora, evitan notablemente la proliferación de microorganismos (Codex Alimentarius, 1983).

Los crustáceos en general se pueden comercializar en latas como conserva, en bandejas de porexpan, cartón o bolsas de plástico si se ofrecen como productos congelados o refrigerados. En respuesta a los nuevos hábitos de consumo, en relación al gran interés por los productos frescos y “naturales”, la industria agroalimentaria ha implementado paulatinamente tecnologías de producción y conservación que garantizan la calidad higiénica de los alimentos y que prolongan su vida útil. Estudios realizados por Mohan y col. (2006) han demostrado la posibilidad de usar bolsas termocontraíbles para el procesamiento térmico. Los resultados obtenidos muestran determinadas ventajas en estos envases como pueden ser: un menor peso del envase, menor espacio para el almacenamiento, facilidad para la apertura y la preparación y un menor tiempo de exposición al calor, lo cual se traduce en un producto de mejor calidad. Por otro lado, la utilización de envases en atmósferas modificadas o la utilización de vacío parcial para el envasado de productos frescos también es de gran ayuda en la protección de la materia prima (Parry, 1995; Kivançli Jimenez Martinez, 2007). El proceso de envasado al vacío implica el envasado del producto en film de baja permeabilidad al oxígeno y el sellado después de realizar la evacuación parcial del aire. En función de las propiedades de barrera del film empleado se limita la entrada del oxígeno desde el exterior retardando el crecimiento bacteriano, entre otras ventajas (Parry, 1995). Las tecnologías de envasado en atmósfera protectora o al vacío permiten un cierto control sobre las reacciones químicas, enzimáticas y microbianas responsables del deterioro de los alimentos durante su almacenamiento y comercialización, asegurando la calidad de los alimentos y prolongando su vida útil. La etapa de envasado, también debe realizarse en un período breve, tratando de evitar cualquier contaminación posible. Independientemente del envase a utilizar, los materiales para envasar no deben comunicar al producto materias tóxicas o peligrosas u olores o sabores desagradables, y lo deberán proteger contra los



daños mecánicos y el deterioro microbiológico, químico y enzimático (Codex Alimentarius, 1983).

1.8. Congelación

La calidad que se exige a los alimentos que se comercializan a nivel internacional es propia del mercado de destino. Esta situación obliga a estudiar y mejorar continuamente las estrategias relacionadas a la obtención del producto y su mantenimiento hasta el momento de su comercialización. La congelación es uno de los métodos más utilizados en la conservación de alimentos, el mismo se basa en convertir el agua en hielo, esta separación del agua en forma de hielo produce una disminución de la actividad acuosa y las bajas temperaturas contribuyen a disminuir la actividad enzimática y el desarrollo de microorganismos (Gruda y Postolski, 1986). Cada especie puede ser influenciada de diferentes formas por la física de la congelación del sistema y para cada especie puede haber diferentes requisitos del mercado que influirán en las decisiones sobre el proceso de congelación. En el caso particular de la carne de cangrejo, la misma no debe congelarse sin previo tratamiento térmico (Edwards y Early, 1976). Por otro lado, la congelación rápida es esencial para mantener la calidad de la carne de cangrejo o productos a base de su carne (Edwards y Early, 1976). Los crustáceos, son más comúnmente congelados utilizando túneles de aire continuo, placas de contacto, congeladores de lecho fluidizado y en algunos casos inmersión en salmuera (Kolbe y Kramer, 2007; Codex Alimentarius, 1983). En el primer caso se utiliza un sistema de impulsión de aire frío y serpentines de refrigeración; los túneles de refrigeración son muy versátiles y se adaptan a productos de diversas formas y tamaños. En los congeladores de placa, la congelación es por contacto del producto que se coloca entre las placas por las cuales circula el refrigerante; la misma se adapta a sistemas de geometría plana pero presenta limitaciones en cuanto al espesor de las piezas a congelar. El sistema de lecho fluidizado (Congelación IQF) es adecuado para partículas pequeñas y uniformes, las cuales se suspenden en un flujo ascendente de aire frío (Zaritzky, 1997; Kolbe y Kramer,



2007). Por último, la congelación por inmersión, donde el producto se coloca en salmuera fría, es utilizada en las embarcaciones para el congelado de los cangrejos enteros o seccionados, a condición de que se ponga el mayor cuidado en evitar una penetración excesiva de sal (Codex Alimentarius, 2003). En todos los casos se recomienda que la carne alcance una temperatura menor o igual a -18°C en el punto más caliente (SENASA Argentina; Huss, 1998; Codex Alimentarius, 1983). La velocidad de congelación es importante para evaluar la calidad del producto; cuanto más rápido desciende la temperatura mayor será la velocidad de nucleación y formación de cristales de hielo. Si la velocidad de congelación es rápida, la velocidad de crecimiento de los cristales de hielo se producirá en forma regular, formándose numerosos cristales de hielo, pequeños y homogéneos, por el contrario, si la congelación es lenta se forman menos cristales de hielo, más grandes e irregulares (Zaritzky, 1997,2010; Kolbe y Kramer, 2007). Normalmente los cristales comienzan a crecer en los espacios extracelulares, esos cristales deshidratan a las células musculares al mismo tiempo que se forman cristales grandes, no homogéneos, que pueden dañar el tejido generando durante la descongelación una gran pérdida de agua (Zaritzky, 1997,2010; Kolbe y Kramer, 2007). Los términos "rápido" y "lento" cuando se refiere a la congelación dependen en realidad del producto a congelar (Edwards y Early, 1976). El Instituto Internacional de Refrigeración propone diferentes características según los diferentes equipos, las mismas se expresan en la Tabla 1.1. Los congeladores de flujo de aire se encuentran dentro de los equipos más utilizados en la industria del congelado de cangrejo y otros productos marinos (Codex Alimentarius, 1983; Kolbe y Kramer, 2007). Entre ellos se utilizan los congeladores de espiral y túneles continuos. En los túneles actuales el flujo de aire es vertical y para evitar la canalización del aire se debe distribuir homogéneamente el producto en la cinta (Heldman, 1981). La velocidad y tiempo de congelación son variables fundamentales a los efectos de obtener un producto de calidad para las especies de cangrejo.



Tabla 1.1 Velocidad de congelación definida según el International Institute of Refrigeration.

Congelación	Velocidad (cm/h)	Equipo
Congelado lento	0,2	Congeladores de aire estático
Congelado medio	0,5 a 3	Túneles de aire a presión, Congeladores de placa
Congelado rápido	5 a 10	IQF
Congelado ultra-rápido	10 a 100	Nitrógeno Líquido

Si las condiciones de congelación son inadecuadas se tendrá como resultado una rápida pérdida de sabor y las fibras musculares se volverán secas y duras provocando la pérdida de su textura (Kolbe y Kramer, 2007).

Los problemas de calidad asociados a la congelación de los productos marinos son la oxidación de lípidos, deshidratación, pérdida de jugosidad y exudado excesivo durante la descongelación (Kolbe y Kramer, 2007; Huss, 1998). Para reducir la oxidación se recomienda la reducción del oxígeno disponible por empaque al vacío o en atmósferas inertes, evitar su contacto con metales pesados, protección de la luz e irradiaciones y uso de temperaturas de almacenamiento muy bajas. La deshidratación se controla con un envase adecuado y la exudación mediante prácticas adecuadas de congelación, almacenamiento y descongelación.

Existen numerosos reportes sobre tiempos y temperaturas de congelación, los cuales varían con la especie y el producto final que se desea obtener (Kolbe y Kramer, 2007; Cifuentes y Quiñinao, 2000; Rebach y col. 1990; Morrison y Veitch, 1957). Saber cuánto tiempo el producto debe mantenerse en el equipo de congelación es muy importante para su óptima congelación. La capacidad de un congelador para convertir rápidamente los productos frescos en congelados depende de factores tales como su capacidad de carga de productos y la potencia de los equipos de frío. Por lo expuesto resulta necesario estudiar el proceso de congelación, modelar matemáticamente la transferencia de



energía en sistemas complejos de geometría irregular y determinar los tiempos de congelación de los productos que se desean obtener.

1.9. Modelado matemático de los procesos de transferencia de energía

La industria alimentaria requiere la utilización del modelado matemático y las simulaciones numéricas a los efectos de predecir tiempos de proceso en alimentos sometidos a operaciones de transferencia de energía tales como la congelación o tratamientos térmicos. La modelización matemática ha sido ampliamente utilizada en las operaciones de procesamiento de alimentos, basándose en los mecanismos de transporte fundamentales que rigen el proceso descrito por ecuaciones diferenciales a derivadas parciales (Datta, 2006). Los modelos numéricos tienen ventajas sobre las soluciones analíticas, ya que se pueden aplicar sobre geometrías irregulares con propiedades térmicas y físicas variables (Erdoğdu, 2010). La simulación computacional en la industria alimentaria, desde el punto de vista de la ingeniería, resulta primordial para contar con métodos de determinación de tiempos de procesamiento, demostrado una ventaja en términos de costos y tiempos de desarrollo, ayudando a optimizar la seguridad alimentaria y la calidad del proceso. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la simulación numérica resulta útil siempre y cuando el modelo haya sido validado experimentalmente. Problemas de transferencia de calor en productos marinos fueron analizados por Erdoğdu y Balaban (2010). Mokhtar y col. (2004) utilizaron una metodología numérica de ecuaciones diferenciales finitas para modelar y explicar los problemas de transferencia de calor en paquetes de pescado durante la etapa de preenfriamiento. El método de elementos finitos (MEF) se utiliza para la solución de problemas de conducción de calor (Seegerlind, 1984), y tiene la gran ventaja de poder resolver mejor los problemas donde el objeto es de geometría irregular con regiones definidas (dominios) de diferente composición. El MEF se ha utilizado para la simulación numérica de precocción y enfriamiento del atún (Zhang y col. 2002). En el caso de los cangrejos, las publicaciones sobre modelos matemáticos y simulaciones numéricas de



transferencia de calor utilizando el MEF son escasas (Dima y col. 2012). El método resulta de gran utilidad para el cálculo de tiempos óptimos de los procesos necesarios para el desarrollo de la tecnología de las diferentes etapas que involucran la obtención de productos a partir de cangrejos.

1.10. Revalorización de los desechos de crustáceos

En la industrialización de carne de crustáceos, el exoesqueleto restante de la remoción de carne y vísceras, representa cerca del 50% del peso total del ejemplar (Mármol y col. 2004; Covas, 2006). Estos desechos constituyen un contaminante rico en quitina, que puede ser valorizado si se diseña y aplica un método de extracción adecuado. La quitina comercial se extrae a partir de desechos de crustáceos de la industria pesquera, siendo las principales fuentes los caparazones de cangrejo, camarón, langostino y langosta (Velásquez, 2008). Este polímero está compuesto por aminoazúcares unidos entre sí por enlaces glicosídicos β (1-4) formando una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa, algunas de las cuales se encuentran desacetiladas. En promedio, la quitina natural posee un grado de acetilación (DA) de 0,66, es decir, que una de cada tres de sus unidades se encuentran desacetiladas (Abdullin y col. 2009). La mayor parte de las técnicas desarrolladas para la extracción de quitina se basan en procesos químicos de hidrólisis de la proteína y remoción de la materia inorgánica (parte calcárea). El rendimiento en quitina por gramo de caparazón triturado de cangrejo varía entre un 7 y 25% dependiendo de la fuente y del proceso empleado para su obtención (Tsung Yen, 2009; Covas, 2006). Una hidrólisis alcalina fuerte se utiliza para producir la desacetilación de la quitina y obtener quitosano (Alvarado y col 2005; Covas, 2006). El quitosano posee propiedades filmogénicas únicas y se le atribuyen además propiedades antifúngicas (Ávila y col. 2012). Este polímero abundante con capacidad de formación de films y muchas otras aplicaciones a nivel industrial se utiliza en la elaboración de textiles, cosméticos, productos químicos y medicinales, como así también en el tratamiento de aguas (Velásquez, 2008). La amplia variedad de sus funciones se correlaciona con un alto



número de productos en el mercado, y para cada aplicación existen distintos grados de pureza y variedades de formatos de comercialización. Es así que el quitosano está presente en forma líquida como pesticida, en escamas, en polvo, en hilo de suturas, en bandas sanitarias y en cápsulas. Los precios varían ampliamente, por ejemplo, el quitosano en polvo refinado para uso humano ronda los U\$S 20 el kilo (FOB) (IFOPESCA, 2006), aunque si está tratado para ser soluble en agua o para aplicación directa, ese precio puede más que duplicarse. Los principales productores mundiales son Japón y EE.UU. También existe una producción considerable en India, Italia y China. Además de la extracción de quitina y quitosano, existen pigmentos carotenoides, aromatizantes y enzimas que se han extraído de los exoesqueletos de dichos crustáceos (Sachindra y col. 2006). Los pigmentos extraídos de los exoesqueletos de crustáceos son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica y alimenticia debido a sus propiedades antioxidantes. La extracción de pigmentos como la astaxantina se ha utilizado para la formulación de alimentos para la industria acuícola de salmónidos (Herrera-Andrade y col. 2011). Las proteínas presentes en su caparazón representan una fuente rica en aminoácidos como leucina, valina y lisina, demostrando su excelente potencial para uso en formulaciones proteicas (Covas, 2006). Por lo expuesto, es importante como parte total del proceso industrial de obtención de carne de cangrejo el estudio del aprovechamiento de los residuos de dicha industria alimentaria.



Objetivos



OBJETIVOS

El objetivo general del presente plan de trabajo doctoral es desarrollar un proceso integral óptimo para la obtención de productos congelados a base de carne cocida de especies marinas de cangrejos patagónicos: *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus (=Platyxanthus) patagonicus*. El proceso industrial propuesto contempla múltiples operaciones desde el ingreso de la materia prima a planta hasta la salida del producto final, como así también el tratamiento de los desechos generados durante el proceso de industrialización de dicho alimento.

Los objetivos específicos para cada etapa del proceso son:

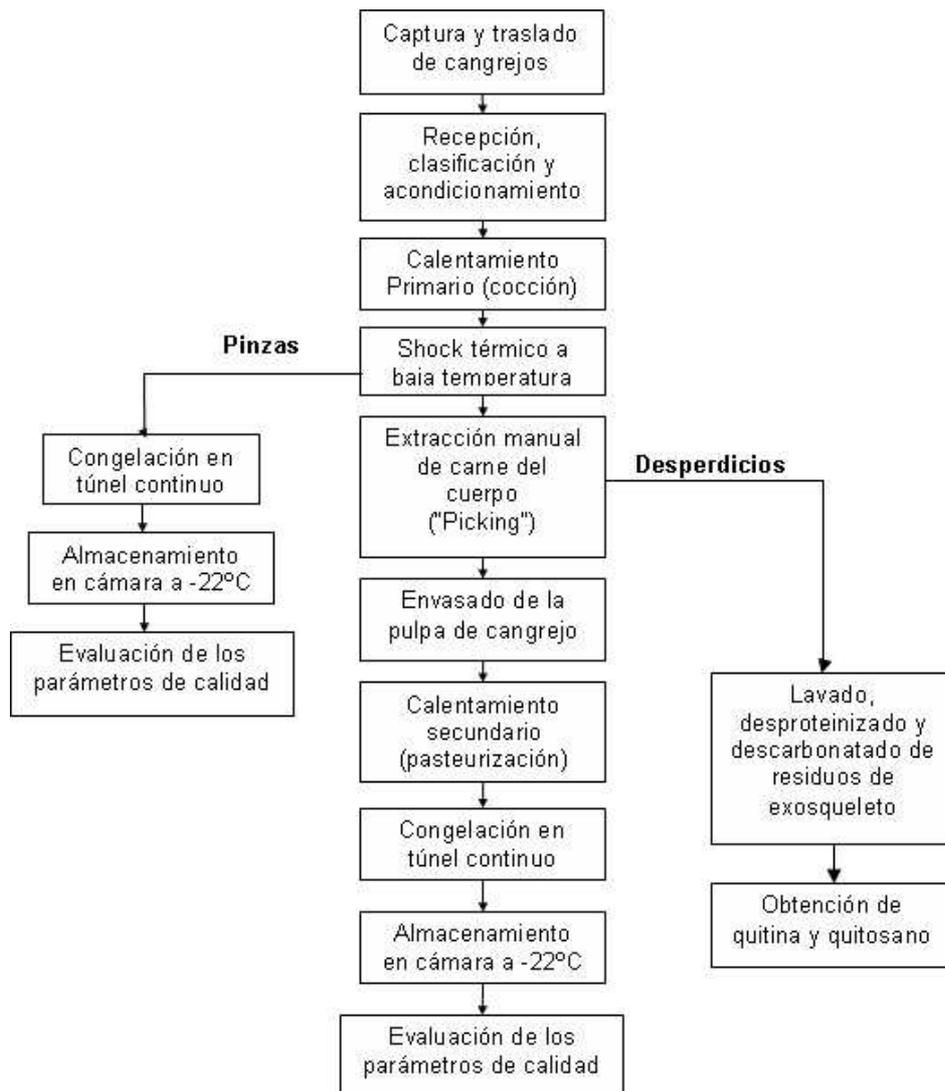
1. Optimizar el proceso de cocción de *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus patagonicus*, determinando la mejor relación tiempo/temperatura, sobre la base de la desnaturalización de las proteínas miofibrilares y la simulación numérica del proceso de penetración térmica. Determinar la composición química del sistema a los efectos de establecer las propiedades termofísicas de la carne de cangrejo. Realizar asimismo la caracterización física, química e histológica del músculo.
2. Optimizar el proceso de pasteurización, en función de la inactivación de microorganismos patógenos representativos: *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* para lograr la inocuidad en el producto. Determinar el tiempo óptimo de tratamiento térmico de la pulpa de cangrejo, obtenida manualmente ("Picking") y envasada al vacío, para la inactivación de los patógenos mencionados, en base a la determinación de los parámetros D y z. Realizar la simulación numérica del proceso de pasteurización de la pulpa de cangrejo envasada al vacío y validar experimentalmente el modelo de transferencia térmica.
3. Determinar las curvas de congelación en función de la geometría y propiedades termofísicas de las distintas porciones del cuerpo de los cangrejos. Determinar la



velocidad de congelación y el tiempo de proceso de los productos bajo diferentes condiciones de congelación. Modelar matemáticamente el proceso de congelación. Analizar el efecto de la velocidad de congelación en el tamaño y localización de los cristales de hielo formados en el tejido utilizando técnicas histológicas y observación microscópica.

4. Evaluar la calidad del producto durante el almacenamiento congelado en función de sus parámetros de calidad, químicos, físicos y organolépticos.
5. Desarrollar la tecnología para el aprovechamiento de los residuos a partir de los caparzones de cangrejos referente a la obtención de quitina y quitosano.

El diagrama de flujo del proceso analizado se detalla a continuación.





Esquema General de la Tesis

- ◆ En el Capítulo 2 de la presente Tesis, se estudian las características morfológicas particulares de cada especie de cangrejos (geometría y tamaño) y se realiza una caracterización de los parámetros químicos, físicos, microbiológicos e histológicos del músculo fresco de los cangrejos *O. trimaculatus* y *D. patagonicus* recientemente capturados, con el fin de conocer la materia prima de partida con la cual se trabajará.
- ◆ El Capítulo 3, se centra en modelar la transferencia de energía del proceso de cocción (calentamiento primario), en estado no estacionario considerando la geometría irregular del sistema y su composición heterogénea. Se correlaciona el efecto del tratamiento térmico con la desnaturalización de las proteínas miofibrilares de la carne de cangrejo a los efectos de lograr un óptimo desprendimiento de la carne del caparazón. Se desarrolla asimismo una aplicación tecnológica de los resultados obtenidos.
- ◆ En el Capítulo 4, debido a las diferencias morfológicas entre ambas especies de cangrejo, se estudia el rendimiento en carne, discriminando por especie, sección corporal del cangrejo y método de calentamiento empleado para el desprendimiento de la carne (agua en ebullición y calentamiento con vapor). Por otro lado se analizan los parámetros físicos y químicos de la carne luego de ser sometida a ambos métodos de calentamiento.
- ◆ En el Capítulo 5, se diseña el proceso adecuado de pasteurización de carne de cangrejo envasada al vacío en películas plásticas flexibles utilizando temperaturas inferiores a 85°C; siendo esta, la etapa previa a la congelación. Se determinan las curvas de letalidad de los microorganismos patógenos seleccionados *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Se simula matemáticamente la transferencia de energía durante el proceso de pasteurización de los envases utilizando un código computacional y se acoplan las historias térmicas con el cálculo de la letalidad microbiana para obtener el tiempo de proceso adecuado para alcanzar la letalidad de los microorganismos seleccionados.



- ◆ En el Capítulo 6, se estudian las condiciones adecuadas de congelación para los productos: pinzas de cangrejo cocidas y pulpa de cangrejo envasada al vacío y pasteurizada. Se desarrolla un modelo numérico para simular el proceso de congelación de la carne de cangrejo envasada y se utiliza el simulador comercial COMSOL para predecir los tiempos de congelación en pinzas de cangrejo teniendo en cuenta la geometría irregular del sistema y su estructura heterogénea. Asimismo, se estudia la variación de la calidad de la carne de cangrejo cocida-pasteurizada y congelada durante el almacenamiento a bajas temperaturas.

- ◆ Por último, en el Capítulo 7 se desarrollan y aplican métodos para la obtención de quitina y quitosano. Se analiza el rendimiento a partir de los desechos de exoesqueleto de cangrejos generados en el proceso de industrialización y se determina el grado de desacetilación del quitosano obtenido.



Capítulo

2

Obtención y Caracterización de la Materia Prima



Capítulo 2

Obtención y Caracterización de la Materia Prima

2. Introducción

Como se ha mencionado en el Capítulo 1 en el litoral marítimo del golfo Nuevo de la ciudad de Puerto Madryn (Patagonia-Argentina) existen dos especies de cangrejos verdaderos, abundantes y reconocidas como recursos comercial por su potencial pesquero (Wyndgaard, 2001): el cangrejo nadador *Ovalipes trimaculatus* y el cangrejo pinzas negras *Danielethus patagonicus*. Aún cuando la pesquería sobre estos recursos se encuentra poco desarrollada en nuestro país, su potencial es promisorio considerando que las importaciones mundiales de cangrejo se han incrementado en forma sostenida durante los últimos 20 años (FAO, 2008). La aceptabilidad y sustentabilidad de la comercialización de dichas especies depende del conocimiento de cada etapa del proceso tecnológico, desde su captura hasta la obtención de un producto final con competitividad en el mercado. Dicho producto final depende en primera instancia de las características de la materia prima de partida, ya que la misma podrá variar de acuerdo a diversas características y factores biológicos intrínsecos y extrínsecos, como el tamaño del ejemplar, época del año, época de muda y método de captura. (De-Wei Chen y col. 2007; Barrento y col. 2009; Benjakul y Sutthipan, 2009). El cangrejo *O. trimaculatus* se extrae con pequeñas embarcaciones costeras con redes de arrastre de fondo en zonas de sustrato blando arenoso, como pesca acompañante del langostino, camarón y peces de fondo. También puede capturarse mediante red de costa, aros para cangrejos, trampas (nasas) y a través de buceo entre 0 y 20 metros de profundidad. Los ejemplares machos poseen una talla mayor a la de las hembras (Boschi y col, 1982), por lo que son más apreciados por tener mayor cantidad de carne. Los estudios de esta especie en Argentina se limitan a la descripción de algunas relaciones morfométricas y distribuciones de frecuencia de tallas (Fenucci y Boschi, 1975), como así también estudios preliminares



de rendimientos en carne (Leal y col. 2003). Por otro lado, *D. patagonicus* se captura como pesca acompañante del langostino y del camarón y más comúnmente por medio de uso de trampas o nasas y en menor escala mediante buceo. Los machos alcanzan tallas mucho mayores a las de las hembras, presentando un marcado dimorfismo sexual de las quelas a partir de la adquisición de la madurez morfométrica (Carsen y col. 1996; Leal y col. 2008). Por esta razón los machos son comercialmente más apreciados, y algunas pesquerías de dicha familia sólo están dirigidas a la extracción de sus quelas. Los estudios sobre *D. patagonicus* son más extensos e incluyen descripciones morfológicas (Boschi, 1964), caracterización de su distribución (Boschi y col. 1992), datos de fecundidad y tallas de madurez (Carsen y col. 1996; Leal y col. 2008), rendimiento en carne por sexos y partes del cuerpo y composición bioquímica estacional de su carne (Leal y col. 2008; Dima y col. 2009). La composición bioquímica de los cangrejos oscila en general en el rango de 71-80% de humedad; 11-24% de proteínas, 0-6% de grasas y 1-3% en cenizas (Edwards y Early, 1976; Naczk y col. 2004) y puede variar entre especies de cangrejos, épocas del año o estadio de muda, siendo este último factor fisiológico de gran importancia, ya que influye sobre la calidad de la carne, como así también sobre la estrategia pesquera y productiva que se va a diseñar (Benjakul y Sutthipan, 2009). Las proteínas son el componente bioquímico principal de la carne de cangrejo; dentro de las mismas las más abundantes son las proteínas miofibrilares que constituyen entre 65% y 75% (Huss, 1997) de las proteínas totales. Sus propiedades funcionales son muy importantes ya que tienen una marcada influencia sobre la calidad de los productos cocidos y/o congelados tales como la textura, jugosidad y capacidad de retención de agua. (Martens, 1982). Dentro de los parámetros fisicoquímicos importantes, se puede destacar la presencia de compuestos nitrogenados; es sabido que en el músculo de especies marinas existen compuestos nitrogenados no proteicos que afectan la calidad del mismo durante el procesamiento. El contenido en nitrógeno básico volátil total (NBVT) expresa cuantitativamente las bases volátiles de bajo peso molecular y



aminas procedentes de la descarboxilación microbiana de aminoácidos y se ha considerado representativo del grado de alteración de los productos marinos (Quitral-Robles y col. 2003). La carne del cangrejo se deteriora mucho más rápidamente que la de pescado debido al elevado contenido de nitrógeno no proteico (Codex Alimentarius, 1983), superando en muchos casos los valores propuestos por el Código Alimentario Argentino (1969) y el SENASA (Cap. XXIII). Esta diferencia en la composición de nitrógeno no proteico, en relación a otras especies marinas, es contemplada por las reglamentaciones de otros países donde la pesquería de cangrejos se encuentra más desarrollada (Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, 1998; European Commission, 2005; Normas Venezolanas COVENIN).

Dada la naturaleza delicada de los cangrejos, los mismos deben ser trasladados y mantenidos vivos hasta el momento de su procesamiento; se debe procurar evitar el transporte de cangrejos débiles y mutilados, de ser así los mismos deberán ser descartados o devueltos al mar (Edwards y Early, 1976; Codex Alimentarius, 1983). El período en que los cangrejos pueden mantenerse satisfactoriamente en la planta antes de su procesamiento, dependerá del lapso transcurrido desde su captura y el cuidado con que fueron manipulados a bordo de los barcos pesqueros y durante el transporte a la planta (Codex Alimentarius, 1983). Por lo expuesto, es importante el conocimiento de las características morfométricas de cada especie de cangrejo en estudio, así como el conocimiento de las características físico-químicas de su carne, materia prima de partida, ya que la misma va a ser sometida a diferentes procesos tecnológicos hasta la obtención de un producto final para su comercialización.

El presente capítulo está dirigido a conocer las relaciones morfométricas y las características físico-químicas, microbiológicas e histológicas de los cangrejos *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus patagonicus*, con el fin de conocer la materia prima de partida con la cual se trabajará.



2.1. Muestreo y acondicionamiento de materia prima

2.1.1. Materiales y métodos

Durante el período abril del 2008 hasta diciembre del 2011 se realizaron salidas mensuales de campo dentro del golfo Nuevo, Puerto Madryn (Chubut, Argentina, 42°-43°S, 64°-65°O), a fin de obtener ejemplares de *D. patagonicus* (DP) y *O. trimaculatus* (OT) para el desarrollo del presente estudio. Los mismos se obtuvieron mediante el uso de trampas plegables y por recolección directa por buceo (Fig 2.1) a bordo de una embarcación semi-rígida (LAPEMAR I, perteneciente al CENPAT-CONICET) de 4,5m de eslora y motor de 40HP.

Los cangrejos *D. patagonicus* se capturaron mediante el uso de trampas plegables, las cuales se calaron entre 25 y 50 metros de profundidad. La recolección de las mismas se realizó entre 24h y 48h después del calado para dar tiempo al ingreso de los ejemplares a la trampa. Los cangrejos *O. trimaculatus* se recolectaron en forma manual, por medio de buceo hasta profundidades de 10 metros. Los buzos emplearon salabardos, redes de captura manuales (Fig 2.1), para almacenar los cangrejos durante el buceo. Para el desarrollo de la tesis sólo se usaron ejemplares machos y en estadios de muda 4 y 5, siendo las hembras capturadas devueltas al mar. Sólo se utilizaron ejemplares hembras para el estudio de las relaciones morfométricas, las cuales se presentan en dicho capítulo, y para el estudio de rendimiento y extracción de carne (Capítulo 4).

Los cangrejos recolectados se trasladaron vivos al laboratorio del Centro Nacional Patagónico (CENPAT) donde fueron medidos, clasificados y acondicionados para su posterior procesamiento. Los ejemplares siempre fueron trasladados en un período de tiempo menor a 30 minutos después de la captura, manteniéndose dentro de las trampas y los salabardos humedecidos con agua de mar y protegidos del viento y del sol. Sólo se procesaron ejemplares vivos. Una vez en el laboratorio los cangrejos fueron pesados; el peso fresco total (PF) y el peso fresco de las quelas (PQ) se registraron utilizando una balanza Mettler P3N de 1g de precisión. Las medidas morfométricas registradas fueron:



el ancho del caparazón (AC), considerado entre los extremos distales de las espinas laterales posteriores, el largo del caparazón (LC) y largo, ancho y alto de las pinzas (LP, AnP, AIP). Las medidas se obtuvieron con un calibre digital de 0,01mm de precisión. Por último, los cangrejos fueron clasificados según el estado de su caparazón, ciclo de muda, utilizando los siguientes criterios descritos por Leal y col. (2008), i) Muda 1: muda muy recientes - cangrejos débiles, casi inmóviles, con consistencia de gelatina, ii) Muda 2: muda reciente - vientre blanco, dorso naranja intenso para *D. patagonicus* y púrpura a terracota para *O. trimaculatus*, húmedos con caparazón con consistencia de cartón o papel mojado, iii) Muda 3: en proceso de calcificación del exoesqueleto - caparazón delgado y suave ya con algo de consistencia, iv) Muda 4: intermuda temprana - exoesqueleto duro, de color naranja brillante y de color terracota para *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* respectivamente, v) Muda 5: intermuda tardía - exoesqueleto duro, grueso, de color naranja pálido y terracota para *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* respectivamente, con numerosos epibiontes sobre el caparazón en *D. patagonicus* y una densa cobertura de puntos negros en la superficie ventral para *O. trimaculatus*. Sólo los cangrejos en las etapas de muda 4 y 5 se incluyeron en este trabajo.

Una vez medidos y clasificados, los cangrejos se colocaron en acuarios acondicionados para su mantenimiento antes de empezar el desarrollo de cada etapa del trabajo.



Figura 2.1 Izquierda: Trampa plegable. Derecha: Buzo con salabardo.



2.1.2. Análisis estadísticos

Las medias y las desviaciones estándar de los datos se calcularon con las funciones estadísticas de la planilla de cálculo de Excel (versión 2007). Las regresiones y líneas de tendencia de las curvas también fueron calculadas con dicho programa. Para el análisis estadístico comparativo de los datos se usaron: análisis de varianza (ANOVA), a un nivel de confianza del 95% para diseño de datos paramétricos. Para los valores de datos no paramétricos se utilizó una prueba paralela, Mann-Whitney (Prueba U) al mismo nivel de confianza. Las pruebas estadísticas se realizaron con un programa de estadística (STATISTICA 8.0, versión 2007; Statsoft Inc.). Las discontinuidades de las relaciones morfométricas se analizaron utilizando análisis de regresión por punto de quiebre (breakpoint regression analysis) con el mismo programa estadístico.

2.1.3. Resultados del muestreo

En general, las especies capturadas de cangrejos se descartan según el tamaño del ancho de caparazón (AC). Cuanto mayor es AC, mayor peso tendrá el ejemplar. El ancho de caparazón no sólo permite relacionar el peso del animal con la cantidad de carne que se puede extraer, sino que permite también, desarrollar una estrategia desde un punto de vista pesquero, estableciendo tallas mínimas de captura que permitan la sustentabilidad del recurso, ya que los cangrejos deben alcanzar determinadas tallas de madurez sexual para asegurar su reproducción. Por otro lado, cada especie posee un tamaño y geometría característica y propia, lo cual será de vital importancia en los procesos tecnológicos de calentamiento y congelación que se desarrollarán en los capítulos siguientes.

El ancho del caparazón de los ejemplares capturados osciló entre los 71-154mm y 70-124mm para machos y hembras de *D. patagonicus* y 71-121 y 52-113mm para machos y hembras de *O. trimaculatus*. La Figura 2.2 y 2.3 muestra las relaciones entre el peso de ejemplar (PF, g) en función del ancho de caparazón (AC, mm) y en función del peso de las quelas (PQ, g) para ambos sexos de ambas especies.

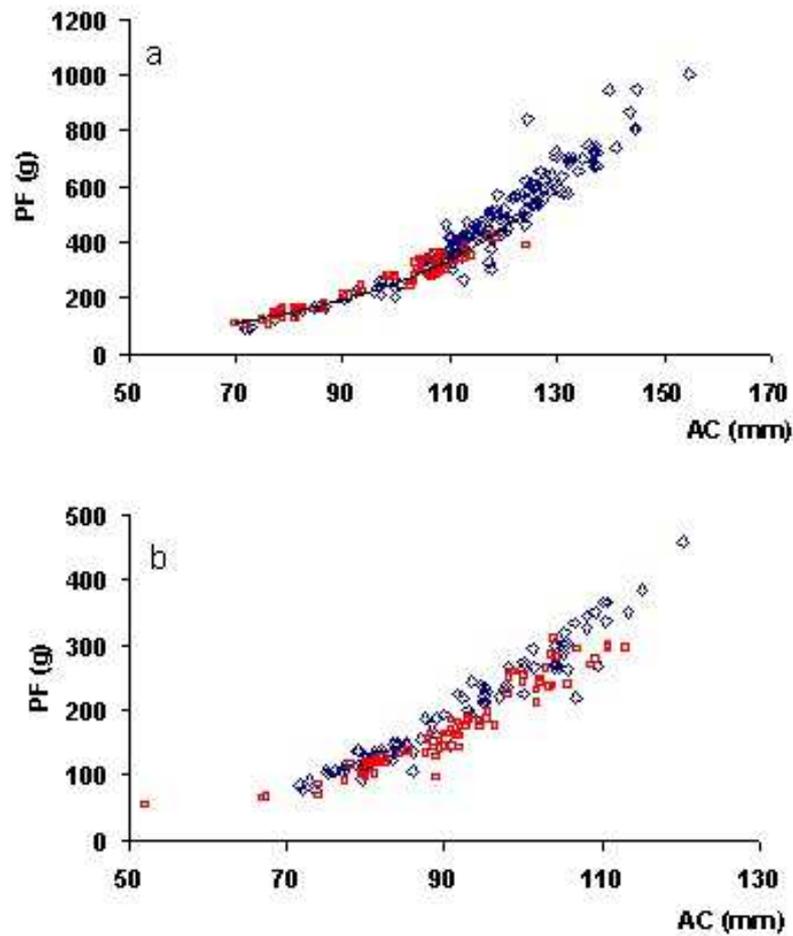


Figura 2.2 Relación morfométrica entre ancho de caparazón (AC) en milímetros y el peso fresco (PF) del ejemplar en gramos. a) *D. patagonicus*; b) *O. trimaculatus*. Azul (machos), Rojo (hembras).

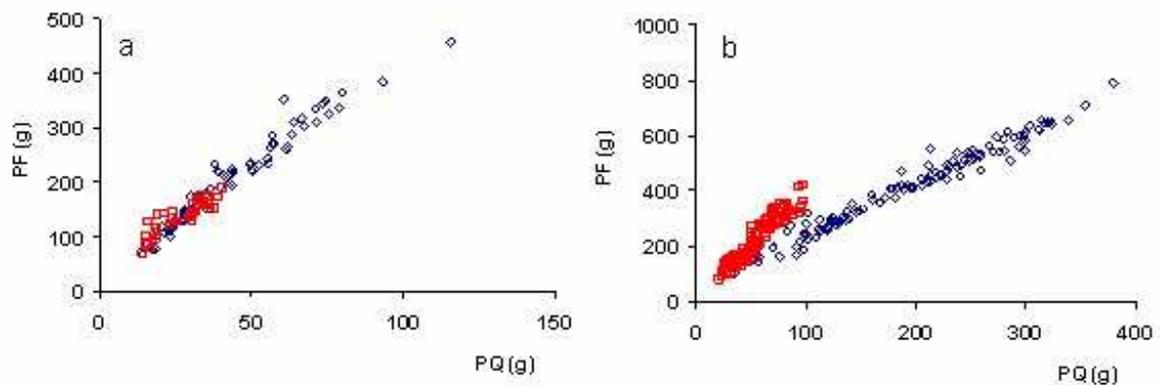


Figura 2.3 Relación morfométrica entre peso de las quelas (PQ) y el peso fresco (PF) del ejemplar en gramos. a) *O. trimaculatus*; b) *D. patagonicus*. Azul (machos), Rojo (hembras).



La tasa de crecimiento corporal de las hembras de ambas especies es menor en relación a la de los machos, alcanzando éstas menores tallas máximas (Goshima y col. 2000; Carver y col. 2005; Leal y col. 2008). Como se puede observar, los machos alcanzan mayor tamaño que las hembras, lo que constituye una de las razones por las cuales las pesquerías de dichos crustáceos están dirigidas solamente a los machos. Por otro lado, debido a su naturaleza marcadamente poligínica, los machos que escapan a la captura pueden aparearse con muchas hembras, manteniendo elevado el potencial reproductivo de las poblaciones (Smith y Jamieson, 1991; Carver y col. 2005; Leal y col. 2008). En el caso particular de *D. patagonicus patagonicus* las tallas y pesos de los machos son considerablemente mayores que en las hembras, lo cual se debe principalmente al marcado dimorfismo en el tamaño de las quelas que poseen los machos. Esta característica de la familia Xanthidae y Plaxanthidae se ha tomado en cuenta para el diseño de estrategias de pesca de especies tales como *M. mercenaria*, donde sólo se recolectan las quelas y se devuelve el ejemplar al medio marino (Restrepo, 1992; Siam Lahera, 2011). Esta estrategia se ve reforzada por el hecho de que si las quelas son seccionadas en forma adecuada, una proporción de los individuos que se devuelven al fondo de pesca es capaz de regenerar sus miembros (Restrepo, 1992). Aún así, dada la relevancia de estos órganos, la liberación de ejemplares sin quelas o con quelas regeneradas de menor tamaño no garantiza en su totalidad el mantenimiento del potencial reproductivo poblacional (Restrepo, 1992; Siam Lahera, 2011). Para los ejemplares machos de *D. patagonicus* la relación peso fresco (PF) sobre ancho del caparazón (AC) mostró una discontinuidad a los 86,8mm de AC. El quiebre encontrado en esta relación morfométrica en los machos de dicha especie puede observarse más detalladamente en forma logarítmica, en las regresiones ajustadas en el diagrama de dispersión de $\ln(\text{PF})$ versus $\ln(\text{AC})$ de la Figura 2.4.

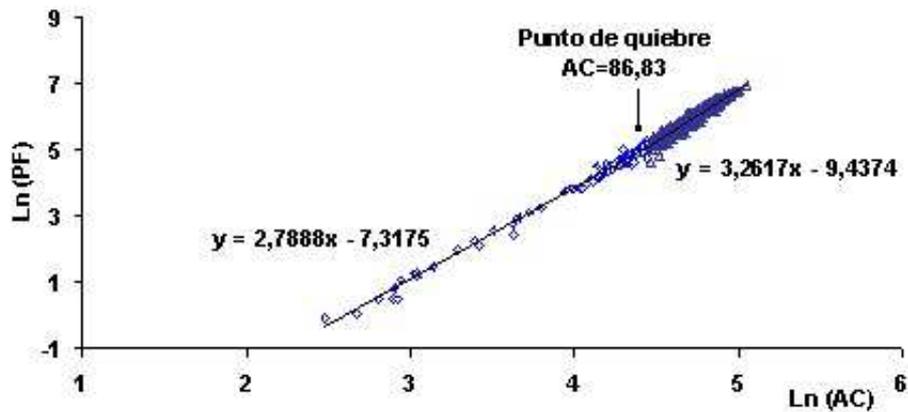


Figura 2.4 Relación morfométrica entre el logaritmo natural del ancho de caparazón (AC, mm) y el peso fresco del ejemplar (PF, g) para machos de *D. patagonicus*.

Para los ejemplares machos de *O. trimaculatus* se encontró una discontinuidad en la relación peso fresco del ejemplar (PF, g) sobre peso de las quelas (PQ, g), observándose una discontinuidad a los 181g de PF (equivalente a 67mm de AC). El quiebre puede observarse detalladamente en la representación logarítmica en la Figura 2.5.

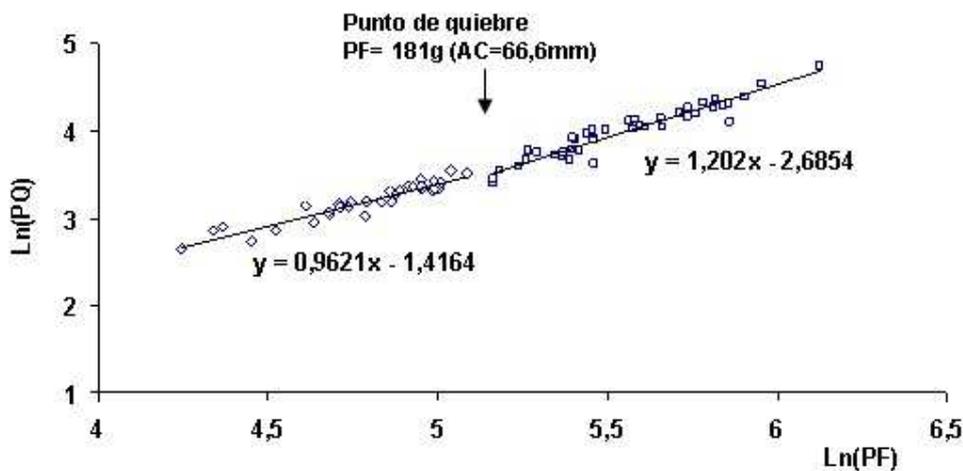


Figura 2.5 Relación morfométrica del logaritmo natural del peso de las quela (PQ, g) sobre el del peso fresco (PF, g) para machos de *O. trimaculatus*.

Tallas de primera madurez sexual y morfométrica han sido reportadas por Carsen y col. (1996) y Leal y col. (2008) para *D. patagonicus* y por Fenucci y Boschi (1975) para *O. trimaculatus*. Debe tenerse en cuenta que la talla de madurez morfométrica no corresponde estrictamente con la talla de madurez funcional, la cual suele ser mayor y la



recomendada para la captura de cangrejos de diferentes pesquerías (Smith y Jamieson, 1991; Goshima y col. 2000).

A modo de resumen, la Tabla 2.1 muestra los valores de los parámetros de las regresiones ajustadas a las relaciones morfométricas representadas anteriormente para ambas especies. Los valores corresponden a los ajustes de las relaciones entre los logaritmos de las variables, donde x e y son las variables de la recta que ajusta las gráficas, m_1 y b_1 son la pendiente y ordenada al origen de la recta que describe la relación para valores menores al de la discontinuidad morfométrica. El punto de quiebre (de existir) es el valor al cual cambia la tasa de crecimiento relativo entre las variables evaluadas (expresado en función del logaritmo natural del ancho del caparazón) y m_2 y b_2 son los parámetros de la recta de regresión ajustada para valores de las variables mayores a las correspondientes al punto de quiebre.

Tabla 2.1 Parámetros de las regresiones ajustadas a las relaciones entre los logaritmos de las variables morfométricas de machos y hembras de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*.

Machos D. patagonicus

y	x	m1	b1	Quiebre	m2	b2
LnPF (g)	LnAC (mm)	2,78	-7,31	4,46	3,26	-9,43
LnPQ (g)	LnPF (g)	1,40	-3,03	5,24	1,17	-1,83

Hembras D. patagonicus

y	x	m1	b1	Quiebre	m2	b2
LnPF (g)	LnAC (mm)	2,92	-7,31	4,46	2,67	-6,87
LnPQ (g)	LnPF (g)	0,87	-2,17	----		

Machos O. trimaculatus

y	x	m1	b1	Quiebre	m2	b2
LnPF (g)	LnAC (mm)	3,14	-9,07	----		
LnPQ (g)	LnPF (g)	0,96	-1,41	5,16	1,20	2,68

Hembras O. trimaculatus

y	x	m1	b1	Quiebre	m2	b2
LnPF (g)	LnAC (mm)	2,87	-9,07	----		
LnPQ (g)	LnPF (g)	0,62	0,54	----		



2.2. Composición bioquímica de la carne de cangrejo

2.2.1. Métodos de medición

Se analizó la composición bioquímica proximal de la carne de cangrejo cruda, se determinó el contenido de humedad, proteína, lípidos, carbohidratos y cenizas del músculo del cuerpo y las pinzas de ambas especies. El contenido de humedad se determinó mediante el secado de la muestra en estufa a 100°C hasta alcanzar un peso seco constante (AOAC, 1990). El contenido de proteína cruda se determinó por el método de Kjeldahl (AOAC, 1990), utilizando un factor de conversión de 6,25 para convertir nitrógeno total a proteína bruta. Los lípidos se determinaron utilizando el método Soxhlet empleando éter etílico (AOAC, 1990). El contenido de cenizas se obtuvo mediante la calcinación de las muestras en mufla a 550°C durante 8 horas (AOAC, 1990). El contenido de carbohidratos se asumió como la diferencia entre el total (100%) y los demás componentes principales calculados.

El tipo de elementos presentes en el músculo crudo se determinó mediante espectroscopía de energía dispersiva de rayos-X (EDX, por sus siglas en inglés) acoplada a un microscopio electrónico de barrido Philips X-L 30. Esta técnica de análisis espectral esta basada en la dispersión de energía de los rayos-X emitida por un elemento excitado por electrones acelerados. Se usa generalmente en combinación con el microscopio electrónico de barrido (SEM), que en este caso hace de fuente de los electrones acelerados, mientras que el EDX hace de detector de los puntos o zonas de la superficie de la muestra analizada. Los átomos dentro de la muestra se encuentran en estado fundamental (o no excitado). La radiación incidente o primaria expulsa los electrones de las capas interiores del átomo. Entonces, los electrones de capas más externas ocupan los lugares vacantes, y el exceso energético resultante de esta transición se disipa en forma de rayos-X. El número y la energía de los rayos X emitidos por la muestra pueden ser medidos por un espectrómetro de dispersión de energía EDX.



La ventaja de esta técnica es la simplicidad del procesamiento previo de la muestra, ya que sólo es necesario que la misma se encuentre deshidratada para su cuantificación.

Todos los análisis se realizaron por triplicado, esto implica que se usaron tres ejemplares individuales de OT y tres ejemplares individuales de DP para realizarlos.

2.2.2. Resultados de la composición bioquímica proximal

Los contenidos de humedad, proteínas, carbohidratos, lípidos y cenizas se pueden observar en la Tabla 2.2, mientras que el contenido en minerales se muestra en la Figura 2.6. No se encontraron diferencias significativas entre los porcentajes de componentes bioquímicos entre especies (*D. patagonicus* y *O. trimaculatus*) ni entre las partes del cuerpo analizadas (pinzas y cuerpo) (Prueba U de Mann-Whitney, $P > 0,05$). El músculo presentó altos valores de humedad y proteína, y un bajo contenido de lípidos. Valores similares a los encontrados fueron reportados para cangrejo chino de mitones (*Eriocheir sinensis*) (De-Wei y col. 2007), para el cangrejo azul (*Callinectes sapidus*) (Gökođlu y Yerlikaya, 2003), y para el cangrejo verde (*Carcinus maenas*) (Skonberg y Perkins, 2002). Los valores hallados pueden variar durante la época del año, especialmente el contenido de humedad, lípidos y cenizas, siendo más común esta variación en ejemplares hembras (Barrentos, 2009). En cuanto a los machos, no varían significativamente su composición proximal durante las épocas del año (Dima y col. 2009), salvo durante los procesos de muda, donde el cangrejo cambia su exoesqueleto por otro más nuevo y de mayor tamaño; en esta etapa el animal se alimenta poco y absorbe una gran cantidad de agua hasta que su nuevo caparazón se calcifica (Leal y col. 2008; Benjakul y Sutthipan, 2010). Por ello en las etapas de muda 1 a 3 los valores del contenido de humedad suelen ser mayores que en otras mudas. Dado que para el desarrollo del presente trabajo de Tesis sólo se utilizaron ejemplares en etapa de intermuda (muda 4 y 5), es previsible que dicha composición sea aproximadamente estable durante todo el año. La concentración de minerales es la variable más fluctuante en el músculo de cangrejo, la misma puede estar influenciada por una serie de factores tales como las diferencias estacionales y biológicas



(especies, tamaño, edad, sexo y madurez sexual), la fuente de alimentación y el medio ambiente (la química del agua, salinidad, temperatura y contaminantes) (Skonberg y Perkins, 2002; Gökoğlu y Yerlikaya, 2003; Küçükgülmez y col. 2006). Es importante tener en cuenta que en la mayoría de los trabajos sobre contenido bioquímico proximal, se utiliza espectroscopía de absorción atómica para determinar la concentración de minerales, mientras que en el presente estudio estas determinaciones fueron realizadas por EDX. Esta técnica permite una excelente caracterización cualitativa de los minerales presentes, siendo no tan precisa en el análisis cuantitativo de los mismos, ya que debido a la heterogeneidad de la muestra puede presentar una variación dependiendo del lugar donde incida la radiación.

Tabla 2.2 Composición bioquímica del músculo crudo de los cangrejos *O.trimaculatus* y *D. patagonicus*.

*Expresado en peso húmedo

	Humedad	Proteínas*	Lípidos*	Carbohidratos*	Cenizas*
Pinza OT	77,55±0,71	15,90±2,72	0,57±0,20	3,75±1,39	2,24±0,48
Cuerpo OT	77,09±2,86	15,45±2,30	0,62±0,23	5,08±2,85	2,13±0,22
Pinza DP	76,89±2,20	16,05±2,56	0,58±0,18	4,62±1,86	1,87±0,48
Cuerpo DP	75,16±1,94	15,07±2,36	0,58±0,20	6,48±2,31	2,31±0,06

2.3. Determinación de Nitrógeno Básico Volátil (NBV)

2.3.1. Método de medición

En el músculo de las especies marinas existen compuestos nitrogenados no proteicos que afectan la calidad del mismo. Uno de los compuestos que se destaca es el óxido de trimetilamina (OTMA) que interviene directamente en el proceso de osmorregulación. En el proceso de descomposición del pescado éste es reducido por la acción bacteriana y enzimática a amoníaco, di y trimetilaminas que conforman el Nitrógeno Básico Volátil (NBV).

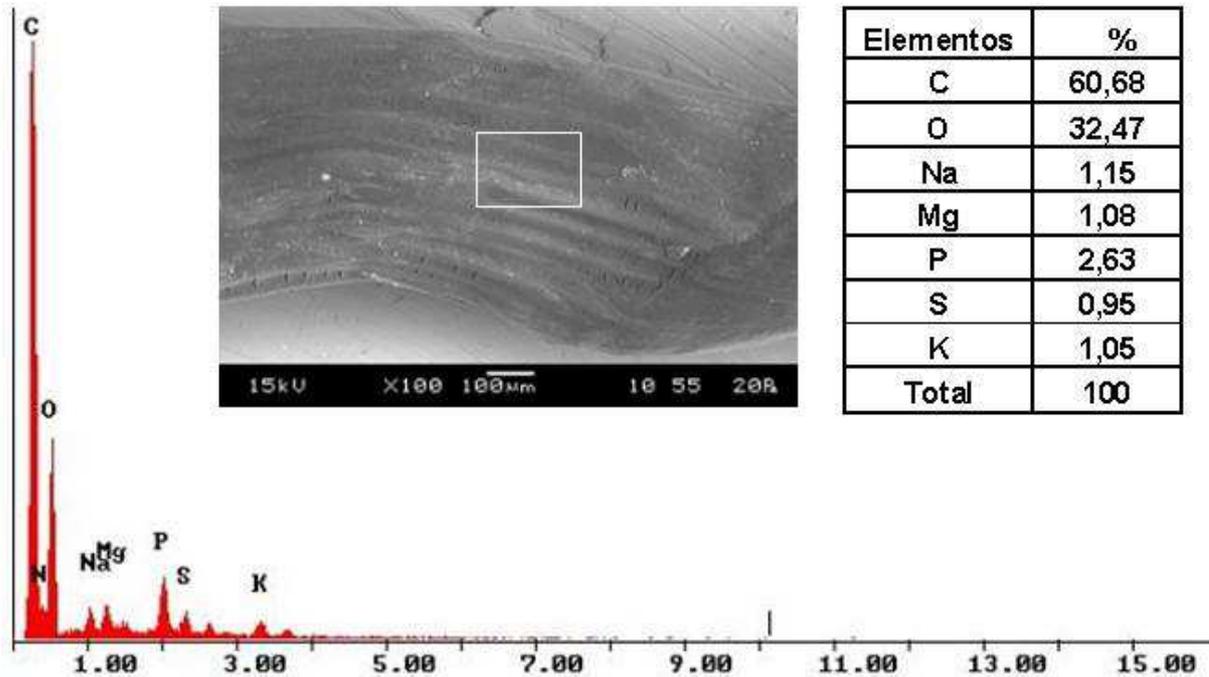


Figura 2.6 Cuantificación EDX de los elementos presentes en el músculo de cangrejo. Tabla cuantitativa de los elementos presentes e imagen del impacto del haz de electrones sobre la fibra del músculo de cangrejo.

Al tratar la muestra con óxido de magnesio (MgO) disuelto en agua, éste pasa a hidróxido de magnesio, cuyos iones hidroxilos liberan las bases volátiles de las sales que pudieran existir (amoníaco, dimetil y trimetil-amina). Estas bases volátiles son destiladas por arrastre con vapor de agua y recogidas en una solución de ácido bórico (HBO_2), reaccionando con este ácido y formando las sales correspondientes (cationes amonios, dimetil y trimetil-amonio). Al valorar la solución resultante con un ácido fuerte, éste desplaza al ácido bórico de la sal dando el viraje de color del indicador.

Se utilizó la Técnica de Antonacopoulos (IRAM 15.025, Parte 1:77), ampliamente utilizada en productos pesqueros. Se colocaron 10 gramos de muestra en un cartucho ubicado en un balón de 2000ml de capacidad, conteniendo 300ml de agua destilada y sometido a calentamiento constante. Se incorporó rápidamente en el cartucho (ubicado en el interior del balón) aproximadamente 2g de MgO a la muestra. Se añadieron algunas gotas de antiespumante dentro del cartucho y unos trozos de porcelana dentro del balón para



regular la ebullición. Dicho balón está acoplado a un sistema de destilación apropiado. Por otro lado, se adicionó en un erlenmeyer de 250ml, 50ml de HBO_2 y unas gotas del indicador rojo de metilo; el mismo se colocó en el aparato de destilación de tal manera que el extremo del refrigerante quede sumergido en la solución de ácido bórico. El calentamiento se realizó de manera que el líquido entre en ebullición en 10 minutos aproximadamente. A partir del momento en que cae la primera gota de destilado se continuó el proceso hasta alcanzar un volumen constante, (30 minutos aproximadamente), manteniéndose la intensidad del calentamiento. Cuando cae la primera gota de destilado se produce un viraje en el erlenmeyer con rojo de metileno como indicador a verde. Una vez finalizada la destilación se tituló el destilado con ácido sulfúrico 0,02N hasta el punto final de la titulación, donde la solución vira nuevamente a rojo.

Los resultados se expresaron como mg de NBV por 100 g de muestra:

$$\text{NBV} = \frac{0,014 \times 1000 \times V \times N \times 100}{\text{g de muestra}} \quad (2.1)$$

Donde: 0,014 = miliequivalentes de nitrógeno

V = volumen de H_2SO_4 utilizados en la titulación

N = Normalidad del ácido sulfúrico

2.3.2. Contenido de bases nitrogenadas volátiles

El contenido de NBV en ambas especies resultó de $42,27 \pm 7,15\text{mg}\%$ para *D. patagonicus* y $24,88 \pm 3,08\text{mg}\%$ para *O. trimaculatus*, encontrándose diferencias significativas entre especies (Prueba U de Mann-Whitney, $P < 0,05$). Estos valores son altos en comparación con otras especies marinas, como peces y moluscos, donde los niveles de NBV para el músculo fresco no superan los $20\text{mg}\%$ (Huss, 1998), pero similares para los reportados para elasmobranqueos (tiburones, rayas, quimeras) (Huss, 1998). Entre los compuestos nitrogenados se destacan el óxido de trimetilamina (OTMA),



el óxido de dimetilamina y aminoácidos libres (AAL), que intervienen directamente en el proceso de osmorregulación, el cual permite mantener dentro de ciertos límites el contenido de agua y la concentración de solutos en los recursos marinos. Desde el punto de vista de la calidad del alimento, el contenido de bases nitrogenadas volátiles (NBV) aumenta al producirse el deterioro por acción bacteriana o enzimática, por lo que son usadas como índices de calidad. La formación de compuestos volátiles está representada principalmente por la reducción del OTMA a TMA, el óxido de dimetilamina a dimetilamina y las aminas procedentes de la descarboxilación microbiana de aminoácidos produciendo, por ejemplo, compuestos amoniacales de olor desagradable. (Quitral-Robles y col. 2003). Los compuestos que contienen nitrógeno son de importancia fundamental en la organización estructural y las capacidades fisiológicas de los crustáceos. El metabolismo del nitrógeno, su origen, acción y destino es una precondition y una consecuencia de la nutrición, crecimiento, desarrollo, flujo de energía y ajustes fisiológicos de variables endógenas y exógenas (Rosas y col. 2000). La concentración de aminoácidos libres (AAL) en la mayoría de los crustáceos se encuentra en el orden del doble de la concentración que normalmente se encuentra en los vertebrados (Kaushik, 2000). Por lo general, los tejidos de los crustáceos presentan deficiencias en aniones inorgánicos, lo cual llevó a postular que para mantener su balance osmótico deben tener un gran pool intracelular de aniones orgánicos (Rosas y col. 2000), lo que explicaría los valores altos de NBV encontrado para cangrejos en relación a otras especies marinas.

2.4. Medición de pH

2.4.1. Materiales y métodos

Se pesaron y homogeneizaron 5g de muestra de tejido cárnico con 25ml de agua destilada, con agitación constante durante 5 minutos. El pH se midió mediante un pHmetro (Hanna Instrument) previamente calibrado con dos buffers (pH=4 y pH=7).



2.4.2. Resultados del pH

Los valores de pH resultaron de $7,40 \pm 0,04$ y $7,22 \pm 0,02$ para pinza y cuerpo de *D. patagonicus* y $7,30 \pm 0,09$ y $7,24 \pm 0,02$ para pinza y cuerpo de *O. trimaculatus*, respectivamente. Estos valores son altos en relación a otras especies marinas como los peces o moluscos. Los altos valores de pH observado en el músculo de cangrejo se relacionan con las aminas que están presentes naturalmente en estas especies y es lo que le confiere un carácter básico a la carne (Quitral-Robles y col. 2003).

2.5. Recuento de mesófilos totales (PCA)

2.5.1. Materiales y métodos

Para determinar el recuento inicial de bacterias mesófilas se pesaron 10g de carne de cangrejo, la misma se colocó en un recipiente estéril y se agregaron 90ml de peptona estéril 0,1%; se homogeneizó y rotuló. Luego se tomó 1ml del homogenato y se introdujo en un tubo con peptona 0,1%, rotulándose como disolución -1. Luego se tomó 1ml de esta dilución y se agregó a otro tubo con peptona 0,1%, rotulándose como disolución -2. De esta manera se realizaron las sucesivas diluciones. Luego, 1ml de cada disolución fue sembrada en placas de Petri perfectamente rotuladas, agregando posteriormente la cantidad suficiente de medio PCA (Agar Plate Count), fundido y estéril para cubrir la placa. La placa se movió de un lado a otro en forma suave para lograr una mezcla adecuada entre el medio y la suspensión. Después de la solidificación, las placas se invirtieron y se incubaron en estufa a 25°C durante 48h. Pasado este tiempo, se contaron el número de colonias (N) presentes.

Para realizar el recuento de las unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g), el número contado (N) se multiplica por 10 y por la inversa de la dilución:

Por ejemplo, si se contaron 3 colonias en la placa con dilución -1, entonces el resultado del conteo es $3 \times 10 / 10^{-1} = 300 \text{UFC/g}$.



2.5.2. Resultados del recuento de mesófilos totales (PCA)

La carga microbiana de la carne de cangrejo crudo recién capturado fue baja, oscilando entre 10^1 y 10^2 UFC/g. Los crustáceos recién capturados, al igual que los peces y moluscos, son normalmente estériles (Shewan, 1962), aunque pueden encontrarse bacterias en las vísceras, piel o caparazón (Shewan, 1962). Ese número de bacterias puede oscilar entre 10^3 - 10^5 UFC/g. En el caso particular de los cangrejos, son mantenidos vivos hasta el momento de su procesamiento (Codex Alimentarius, 1983) por lo cual es de esperar el bajo recuento microbiano si los mismos son ejemplares sanos, de aguas no contaminadas y si fueron manipulados correctamente durante los análisis y previo a ellos. La flora bacteriana en pescados y mariscos recién capturados depende más del medio ambiente de captura que de la especie. Los pescados capturados en aguas muy frías y limpias contienen menor número de microorganismos, mientras que el pescado capturado en aguas cálidas presenta recuentos ligeramente superiores (Huss, 1998). En general, si las aguas están catalogadas como libres de contaminación, como es el caso de las del golfo Nuevo (Chubut-Argentina), es de esperar que el recuento microbiano no sea significativo. El proceso de contaminación comienza una vez que el animal es capturado, si no se mantienen las condiciones higiénico-sanitarias durante el proceso de captura y manipulación de los ejemplares (Huss, 1998).

2.6. Capacidad de retención de agua (CRA)

2.6.1. Materiales y métodos

La capacidad de retención de agua (CRA) de las proteínas de los alimentos es una propiedad sumamente importante, debido a la gran cantidad de agua que éstos poseen y por su contribución a la calidad de la carne y la de sus productos derivados; la misma se relaciona con la textura de la carne cruda y jugosidad y firmeza de la carne cocida (Baxter y Skonberg, 2007).

Para la determinación de la CRA_1 , (según Método 1) del músculo de cangrejo, se pesaron 10g de músculo fresco (peso inicial), y se colocaron en un tubo de centrifuga (Sorvall



Instruments, Modelo RC5C). La muestra fue centrifugada a 4°C durante 15min a 10000 rpm. La CRA_1 se calculó como la diferencia entre el peso inicial y el peso luego de ser centrifugada (peso final). Para el músculo fresco, se agregó una variante en la determinación de la capacidad de retención de agua CRA_2 , (según Método 2) descripta y modificada por Abugoch y col. (2000) para manto de calamar (*Docidicus gigas*). Se pesaron 10g de músculo desmenuzado de cangrejo fresco (peso inicial) y se adicionaron 10ml de agua destilada, se homogeneizaron en un tubo de centrifuga y se almacenaron a 4°C por 24h. Pasado el tiempo, la muestra se centrifugó a 4°C durante 15min a 10000 rpm, luego se vertió el agua sobrenadante y se registró el peso del músculo (peso final). La CRA_1 y la CRA_2 se calcularon como la diferencia entre el peso inicial y el peso luego de ser centrifugado.

$$CRA_{1,2}\% = \frac{\text{Peso inicial-peso final} \times 100}{\text{Peso inicial}} \quad (2.2)$$

2.6.2. Resultados obtenidos de capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retener agua del músculo fresco, sin agregado del agua destilada (Método 1) resultó del 94,78% ± 5,10% para *D. patagonicus* y de 95,57 ± 3,96% para *O. trimaculatus*, siendo despreciable la pérdida de agua del músculo fresco. La capacidad de retener agua del músculo fresco, con agregado del agua destilada (Método 2) resultó del 153,62% ± 10,20% para *D. patagonicus* y de 123,12% ± 4,36% para *O. trimaculatus*; siendo los valores de CRA_2 significativamente mayores para DP (ANOVA, $P < 0,05$), en ambos caso el músculo absorbió una parte de la cantidad de agua agregada. La capacidad de retención de agua se debe principalmente a las proteínas miofibrilares presentes en el músculo, que son las responsables de los enlaces del tejido con el agua. Cuanto más fresco sea el estado de las proteínas miofibrilares más capacidad de retener agua tendrán. Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los reportados para manto de calamar (*Docidicus gigas*) (Abugoch y col. 2000) y para carne de jaiba (*Homalaspis plana*) (Abugoch y col. 1996).



2.7. Caracterización de las proteínas

2.7.1. Fraccionamiento de las proteínas del músculo de cangrejo

El estado de las proteínas juega un papel importante en la determinación de la calidad y el valor de la carne procesada (Li, 2006). Las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas fueron separados utilizando la técnica reportada por Wagner y Añon (1985). Para ello, 2g de músculo fresco de las pinzas y cuerpo de cangrejo se homogeneizaron en una solución de Tris-HCl 0,05M, EDTA 1mM y 0,25M de sacarosa, a pH 7,6. Las muestras se centrifugaron varias veces en la misma solución; las proteínas sarcoplásmicas se obtuvieron del sobrenadante, mientras que el precipitado se purificó con cloruro de potasio (KCl) 0,15M, 0,05M de Tris-HCl, 1mM de EDTA y agua destilada para obtener las proteínas miofibrilares. Todas las etapas del proceso de separación de las proteínas se realizaron a 4°C para evitar la degradación de las mismas.

2.7.2. SDS-PAGE de las proteínas del músculo

Las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas del músculo fresco de cangrejo se determinaron por electroforesis (SDS-PAGE) en dodecilsulfato de sodio en gel de poliacrilamida según la técnica descrita por Laemmli (1970). Las muestras fueron deshidratadas, molidas y solubilizadas en una solución que contenía 2% de SDS, urea 6M, 50mM Tris-HCl (pH 8,0), y 2% de 2-β-mercaptoetanol. La solución se calentó a 100°C durante 5 minutos y se incubó durante 24 horas a 20°C. En la preparación de las calles para la corrida de las proteínas en la cuba de electroforesis se utilizó gel de poliacrilamida al 10% y gel de stacking al 5%. Las proteínas se corrieron utilizando una cuba de Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories). Como patrón se utilizó un estándar coloreado azul (Bio-Rad Laboratories). Las proteínas separadas fueron teñidas con 0,125% azul brillante de Coomassie R-250 y el gel se decoloró en una solución que contenía 10% de ácido acético. Los análisis se realizaron por duplicado.



2.7.3. Resultados de las proteínas totales, miofibrilares y sarcoplásmicas obtenidas por SDS page para el músculo de cangrejo fresco

Las proteínas de músculo de cangrejo determinadas por SDS-PAGE se muestran en la Figura 2.7, en la misma se observa que la actina fue la proteína predominante de la fracción miofibrilar, mientras que la miosina de cadena pesada (MCP) fue la segunda proteína más abundante. La fracción de proteínas sarcoplásmicas se encontraron a bajo peso molecular, siendo esta fracción más soluble en agua. Para la fracción de proteínas miofibrilares, se pueden resaltar cuatro bandas importantes correspondientes a: cadena de miosina pesada (MCP), actina, paramiosina y cadena de miosina liviana (MCL). El peso molecular para MCP, paramiosina, actina y MCL fue de 200, 110, 42 y 17 KDa respectivamente. Valores similares fueron reportados por Benjakul y Sutthipan (2009) para el cangrejo *Scylla serrata* y por Mizuta y col (2001) para el cangrejo de las nieves (*Chionoecetes opolio*). Las proteínas miofibrilares son proteínas estructurales que representan aproximadamente más del 60% del contenido total de las proteínas, donde la actina y la miosina constituyen las proteínas miofibrilares musculares más importantes (Tornberg, 2005); estas proteínas son solubles en soluciones concentradas y de alta fuerza iónica. Cuando las proteínas son desnaturizadas bajo condiciones controladas, sus propiedades pueden ser utilizadas con propósitos tecnológicos dada la capacidad de las mismas para formar geles resistentes (Baxter y Skonberg, 2007). La funcionalidad y los efectos del calor en estas proteínas han sido estudiadas en varios mamíferos, aves y especies marinas por diferentes autores (Park y Lanier, 1989; Bertola y col. 1994; Paredi y col. 1998; Tornberg, 2005; Baxter y Skonberg, 2007). Las proteínas sarcoplasmáticas (mioalbúmina, globulina y enzimas), por otro lado, son solubles en soluciones acuosas de baja fuerza iónica (0,15M). Esta fracción constituye entre el 25-30% de las proteínas totales (Tornberg, 2005). La desnaturización térmica de las proteínas miofibrilares se describe en el Capítulo 3.

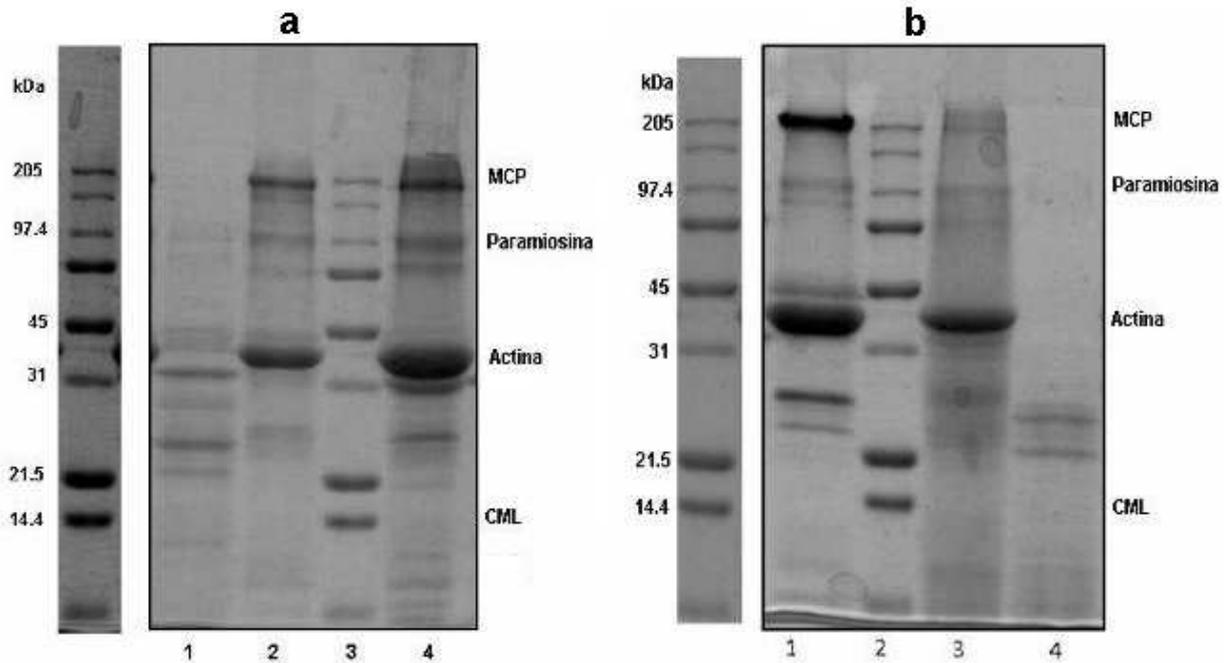


Figura 2.7 a) SDS page de *Ovalipes trimaculatus*: 1- separación de las proteínas sarcoplásmicas, 2- separación de las proteínas miofibrilares, 3- patrón, 4- músculo de cangrejo crudo. b) SDS page de *Danielethus patagonicus*: 1- músculo de cangrejo crudo, 2- patrón, 3- separación de las proteínas miofibrilares, 4- separación de las proteínas sarcoplásmicas.

2.8. Caracterización histológica

2.8.1. Materiales y métodos

Se realizaron cortes histológicos del músculo crudo de los cangrejos en estudio, para lo cual se utilizaron tijeras y bisturís correctamente afilados. Primeramente se separó el exosqueleto, y luego se fue cortando el tejido a modo de obtener una pequeña muestra de músculo fresco. El mismo se encuentra muy adherido al caparazón y al mismo tiempo presenta una textura húmeda, blanda y amorfa lo cual dificulta su extracción. Las pequeñas muestras fueron fijadas en Fijador de Carnoy: 6 volúmenes de etanol 100%, 3 volúmenes de cloroformo, 1 volumen de ácido acético glacial, a temperatura ambiente durante 5 días. Este fijador debe prepararse en el momento de ser utilizado. Después de la fijación, se deshidrató la muestra mediante concentraciones crecientes en alcohol



etílico: una al 70% (12 a 24 horas), al 95% (1 hora c/u) y 2 al 99% (1 hora c/u). Luego, la muestra fue pasada por tolueno y por último bañada en parafina para poder ser cortada en un micrótopo. Los cortes realizados fueron de 5mm de espesor. El corte se tiñó con hematoxilina y eosina y se montó en un portaobjetos de vidrio con albúmina de Mayer. El corte se observó por microscopía óptica en un Microscopio Leica DMLB con cámara fotográfica incorporada y programa de adquisición de imágenes Leica DC 100 Versión 2.51. La técnica empleada fue ajustada a partir de la descrita por Bevilacqua y col. (1979) y Bevilacqua y Zaritzky (1980) para carne vacuna.

2.8.2. Resultados de la caracterización histológica

La Figura 2.8 muestra las secciones longitudinales de las fibras musculares de las pinzas en estado fresco de *O. trimaculatus* y *D. patagonicus* de una muestra fijada en solución de Carnoy. En la Figura 2.8 se visualizan las fibras musculares compuestas de miofibrillas. Las fibras musculares muestran un típico patrón de los músculos esqueléticos estriados reportados para otros crustáceos (Gornik, 2009; Mizuta y col. 2001). El músculo estriado es un tipo de músculo que tiene como unidad fundamental el sarcómero. Al observarlo bajo un microscopio, se observan bandas claras y oscuras alternadas. Las fibras del músculo están formadas por haces de células muy largas (hasta 30cm), cilíndricas y plurinucleadas, que contienen abundantes filamentos o miofibrillas. El diámetro de las fibras musculares estriadas oscila entre 10 y 100µm.

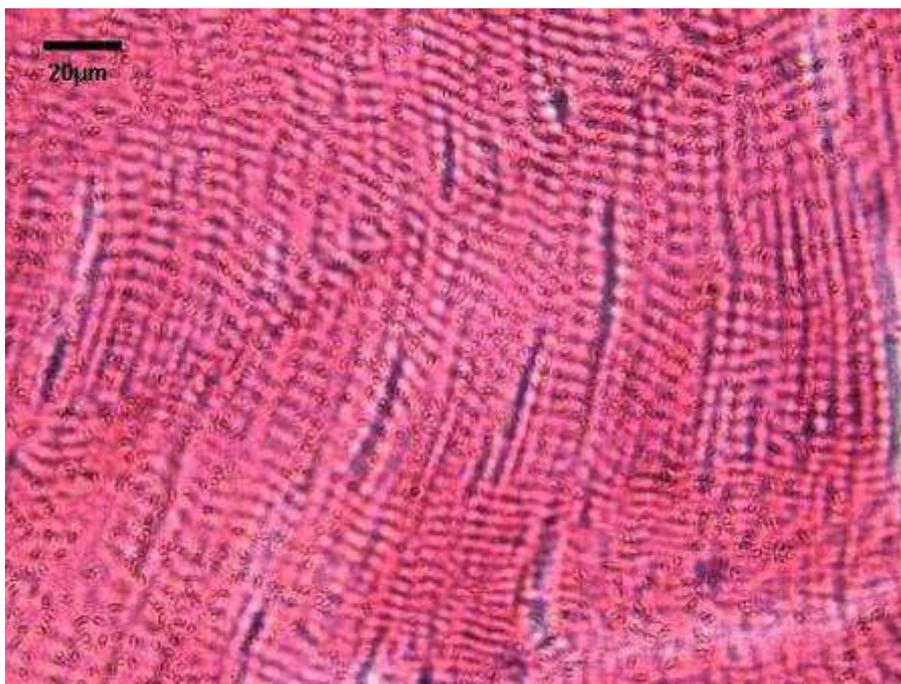
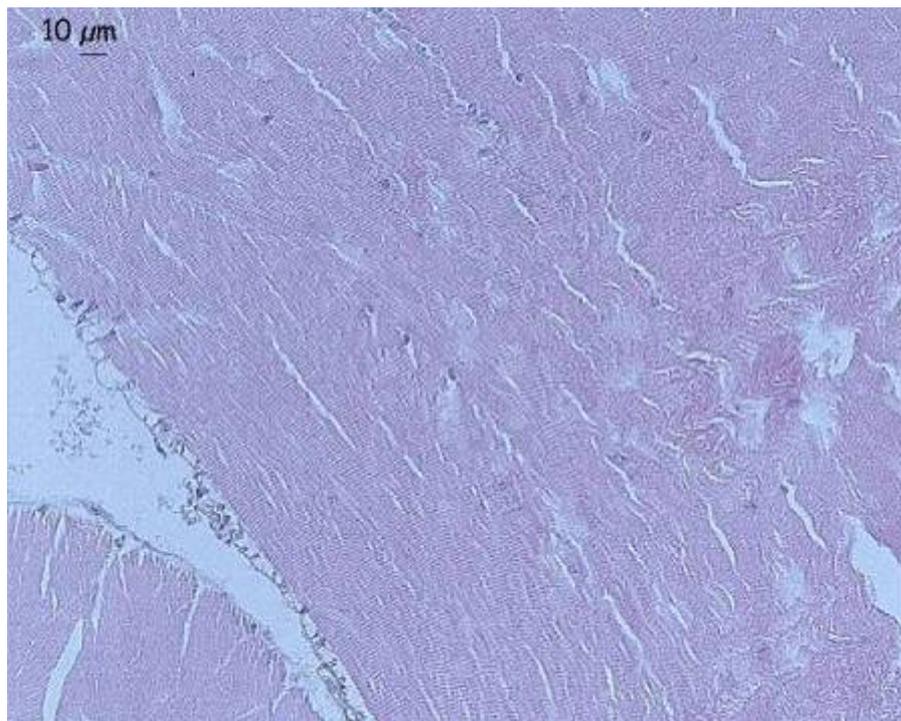


Figura 2.8 Cortes histológicos de músculo crudo de pinza de *O. trimaculatus* y *D. Patagonicus*. Escala *O. trimaculatus* (10μm), escala *D.patagonicus* (20μm).

2.9. Síntesis del Capítulo

Los cangrejos *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* se capturaron con el uso de trampas plegables y por recolección manual por buceo respectivamente, tratando de evitar el



estrés de los ejemplares. Los mismos se mantuvieron vivos hasta el procesamiento, transcurriendo no más de 30 minutos entre su captura y su acondicionamiento en el laboratorio. Las tallas de cangrejos para la captura, en principio, no deben ser menores a 70mm de ancho de caparazón, para asegurar que se trata de individuos maduros, que ya fueron capaces de reproducirse; de esta manera se asegura el mantenimiento o stock poblacional.

Los valores de la composición bioquímica proximal determinados, son los característicos para dichas especies marinas, siendo una carne rica en proteínas y baja en grasas. Los valores de NBV y pH son elevados en contraste con otros recursos pesqueros, por lo que se debe mantener condiciones de procesamiento adecuadas para evitar su aumento durante el procesamiento de su carne; esto implica, por ejemplo, evitar aumentos de temperatura y tiempos muertos de exposición del músculo al aire. Los ejemplares analizados poseen una buena capacidad de retener agua debido a la presencia de proteínas miofibrilares principalmente. El recuento microbiano resultó bajo ya que se capturaron y procesaron ejemplares sanos de aguas no contaminadas y dado que se mantuvieron vivos hasta el momento del procesamiento. Se analizaron los pesos moleculares de las proteínas miofibrilares y sarcoplámicas por electroforesis desnaturante (SDS-PAGE), observándose dos bandas predominantes: actina y miosina. El conocimiento de las características morfométricas y fisicoquímicas de la materia prima de partida permitieron diseñar la estrategia para el procesamiento de la carne de ambas especies de crustáceos.



Capítulo

3

Primera Etapa de Calentamiento



Capítulo 3

Primera Etapa de Calentamiento (Cocción)

3. Introducción

Una de las características más importantes en la industrialización de los cangrejos es que el tejido muscular se presenta adherido al exoesqueleto, por lo que es imprescindible un tratamiento térmico preliminar para poder desprenderlo. Según lo recomendado por el Codex Alimentarius (1983), dicha acción de calentamiento debe desarrollarse durante un período suficiente para que el centro térmico alcance temperaturas que produzcan la coagulación de las proteínas. Si bien la penetración del calor debe ser suficiente para desnaturalizar las proteínas del músculo, la exposición excesiva al calor puede provocar: i) la deshidratación del producto produciendo un menor rendimiento de carne y el deterioro de la textura (Baxter y Skonberg, 2007,2008), ii) la formación de compuestos de amonio que producen olores desagradables (Quitral-Robles y col. 2003), iii) la reacción entre aminoácidos y azúcares reductores (reacción de Maillard), que tiene la desventaja de reducir el valor nutritivo de los alimentos (Quitral-Robles y col. 2003). En cambio, si el proceso de transferencia de calor es adecuado, se facilita el desprendimiento de la carne del exoesqueleto formando un gel fácil de extraer. Es difícil determinar métodos y períodos de cocción de un modo general, debido a las diferencias de tamaño, estructura y fisiología de cada especie de cangrejo. Según lo recomendado por el Codex Alimentarius (1983) y la FAO (Edwards y Early, 1976) debe lograrse una temperatura mínima de la carne en el punto más frío comprendida entre 82 a 93,3°C. En la actualidad, en la industria se utilizan diferentes tiempos y procedimientos de calentamiento para diversas especies de cangrejos: Edwards y Early (1976) han reportado para *Cancer pagurus* tiempos de cocción para el cangrejo entero en agua en ebullición de entre 20 y 30 minutos. Cifuentes y Quiñinao (2000) reportó 15 minutos



para el cangrejo dorado (*Chaceon chilensis*) cocido en agua a 100°C. Para secciones de cangrejo de las nieves (*Chionoectes*) se recomienda una cocción de 7 a 15 minutos en agua a 100°C según el tamaño del cangrejo y de 3 a 5 minutos en vapor a 121°C (Codex Alimentarius, 1983). Para cangrejo azul (*Callinectes sapidus*) entero se recomienda una cocción con vapor durante 10 minutos después de alcanzar una temperatura de 121°C o cocción en agua a 100°C durante un mínimo de 15 minutos (Codex Alimentarius, 1983). Como se puede observar, las condiciones reportadas son muy variadas para las distintas especies.

Las proteínas musculares juegan un rol fundamental en la etapa de calentamiento del músculo de cangrejo. La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), es un método adecuado para estudiar las transiciones térmicas de las proteínas del músculo in situ (Paredi y col. 1994). El estudio de las proteínas musculares de diferentes alimentos se ha enfocado mediante la determinación de sus temperaturas de desnaturalización (Tmax) y de los parámetros cinéticos de sus transiciones endotérmicas tales como la entalpía de desnaturalización y energía de activación. En distintos reportes de termogramas de DSC para alimentos marinos se observan dos transiciones endotérmicas definidas, con valores de temperatura entre los 50°C y 72°C, por lo que debido a la poca cantidad de tejido conectivo en el músculo de los crustáceos, moluscos y pescados, las transiciones endotérmicas son asignadas mayoritariamente a la desnaturalización de las proteínas miofibrilares y sarcoplasmáticas (Paredi y col. 1994, 1998; Rattanasatheirn y col. 2008; Benjakul y Sutthipan, 2009). Por otro lado, debido a los mayores valores de temperatura máxima en las transiciones del músculo de mamíferos, se atribuye mayor sensibilidad térmica a las proteínas de los productos marinos.

La elección de un método y tiempo de cocción requiere de un conocimiento profundo de las ventajas que ofrece cada una de las técnicas, como así también de las características del alimento que se desea procesar. Esta información será particular



para cada línea de procesamiento que se desee implementar y producto a obtener. El modelado matemático de las operaciones de procesamiento de alimentos ha sido ampliamente utilizado. La aplicación de modelos matemáticos que permiten resolver numéricamente las ecuaciones diferenciales a derivadas parciales que rigen los procesos de transferencia térmica son de gran utilidad. Los mismos presentan ventajas adicionales sobre las soluciones analíticas, ya que se pueden aplicar sobre geometrías irregulares con propiedades térmicas y físicas variables (Erdoğdu, 2010). Diferentes problemas de transferencia de calor en alimentos marinos fueron reportados por Erdoğdu y Balaban (2010). Mokhtar y col. (2004) usaron una metodología de elementos finitos para ejemplificar los problemas de transferencia de calor en paquetes de pescado durante la etapa de preenfriamiento. La simulación computacional en la industria alimentaria ha demostrado llevar una ventaja en términos de costos y tiempos de desarrollo, al mismo tiempo que ayuda a optimizar la seguridad y la calidad del proceso. Para resolver estos problemas, la simulación numérica del proceso de transferencia de energía permite calcular la distribución tiempo-temperatura en todo el dominio del alimento variando distintos parámetros como la temperatura del medio calefactor, los coeficientes de transferencia de calor, la geometría del producto, entre otros. Su cálculo resulta fundamental cuando es necesario definir tiempos de calentamiento o adquirir equipamiento industrial. El método de los elementos finitos resulta el más adecuado para la simulación numérica ya que permite resolver problemas en sistemas de geometrías irregulares como las que se estudian en este Capítulo de Tesis.

El presente capítulo está orientado a: a) Analizar la transferencia de energía en el proceso térmico de cocción, realizando mediciones experimentales y modelando matemáticamente las historias térmicas de sistemas de geometría regular e irregular; b) Determinar la cinética de desnaturalización de proteínas durante el calentamiento del producto a diferentes temperaturas y tiempos; c) Acoplar el grado de



desnaturalización de estas proteínas con el desprendimiento de la carne de cangrejo de su lámina calcárea para un diseño óptimo del proceso tecnológico del calentamiento primario.

3.1. Muestreo y acondicionamiento de materia prima

Los ejemplares de cangrejos se capturaron y manipularon según lo descrito en el Capítulo 2. Cada ejemplar fue seccionado primeramente en cuerpo y quelas, siendo luego, cada sección, sometidas por separado a un tratamiento de calentamiento. Las quelas se obtuvieron seccionando a los ejemplares a la altura de la articulación del coxopodito, luego se hizo un segundo corte en la articulación del carpopodito y se obtuvieron las pinzas (Figs 1.2 y 3.1). Por otro lado, el cuerpo fue separado del caparazón, eviscerado, y lavado en su interior con abundante agua utilizando un cepillo limpio para poder remover las vísceras, branquias y gónadas de su interior (Fig 3.1).

3.1.2. Análisis estadísticos

La raíz cuadrada del error medio cuadrático (root-mean-square error, RMSE), se utilizó para medir las diferencias entre las temperaturas predichas numéricamente por el modelo y los valores experimentales. El mismo se calculó como:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum (T_{\text{exp}} - T_{\text{predichas}})^2}{M}} \quad (3.1)$$

Donde M es el número de mediciones y T_{exp} y $T_{\text{predichas}}$ son las temperaturas experimentales y predichas numéricamente, respectivamente.

La raíz cuadrada del error medio porcentual cuadrático (Root Mean Square Percentage Error, RMSPE) fue calculada como:

$$RMSPE = \sqrt{\frac{\sum (PE)^2}{M}} \quad (3.2)$$



Donde PE es el error porcentual calculado como:

$$PE = \left(\frac{T_{\text{exp}} - T_{\text{predichas}}}{T_{\text{exp}}} \right) \cdot 100 \quad (3.3)$$

3.2. Determinación de las curvas de penetración térmica en cuerpo y pinza de ambas especies de cangrejos a diferentes temperaturas de calentamiento en agua

3.2.1. Materiales y métodos

Los ejemplares machos de cangrejos vivos fueron seccionados en cuerpo y pinzas, según se observa en la Figura 3.1 (el mismo procedimiento fue llevado a cabo para ambas especies), para medir en cada una de estas secciones las correspondientes curvas de penetración térmica. El calentamiento se realizó mediante inmersión en agua en un baño termostático a 70°C, 80°C, 90°C y 100°C durante períodos de 900 segundos para los cuerpos de ambas especies y para las pinzas correspondientes a *D. patagonicus* (DP) de 100-125mm longitud (pinzas grandes), y 500 segundos para pinzas correspondientes *O. trimaculatus* (OT) de 40-50mm de longitud (pinzas pequeñas). Las curvas tiempo-temperatura se obtuvieron por medio del uso de termocuplas tipo K, situadas en la zona de mayor espesor del tejido muscular, y conectadas a un voltímetro (Omega, USA) que registraba la temperatura del músculo. Considerando que la pinza se asemeja a un cilindro de sección transversal elíptica, la termocupla fue colocada en el centro geométrico del mismo. En el caso del cuerpo, la geometría es irregular, por lo cual la termocupla fue colocada en la zona de mayor cantidad de tejido muscular, llamada comercialmente “Jumbo” y que corresponde al músculo de la inserción de la pata trasera en el cuerpo. Estos datos experimentales fueron luego comparados con las simulaciones numéricas del problema de transferencia de energía.

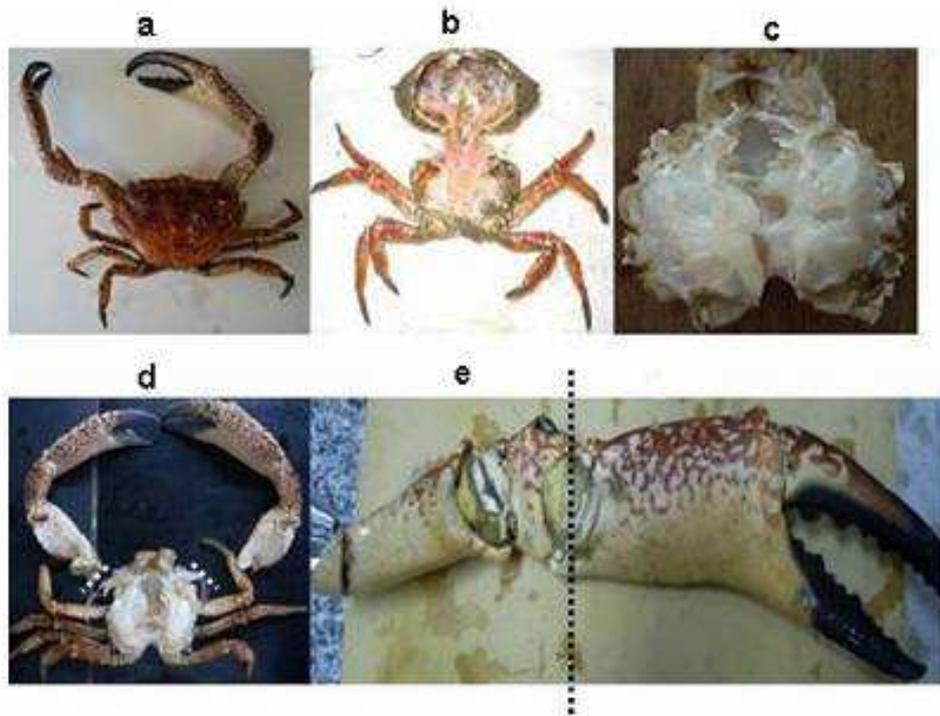


Figura 3.1 Seccionado del cangrejo *D. Patagonicus*. a) cangrejo entero; b) cangrejo sin pinzas y decaparazonado; c) cuerpo de cangrejo eviscerado, sin pinzas y patas listo para el calentamiento; d) ejemplo del seccionado de las pinzas y patas; e) quela de cangrejo, línea punteada negra: corte de la quela para la obtención de la pinza.

3.2.2. Resultados de las curvas de penetración térmica a diferentes temperaturas del agua de calentamiento

La Figura 3.2 muestra las curvas de penetración de calor obtenidas para los cuerpos y pinzas de ambas especies a temperaturas de calentamiento entre 70°C y 100°C.

En *D. patagonicus*, la longitud de las pinzas (LP) osciló entre 0,090-0,125m, el diámetro menor de la pinza (Dm) entre 0,027-0,035m, el diámetro mayor (DM) entre 0,037-0,048 m y el alto u espesor (AIP) varió entre 0,023-0,034m (Fig 3.2c). Para *O. trimaculatus* la longitud de las pinzas varió entre 0,035-0,050m, el diámetro menor de las pinzas entre 0,020-0,028m, el mayor entre 0,024-0,030m y el alto u espesor entre 0,018-0,023m (Fig 3.2b). La oscilación de tamaños es menor para ejemplares de *O. trimaculatus*, lo cual se debe a la morfometría misma de la especie. Ambas especies



tienen tamaños similares de cuerpo (sin el caparazón). La longitud máxima osciló entre 0,058-0,080m y la altura entre 0,028-0,032m (Fig 3.2a).

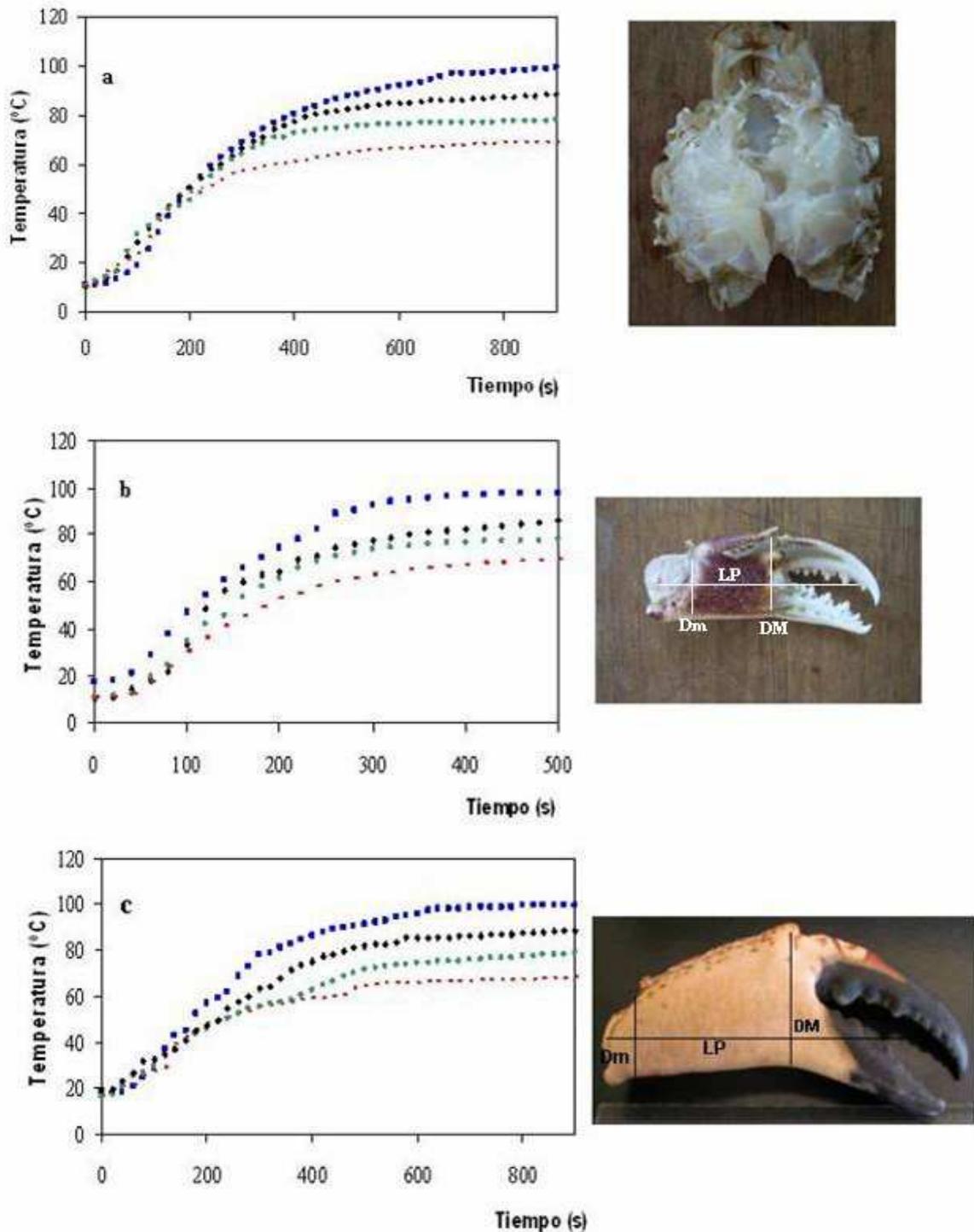


Figura 3.2 Curvas de penetración térmica. a) Cuerpo; b) Pinzas chicas (OT); c) Pinzas grandes (DP). Curvas experimentales de calentamiento: Azul- 100°C; Negro- 90°C; Verde- 80°C y Rojo- 70°C.



3.3. Simulación y modelado matemático de la transferencia de energía, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF)

El proceso de transferencia de calor en el cuerpo y las pinzas de ambas especies de cangrejos (Figs 3.1 y 3.2) fue modelado matemáticamente considerando su geometría regular e irregular según el caso. La ecuación no estacionaria en derivadas parciales que representa la conducción del calor en el cuerpo fue resuelta numéricamente teniendo en cuenta un sólido de revolución. En el caso de las pinzas, el problema se resolvió considerando que la geometría puede ser representada por un cilindro extruído con una sección transversal elíptica. En ambos casos (cuerpo y pinzas) se consideró la presencia de un sistema heterogéneo formado por dos dominios de diferentes materiales: carne y una capa externa calcárea de carbonato de calcio.

Suponiendo que la geometría del sistema “cuerpo de cangrejos” se puede considerar como un sólido de revolución, la ecuación diferencial que gobierna la transferencia de energía expresada en coordenadas cilíndricas para un problema axial simétrico es:

$$\rho_1 C_{p1} \frac{\partial T}{\partial t} r = \frac{\partial}{\partial r} \left(k_1 r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k_1 r \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad \text{en } \Omega 1 \quad t > 0 \quad (3.4)$$

$$\rho_2 C_{p2} \frac{\partial T}{\partial t} r = \frac{\partial}{\partial r} \left(k_2 r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(k_2 r \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad \text{en } \Omega 2 \quad t > 0 \quad (3.5)$$

Donde $\Omega 1$ y $\Omega 2$ son los dominios en los que las ecuaciones son válidas (1 es el músculo y 2 es la capa calcárea), siendo T la temperatura, t el tiempo del proceso, ρ la densidad, k la conductividad térmica y C_p el calor específico del material, r y z las coordenadas geométricas.

Las condiciones iniciales y de contorno entre los dos materiales está dada por:

$$-k_1(\nabla T \cdot n_1) = -k_2(\nabla T \cdot n_2) \quad \text{en } \delta\Omega 1 \quad t > 0 \quad (3.6)$$

donde n_1 y n_2 son los vectores externos normales unitarios en la interfase.

La ecuación que representa la condición de contorno convectiva es:



$$-k_2(\nabla T \cdot n_2) = h \cdot (T - T_{\text{ext}}) \quad \text{en } \delta\Omega_2 \quad t > 0 \quad (3.7)$$

donde h es el coeficiente de transferencia calor de superficie, T_{ext} es la temperatura externa del medio calefactor y $\delta\Omega_2$ representa la superficie exterior del producto.

En el eje de simetría, la condición límite es la siguiente:

$$-k_1(\nabla T \cdot n_1) = 0 \quad \text{en } r = 0 \quad t > 0 \quad (3.8)$$

La condición inicial se consideró uniforme en ambos materiales, los dominios son:

$$T = T_0 \quad \text{en } \Omega_1 \text{ y } \Omega_2 \quad t = 0 \quad (3.9)$$

Con el fin de resolver las ecuaciones que gobiernan la transferencia de calor, se utilizó un algoritmo numérico de elementos finitos (Seegerlind, 1984) para predecir las curvas de tiempo-temperatura en ambos dominios. Los dominios se discretizan en elementos puntuales y nodos que forman la estructura de la red. La distribución de la temperatura (\tilde{T}) en cualquier punto del dominio se aproxima por el uso de funciones de interpolación (H) y las temperaturas de nodo (\hat{T}) en el elemento dado.

La temperatura se representa mediante el uso de un espacio de dimensión finita V_h con la interpolación de funciones H (Método de Galerkin).

Aplicando el teorema de Green, se obtiene la siguiente ecuación (3.10)

$$\underbrace{\int_{\Omega} (H^t r p C_p H d(\Omega))}_{CG} \dot{T} - \underbrace{\left[\int_{\delta\Omega} (H^t h r H d(\delta\Omega)) + \int_{\Omega} (\nabla H^t \cdot \nabla H) \cdot k r d(\Omega) \right]}_{KG} \hat{T} + \underbrace{\int_{\delta\Omega} H^t h r T_{\infty} d(\delta\Omega)}_{FG} = 0 \quad (3.10)$$

donde CG es la matriz de capacitancia global, KG es la matriz de la conductancia global, y FG el vector de fuerza global, \hat{T} es el vector que representa los valores de temperatura en los puntos nodales, y \dot{T} representa la $\frac{\partial \hat{T}}{\partial t}$.



Este problema semidiscreto es un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que puede ser resuelto por los valores de T en los puntos nodales de la región y está dada por:

$$CG \dot{T} + KGT = FG \quad (3.11)$$

El programa COMSOL Multiphysics (Programa v3.5a) se utilizó para generar la malla de elementos finitos y para resolver numéricamente las ecuaciones no estacionarias de transferencia de calor en derivadas parciales. La geometría del cuerpo de los cangrejos se consideró irregular, heterogénea y de revolución, que incluyó una capa calcárea de 1mm de espesor. Para las pinzas de ambas especies se consideró una sección transversal elíptica de un cilindro extruído, variando las correspondientes dimensiones según la especie considerada. Las longitudes de los ejes mayor y menor de las secciones transversales elípticas medias fueron 0,400m y 0,285m para las pinzas de *D. patagonicus* y de 0,277m y 0,225m para las pinzas de *O. trimaculatus*. También se incluyó la presencia de una lámina calcárea de 1mm y 0,7mm de espesor para pinzas de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*, respectivamente.

3.4. Determinación de las propiedades termofísicas del músculo: Densidad (ρ), Conductividad térmica (k) y Calor específico (C_p)

3.4.1. Materiales y métodos

Para estimar los tiempos de calentamiento en un alimento de deben considerar las propiedades termofísicas de los mismos, las cuales varían con la temperatura. Estas variaciones suelen ser significativas y no despreciables en procesos donde se involucra un cambio de fase del agua del alimento, por ejemplo durante la congelación (Capítulo 6). Se han realizado diferentes estudios con el objeto de conocer las propiedades termofísicas de los alimentos en general y productos marinos en particular (Sweat, 1975; Choi y Okos, 1986; Rahman, 1993); en éstos se han obtenido valores para cada una de las propiedades y se han desarrollado modelos matemáticos



para predecir su comportamiento a partir de la relación con la temperatura y características del material como: la composición química, el contenido de humedad, la estructura y tamaño, entre otras variables (Nesvadba, 2004). Las propiedades termofísicas: densidad (ρ), calor específico (C_p) y conductividad térmica (k) del tejido muscular de cada sección del cangrejo, que se utilizan en el modelo computacional propuesto para el calentamiento de pinzas y cuerpos de los mismos, se estimaron teniendo en cuenta la composición bioquímica del músculo, reportada en el Capítulo 2, y utilizando las ecuaciones propuestas por Choi y Okos (1986) (Tabla 3.1). Éstas son aplicables a un rango amplio de temperaturas y tienen en cuenta la composición de diferentes alimentos, por lo que pueden ser utilizadas en diferentes condiciones de procesos.

3.4.2. Determinación de las propiedades termofísicas del músculo: Densidad (ρ), Conductividad térmica (k) y Calor específico (C_p)

Aplicando las ecuaciones expresadas en la Tabla 3.1, junto con los valores de la composición bioquímica del Capítulo 2, se obtuvieron los gráficos de densidad, calor específico y conductividad térmica para un rango de temperaturas entre 20°C y 100°C, temperaturas a las cuales estuvieron sujetas las secciones de cangrejos (pinzas y cuerpo) durante la cocción. La Tabla 3.2 muestra los valores de las propiedades termofísicas calculadas a través de las ecuaciones propuestas por Choi y Okos (1986). Dado que no hubo diferencias significativas en la composición bioquímica entre especies, se consideró el mismo contenido bioquímico para ambas. Los valores de la Tabla 3.2 se encuentran dentro del rango reportado por Radhakrishnan (1997) para diferentes especies marinas, donde la conductividad térmica (k) varió entre 0,4W/mK y 0,6W/mK para un rango de temperatura de estudio entre 5°C y 35°C, siendo los valores de k mayores en crustáceos, tales como los langostinos, en relación a peces como la caballa, donde la conductividad térmica fue menor debido a su mayor fracción grasa y menor contenido de humedad. Para el calor específico, Rahman (1993) ha



reportado valores en el rango de 3,29kJ/kgK a 3,79kJ/kgK para diferentes pescados y mariscos frescos a temperatura de trabajo de 17°C aproximadamente.

Tabla 3.1 Ecuaciones propuestas por Choi y Okos (1986) utilizadas para predecir las propiedades termofísicas de tejido de cangrejo en la simulación numérica.

Propiedades termofísicas	Componentes principales	Grupo de ecuaciones en función de la temperatura
k (W/m°C) $k = \sum k_i X_i^V$	Proteínas Grasas Carbohidratos Cenizas Agua Hielo	$k=1,7881 \times 10^{-1} + 1,1958 \times 10^{-3} T^2 - 2,7178 \times 10^{-6} T^2$ $k=1,8071 \times 10^{-1} - 2,7604 \times 10^{-3} T - 1,7749 \times 10^{-6} T^2$ $k=2,0141 \times 10^{-1} + 1,3874 \times 10^{-3} T - 4,3312 \times 10^{-6} T^2$ $k=3,2962 \times 10^{-1} + 1,4011 \times 10^{-3} T - 2,9069 \times 10^{-6} T^2$ $k=5,7109 \times 10^{-1} + 1,7626 \times 10^{-3} T - 6,7036 \times 10^{-6} T^2$ $k=2,2196 - 6,2489 \times 10^{-3} T + 1,0154 \times 10^{-4} T^2$
ρ (Kg/m³) $\rho = \frac{1}{\sum X_i^w / \rho_i}$	Proteínas Grasas Carbohidratos Cenizas Agua Hielo	$\rho=1,3299 \times 10^{-3} - 5,1840 \times 10^{-1} T$ $\rho=9,2559 \times 10^{-2} - 4,1757 \times 10^{-1} T$ $\rho=1,5991 \times 10^{-3} - 3,1046 \times 10^{-1} T$ $\rho=2,4238 \times 10^{-3} - 2,8063 \times 10^{-1} T$ $\rho=9,9718 \times 10^2 + 3,1439 \times 10^{-3} T - 3,7574 \times 10^{-3} T^2$ $\rho=9,1689 \times 10^2 - 1.3071 \times 10^{-1} T$
C_p (kJ/kg°C) $C_p = \sum C_{Pi} X_i^w$	Proteínas Grasas Carbohidratos Cenizas Agua Hielo	$C_p=2,0082 + 1,2089 \times 10^{-3} T - 1,3129 \times 10^{-6} T^2$ $C_p=1,9842 + 1,4733 \times 10^{-3} T - 4,8008 \times 10^{-6} T^2$ $C_p=1,5488 + 1,9625 \times 10^{-3} T - 5,9399 \times 10^{-6} T^2$ $C_p=1,0926 + 1,8896 \times 10^{-3} T - 3,6817 \times 10^{-6} T^2$ $C_p=4,1762 \times 10^{-3} - 9,0864 \times 10^{-2} T + 5,4731 \times 10^{-3} T^2$ $C_p=2,0623 \times 10^{-3} + 6,0769 T$

* X_i^w es la fracción en peso del componente i y X_i^V es la fracción de volumen estimado. T es la temperatura (°C).



Tabla 3.2 Propiedades termofísicas del músculo de cangrejo y el caparazón calcáreo.

Propiedades termofísicas			
	k (W/mK)	ρ (kg/m³)	c_p (kJ/kgK)
Tejido muscular*	0,54-0,60	1071-1034	3,76-3,82
Caparazón calcáreo**	3,89	2700	0,806

Los rangos de valores entre 20 y 100°C para el tejido muscular del cangrejo. Las propiedades termofísicas como una función de la temperatura se calcularon utilizando Choi y Okos (1986) mediante las ecuaciones, que se presentan en la Tabla 3.1.Valores promedio de las propiedades termofísicas de la capa calcárea en el intervalo de temperaturas entre 20 y 100°C.*

3.5. Determinación experimental del calor específico (C_p) por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

3.5.1. Materiales y métodos

La determinación del C_p también fue realizada utilizando Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, TA Instruments, New Castle, Delaware, USA modelo Q100). En este equipo se hicieron corridas de calentamiento a una velocidad de 10°C/min desde 10°C hasta 100°C, con un período isotérmico inicial de 10 minutos a -50°C. La primera corrida se realizó para obtener una línea de base, por lo que se utilizaron dos cápsulas vacías de igual peso. Luego se obtuvo el termograma correspondiente a un estándar de zafiro. La tercera corrida se realizó con la muestra de carne de cangrejo cruda. El procedimiento completo se realizó por triplicado, correspondiente a tres muestras independientes. El equipo fue previamente calibrado y la temperatura corregida con un estándar de agua bidestilada.

El cálculo del C_p se realizó según la norma ASTM E1269 y según McNaughton y Mortimer (1975). El mismo se obtiene a partir de las alturas L1 y L2, conociendo el peso de la muestra (m₂) y del zafiro (m₁) y mediante la ecuación representada en la Figura 3.3.

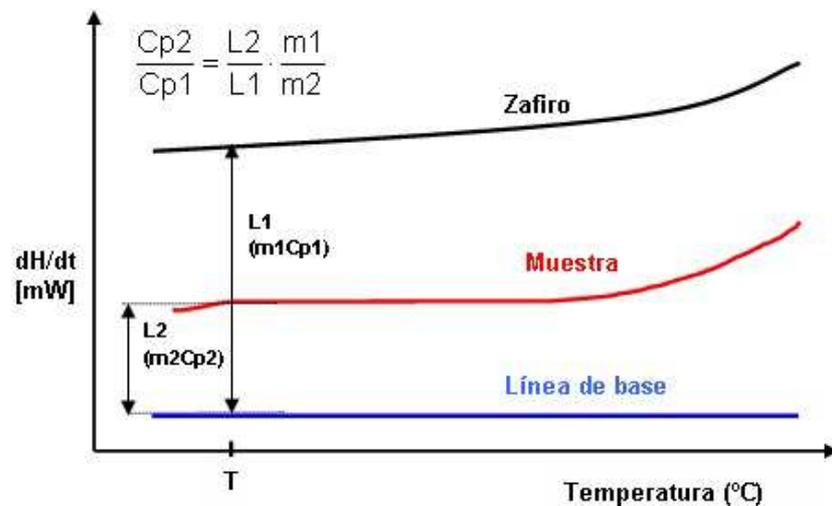


Figura 3.3 Representación esquemática de las curvas obtenidas por DSC para el cálculo del calor específico. Fórmula para la obtención del calor específico del músculo de cangrejo.

3.5.2. Resultados de la medición del calor específico por Calorimetría Diferencial de Barrido

Los valores experimentales del calor específico de la carne de cangrejo medido por DSC se representan en la Figura 3.4 (línea discontinua). Los mismos se obtuvieron aplicando la metodología descrita anteriormente en la Sección 3.5.1. Los valores de C_p experimentales fueron comparados con los obtenidos por las ecuaciones de Choi y Okos (1986), que están representados por la línea continua en la Figura 3.4. Se observó una muy buena correlación entre los valores de C_p experimentales y los predichos, en el rango de temperatura estudiado.

Es interesante notar que la curva de C_p obtenida por DSC, muestra varias inflexiones leves que pueden ser atribuidas a la desnaturalización de las proteínas durante el tratamiento térmico, teniendo en cuenta que el DSC es capaz de medir variaciones de entalpía durante el desarrollo de la desnaturalización térmica. Sin embargo, debido a los valores relativamente bajos de estos cambios de entalpía, las desviaciones en los valores de C_p no serían significativas para las aplicaciones en la simulación de



transferencia de calor. Hallazgos similares fueron reportados por Murphy y col. (1998) para la carne de pollo.

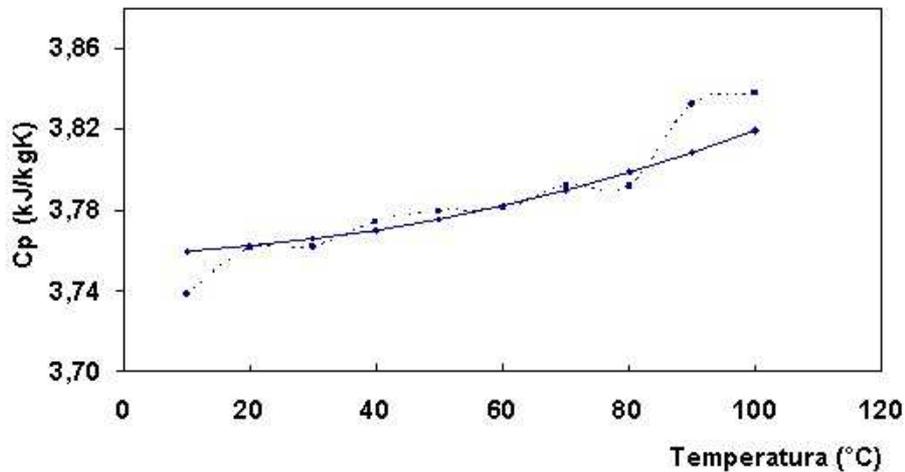


Figura 3.4 Rango de valores del calor específico (C_p) de carne de cangrejo. Valores experimentales medidos por DSC (línea punteada). Valores predichos usando las ecuaciones de Choi y Okos (1986) (línea llena).

3.6. Determinación del coeficiente de transferencia calórica (h)

En el proceso de calentamiento o enfriamiento, la transferencia de calor depende de variables como la velocidad y las propiedades del fluido externo y la geometría del alimento, entre otros parámetros. Estos factores se consideran englobados en el coeficiente de transferencia calórica en interfase (h , $W/m^2\text{°C}$), el cual debe ser introducido en el programa de simulación numérica del proceso de calentamiento (cocción) de las pinzas y cuerpo de los cangrejos. Con el propósito de obtener los valores de h se realizaron experimentos independientes utilizando prototipos de geometría regular construidos en aluminio: esfera (6cm de diámetro) y cilindro: (5cm de diámetro y 5cm de altura), a los cuales se les insertaron termocuplas tipo K en su centro geométrico. Una vez sumergidos los cuerpos de aluminio en los baños termostáticos a las diferentes temperaturas de calentamiento ensayadas, se obtuvieron las curvas de temperatura en función del tiempo. Los coeficientes de transferencia h se determinaron por el ajuste de las curvas predichas por el programa



COMSOL Multiphysics a los datos experimentales de temperatura versus tiempo obtenidos para la esfera y el cilindro de aluminio.

Los valores de h obtenidos oscilaron entre 750 y 850W/m²K. Estos valores fueron luego introducidos en el modelo para simular el proceso de calentamiento de las pinzas y cuerpo de cangrejo.

3.7. Resultados de la simulación y modelado matemático de la transferencia de energía, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF)

Como ya se mencionó, la Tabla 3.1 muestra las ecuaciones propuestas por Choi y Okos (1986) para calcular las propiedades termofísicas (densidad, calor específico y conductividad térmica), de proteínas, grasas, carbohidratos, cenizas y agua como una función de la temperatura. Con estas ecuaciones y el conocimiento de la composición química del tejido de cangrejo se calcularon las propiedades termofísicas del músculo de cangrejo en función de la temperatura (Tabla 3.2).

Tanto los valores de las propiedades de la composición termofísica del músculo de cangrejo, como los de la capa calcárea que la recubre y los valores del coeficiente de transferencia h se alimentaron al modelo numérico propuesto que se generó en el programa COMSOL Multiphysics. Se resolvió en estado no estacionario la ecuación diferencial a derivadas parciales de conducción de calor con condiciones de contorno convectivas. En el caso del cuerpo, la geometría considerada fue irregular, heterogénea y de revolución.

Las secciones del sólido de revolución que representa el cuerpo de cangrejo, se obtuvieron a partir de fotografías del cefalotórax (Fig 3.2a). En todos los casos las mallas fueron generadas en el programa COMSOL Multiphysics.

En la Figura 3.5 se muestra un ejemplo de la geometría computacional del cuerpo de cangrejo con plano de simetría vertical, construido mediante la rotación de la sección longitudinal alrededor del eje vertical (300°), que representa el cuerpo del cangrejo de *O. trimaculatus* y la malla generada (731 elementos). La Figura 3.6 muestra un



ejemplo de la malla de la sección transversal elíptica (1071 elementos), que representa una pinza de *D. patagonicus*; la misma geometría (con diferente tamaño) se consideró para las pinzas de *O. trimaculatus* (Fig 3.7). En las Figuras 3.5, 3.6 y 3.7 se observan también las curvas de penetración térmica experimentales versus las curvas simuladas numéricamente, realizadas en el cuerpo del cangrejo *O. trimaculatus* y en el centro de las pinzas de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* para diferentes temperaturas de calentamiento (100°, 90°, 80° y 70°C).

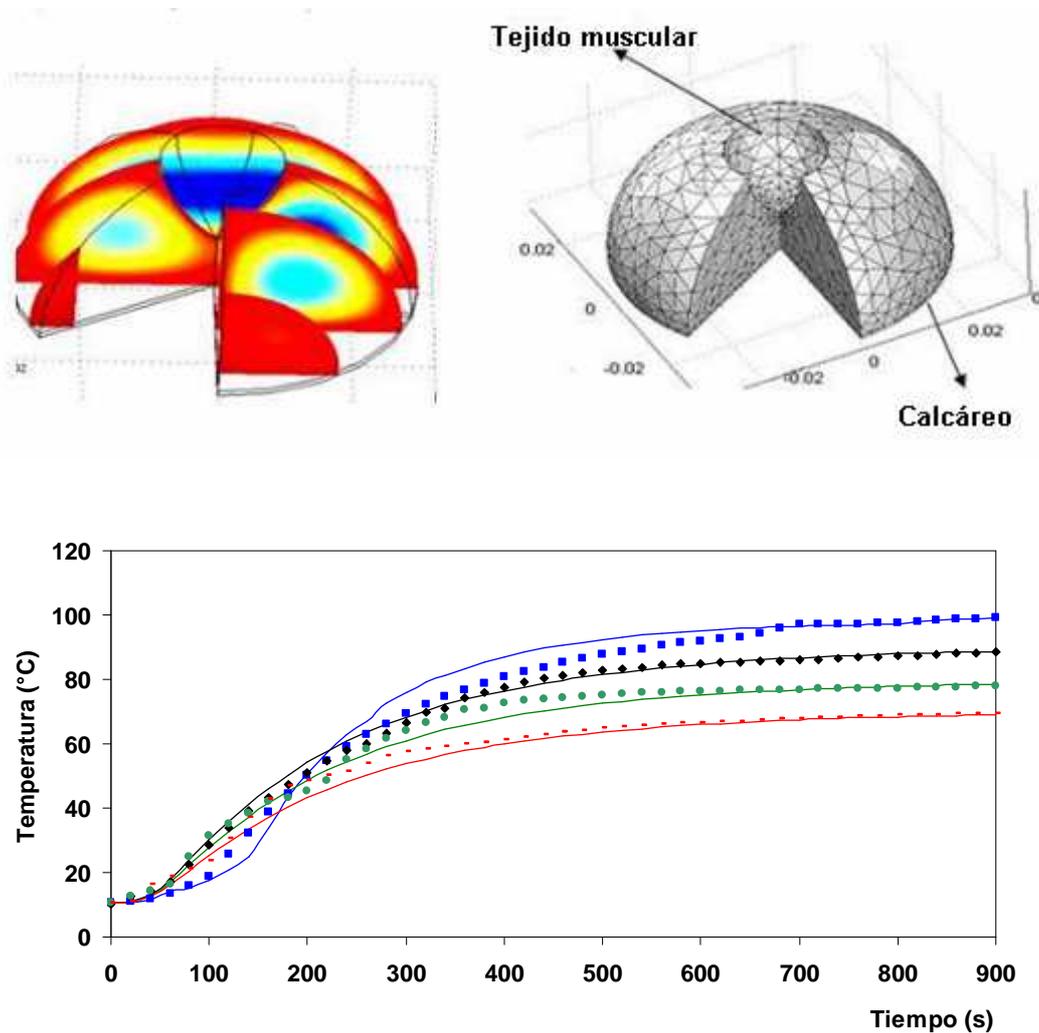


Figura 3.5 Geometría computacional y malla generada correspondiente al cuerpo de *O. trimaculatus*. Comparación de los datos experimentales con la predicción de las curvas de penetración térmica a diferentes temperaturas de calentamiento. Azul: 100°C, Negro: 90°C, Verde: 80°C, Rojo: 70°C.

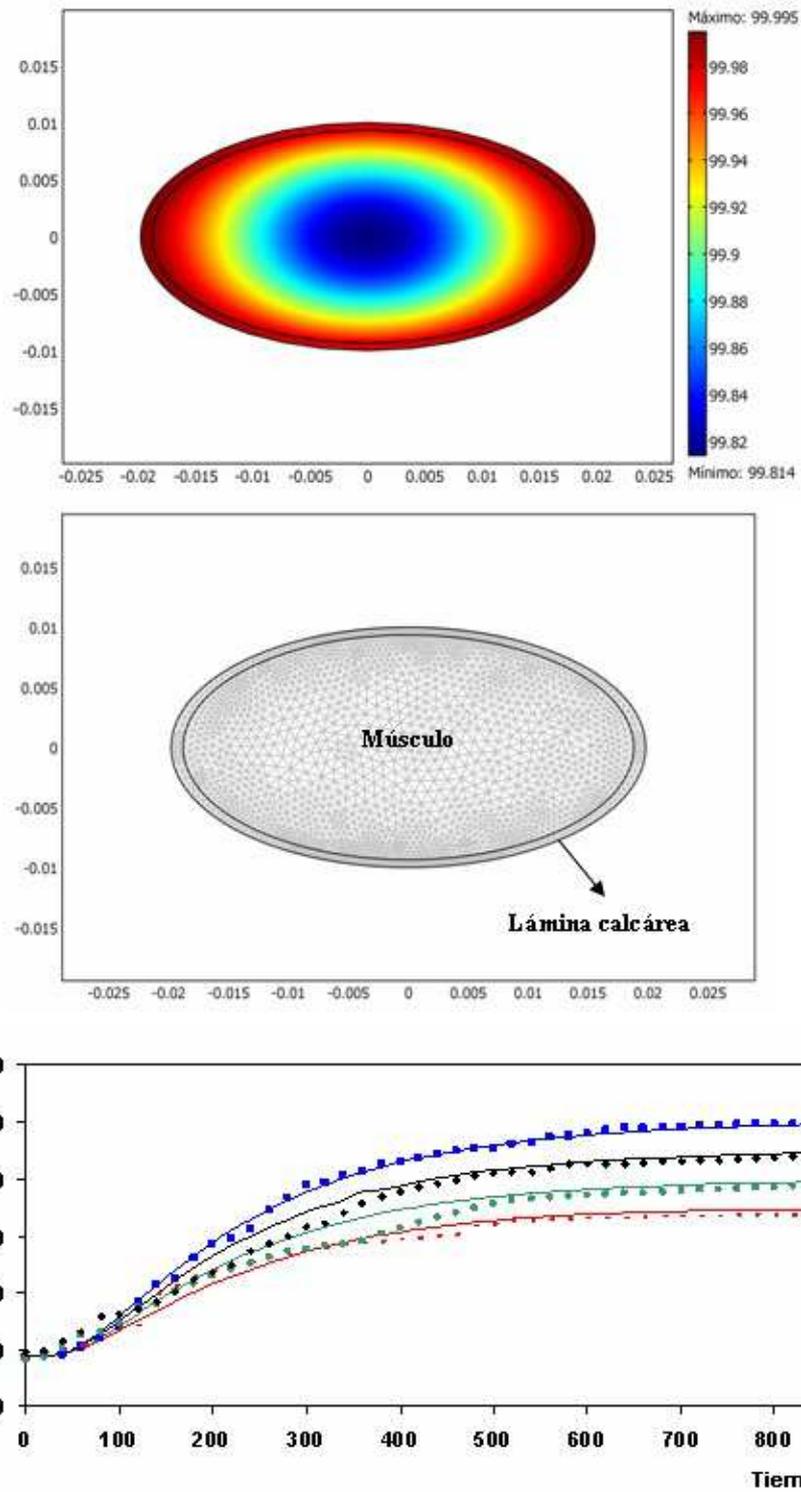


Figura 3.6 Sección transversal de la pinza y la malla correspondiente a pinza de *D. patagonicus*. Comparación de los datos experimentales con la predicción de las curvas de penetración térmica de las pinzas de *D. patagonicus* a diferentes temperaturas de calentamiento. Azul: 100°C, Negro: 90°C, Verde: 80°C, Rojo: 70°C.

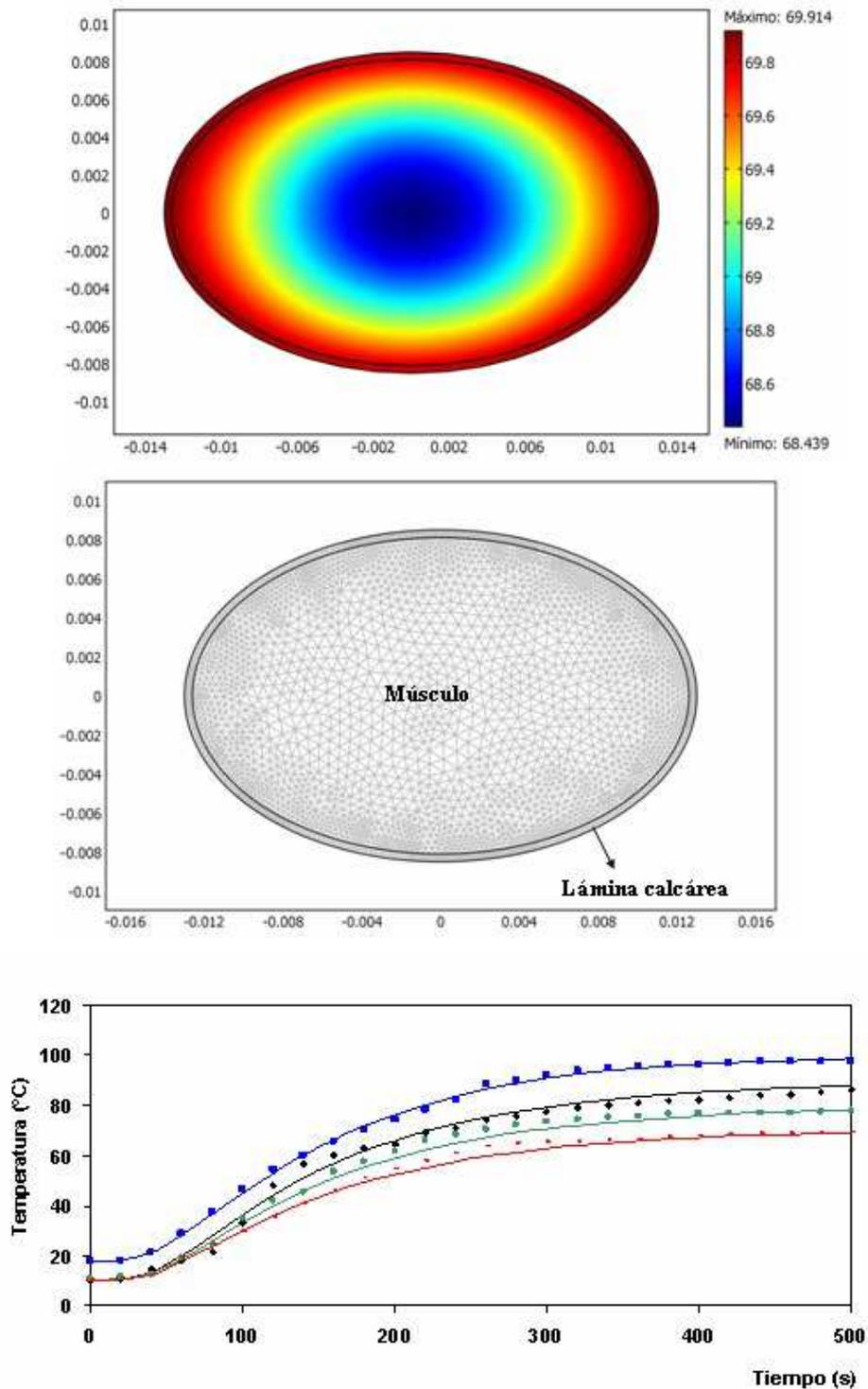


Figura 3.7 Sección transversal de la pinza y la malla correspondiente a pinza de *O. trimaculatus*. Comparación de los datos experimentales con la predicción de las curvas de penetración térmica de las pinzas de *O. trimaculatus* a diferentes temperaturas de calentamiento. Azul: 100°C, Negro: 90°C, Verde: 80°C, Rojo: 70°C.



Como puede observarse, el modelo propuesto en la simulación numérica coincidió satisfactoriamente con los datos tiempo-temperatura hallados experimentales para todas las curvas. La raíz cuadrada del error porcentual medio (RMSPE%) entre las temperaturas simuladas y experimentales, teniendo en cuenta todas las corridas, fue menor a 4,2%, a través de lo cual se puede concluir que las predicciones del modelo se consideran satisfactorias.

3.8. Determinación de la cinética de desnaturalización de proteínas por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

3.8.1. Materiales y métodos

Se utilizó Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, TA Instruments Q100, New Castle, EE.UU.) para determinar la cinética de la desnaturalización de las proteínas musculares. Se tomaron pequeñas muestras de músculo fresco (aproximadamente 75mg) a partir de los cangrejos crudos. Estas muestras fueron tratadas térmicamente en un baño termostático con agua a temperaturas constantes de 60°C, 70°C, 80°C, 90°C y 100°C durante tiempos de inmersión que dependieron de la temperatura del agua. Para 60°C, los tiempos de inmersión oscilaron entre 15 segundos y 15 minutos, mientras que a 100°C fueron de 2 a 40 segundos. Cada experimento se llevó a cabo utilizando un mínimo de 5 muestras de carne para cada especie de cangrejo. Se insertó una termocupla Tipo K en el centro de cada muestra para asegurar que el gradiente de temperatura sea despreciable. Posteriormente, el músculo crudo (control) y las muestras tratadas térmicamente (que se sometieron previamente a diferentes temperaturas y tiempos de calentamiento en un baño termostático) se colocaron en cápsulas de aluminio herméticamente selladas y se calentaron en el DSC entre 10°C y 100°C a una velocidad de 10°C/min. Cada corrida se realizó por triplicado para cuerpo y pinzas de ambas especies. La metodología adoptada para evaluar la desnaturalización de las proteínas debida a la calefacción se basó en los resultados reportados de Martens y col. (1982). Estos autores explicaron que debido al desfase



térmico en las muestras corridas en el DSC, por ejemplo a una velocidad de 10°C/min, y agregado al hecho que la desnaturalización térmica de la proteína muscular es irreversible, la proteína en un tejido de la carne puede ser desnaturalizada a temperaturas por debajo de los picos del DSC. Por lo tanto, es difícil leer datos precisos de temperatura de desnaturalización directamente desde el termograma del tejido crudo. Sin embargo, para una muestra que ha sido tratada térmicamente antes del pasaje por el DSC, se observan picos cuyas áreas son proporcionales a la cantidad de proteína nativa que queda en la muestra después del primer tratamiento térmico. Los porcentajes de proteína nativa que quedan después de cada tratamiento térmico se obtuvieron de las áreas bajo los picos de los termogramas.

3.8.2. Resultados de la cinética de desnaturalización de proteínas por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

De acuerdo con Burton y Robert (1972) y el Codex Alimentarius (1983), entre otros autores, es necesario desnaturalizar las proteínas miofibrilares en el centro del cuerpo y pinzas para obtener un desprendimiento adecuado de la carne de cangrejo del exoesqueleto durante la extracción manual ("Picking"). Por lo tanto, es importante, desde el punto de vista tecnológico, determinar la cinética de desnaturalización de las proteínas miofibrilares debida al tratamiento térmico. Los termogramas obtenidos por DSC del músculo de cangrejo crudo mostraron dos picos importantes; uno correspondiente a la actina y el otro a la miosina, ambas proteínas miofibrilares. La miosina es la proteína menos estable al calor, por lo tanto, las temperaturas de desnaturalización térmica son menores que en el caso de la actina (Skipnes y col. 2008). Las entalpías de los picos endotérmicos de la actina y miosina disminuyeron durante el tiempo de calentamiento. El efecto de la temperatura del agua del baño termostático (70°, 80°, 90° y 100°C) y el tiempo de calentamiento en la desnaturalización de las proteínas miofibrilares se pudo observar a través de los gráficos obtenidos por el DSC. En la Figura 3.8 se muestran ejemplos de los termogramas del músculo de



cangrejo después de tiempos de calentamiento especificados, a temperaturas del agua de 70°C y 100°C.

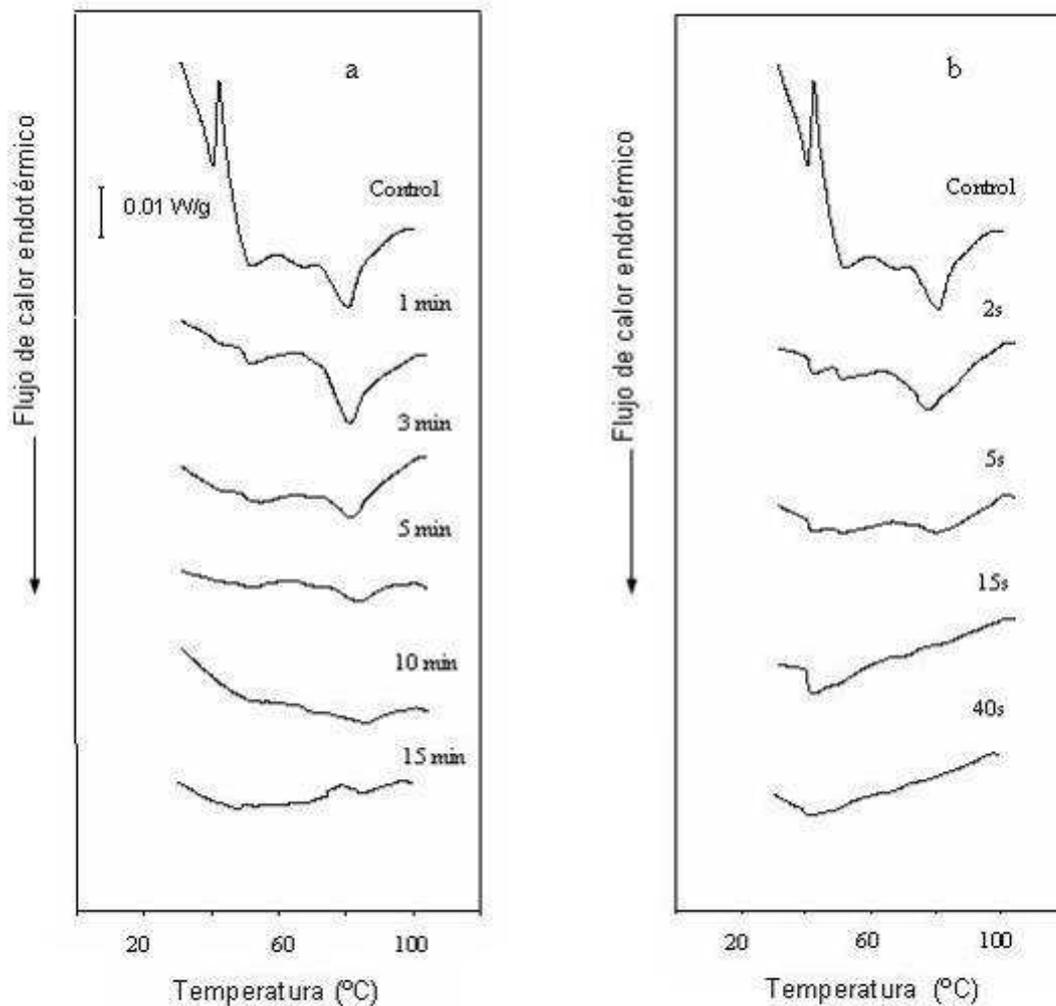


Figura 3.8 Termogramas obtenidos por DSC de las muestras de músculo de cangrejo calentadas previamente en agua a: a) 70°C- con tiempos de inmersión que oscilan entre 1 y 15 minutos. b) 100°C- con tiempos de inmersión que oscilan entre 2 y 40 segundos. Control es la muestra sin tratamiento térmico.

En la Tabla 3.3 se pueden observar los valores de las entalpías para la actina y miosina a las diferentes temperaturas y tiempos de calefacción de la muestra en el DSC. Como entre ambas especies de cangrejos no se encontraron diferencias significativas en las temperaturas máximas y las entalpías (ANOVA, $P > 0,05$), se trabajó con sus valores medios.



Tabla 3.3 Valores de temperaturas (T) y entalpías (ΔH) para las diferentes temperaturas de calentamiento a diferentes tiempos de exposición en el baño termostático.

Termogramas 60°C				
Tiempo(s)	T1(°C)	Área 1 ΔH(J/g)	T2(°C)	Área2 ΔH(J/g)
40	49,85	0,047± 0,003	75,29	0,323± 0,014
60	50,17	0,031± 0,001	77,42	0,319± 0,001
180	49,93	0,025± 0,006	76,69	0,296± 0,019
480	49,58	0,022± 0,002	76,25	0,246± 0,035
900	52,9	0,012± 0,004	76,13	0,13± 0,052

Termogramas 70°C				
Tiempo(s)	T1(°C)	Área 1 ΔH(J/g)	T2(°C)	Área 2 ΔH(J/g)
30	48,86	0,077± 0,004	76,64	0,306± 0,029
60	48,86	0,048± 0,002	76,71	0,275± 0,046
120	49	0,031± 0,002	77,29	0,243± 0,007
180	49,01	0,027± 0,002	77,33	0,156± 0,019
300	49,36	0,019± 0,002	79,65	0,114± 0,008
600	49,7	0,013± 0,001	80,13	0,035± 0,042
900	—	—	—	—

Termogramas 80°C				
Tiempo(s)	T1(°C)	Área 1 ΔH(J/g)	T2(°C)	Área 2 ΔH(J/g)
15	49,21	0,046± 0,009	77,02	0,246± 0,032
40	49,51	0,027± 0,005	77,19	0,223± 0,025
60	48,5	0,021± 0,004		
120	49,17	0,008± 0,000		

Termogramas 90°C				
Tiempo(s)	T1(°C)	Área 1 ΔH(J/g)	T2(°C)	Área 2 ΔH(J/g)
5	49,21	0,030± 0,003	76,77	0,296± 0,015
10	50,41	0,020± 0,002	77,3	0,089± 0,000
30	—	—	—	—
45	—	—	—	—

Termogramas 100°C				
Tiempo(s)	T1(°C)	Área 1 ΔH(J/g)	T2(°C)	Área 2 ΔH(J/g)
2	49,44	0,040± 0,003	75,77	0,254± 0,074
5	49,09	0,019± 0,008	76,99	0,066± 0,029
15	—	—	—	—
40	—	—	—	—

Para el músculo sin tratamiento térmico las temperaturas máximas y las entalpías resultaron: $T_{max_1} = 49,02 \pm 0,41^\circ\text{C}$; $\Delta H_1 = 0,12 \pm 0,01\text{J/g}$ correspondientes a la miosina y $T_{max_2} = 77,47 \pm 0,63^\circ\text{C}$; $\Delta H_2 = 0,46 \pm 0,09\text{J/g}$ a la actina. Picos similares se han observado en termogramas de DSC de varios productos marinos (Paredi y col 1998;



Rattanasatheirn y col. 2008; Benjakul y Sutthipan, 2009). Los valores de entalpías reportados por Benjakul y Sutthipan (2009) para el cangrejo *Scylla serrata* fueron 0,40J/g y 0,17J/g para actina y miosina respectivamente, valores similares a los obtenidos en este trabajo.

3.9. Acoplamiento del modelo de transferencia de energía con la cinética de desnaturalización proteica

3.9.1. Modelado matemático

Considerando que la proteína nativa (P) se desnaturaliza por tratamiento térmico, siguiendo una cinética de primer orden a temperatura $T = \text{cte}$, se propone:

$$-\frac{dP}{dt} = kP ; \text{ con condición inicial } P = P_0 \text{ a } t=0 \quad (3.12)$$

donde P representa la concentración de proteína nativa (no desnaturalizada), k es la constante cinética de desnaturalización proteica a una dada temperatura y P_0 es la concentración inicial de proteína nativa.

Integrando la ecuación resulta:

$$\ln \frac{P_0}{P} = kt \quad (3.13)$$

Cuando el tejido muscular se somete a tratamiento térmico en el baño termostático la proteína se desnaturaliza. Luego, al analizar esa muestra en el DSC, el área bajo el termograma representa la energía puesta en juego para desnaturalizar la proteína que ha permanecido en su estado nativo después del tratamiento térmico.

La relación P_0/P en un ensayo de DSC está representada por la relación de entalpías $\Delta H_0/\Delta H$. Los valores de ΔH_0 corresponden al área inicial bajo la curva de una proteína dada y ΔH al área bajo dicho pico obtenida con muestras calentadas previamente en agua. Representando entonces el $\ln(\Delta H_0/\Delta H)$ versus el tiempo se obtuvieron las constantes cinéticas a distintas temperaturas de calentamiento.



En función de los datos obtenidos de los termogramas (resultados Tabla 3.3) se pudo relacionar la temperatura con la constante cinética de la reacción de desnaturalización de las proteínas, aplicando la ecuación de Arrhenius:

$$k = k_0 \exp(-Ea/RT) \quad (3.14)$$

siendo k la constante cinética del proceso de desnaturalización, k_0 el factor pre-exponencial, Ea la energía de activación, R la constante universal de los gases y T la temperatura absoluta (K).

Se obtuvo la energía de activación para la desnaturalización de cada sistema proteico mediante el ajuste de regresiones lineales a los datos, de acuerdo con la ecuación expresada en forma logarítmica:

$$\ln k = \ln k_0 - Ea/RT \quad (3.15)$$

La siguiente ecuación permite calcular el grado de desnaturalización proteica alcanzado en un punto del sistema, teniendo en cuenta la historia térmica, a través de la incorporación de la información de la variación de la temperatura en función del tiempo $T(t)$:

$$-\frac{dP}{dt} = k_0 \exp(-Ea/RT(t))P \quad (3.16)$$

Integrando la Ecuación 3.16 y reordenando los términos resulta:

$$-\int \frac{dP}{P} = k_0 \int \exp(-Ea/RT(t))dt \quad (3.17)$$

$$2.303 \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = k_0 \int \exp(-Ea/RT(t))dt \quad (3.18)$$

La historia térmica en cada punto puede incorporarse en la forma discretizada de la ecuación (3.18) resultando:

$$2.303 \log\left(\frac{P_0}{P}\right) = k_0 \sum_{i=1}^n \exp(-Ea/RT(t_i)) \Delta t_i \quad (3.19)$$



Siendo $T(t_i)$ la temperatura media alcanzada por el punto para el intervalo de tiempo Δt_i . Esta ecuación permitió obtener el grado de desnaturalización alcanzado por los sistemas proteicos en distintos puntos del tejido sometido a tratamiento térmico, considerando los datos de las energías de activación (E_a), y los valores de P_o (proteína inicial, J/g).

3.9.2. Resultados del acoplamiento del modelo de transferencia de energía con la cinética de desnaturalización proteica

Los valores de ΔH_o corresponden al área inicial bajo la curva de una proteína dada mientras que ΔH son las áreas bajo dicho pico obtenida con muestras calentadas previamente en agua. Por lo tanto, representando $\ln(\Delta H_o/\Delta H) = (\ln P/P_o)$ versus el tiempo para cada proteína (Fig 3.9) se obtuvieron las constantes cinéticas a distintas temperaturas de calentamiento. Las mismas se reportan en la Tabla 3.4.

En función de los datos obtenidos en los termogramas se pudo relacionar la temperatura con la constante cinética de la reacción de desnaturalización de las proteínas aplicando la ecuación de Arrhenius (Ec. 3.14). Se obtuvo la energía de activación para la desnaturalización de cada sistema proteico de acuerdo con la ecuación logarítmica (Ec. 3.15). En la Figura 3.10 se observa gráficamente la curva donde se relaciona la constante cinética de desnaturalización ($\ln(k)$) y la temperatura ($1/K$) para la actina y la miosina. La Tabla 3.5 muestra los valores de energía de activación y el factor preexponencial obtenidos a partir de las curvas de la Figura 3.10. Las energías de activación calculadas fueron 145,70kJ/mol para la miosina y 156,42kJ/mol para la actina. Valores similares de E_a fueron reportados por Yoon (2004) para Alaskan Pollock y Pacific Whiting. Estos valores de E_a son inferiores a los observados para músculos de especies bovinas (Martens y col. 1982; Wagner y Añon, 1985; Bertola y col. 1994).

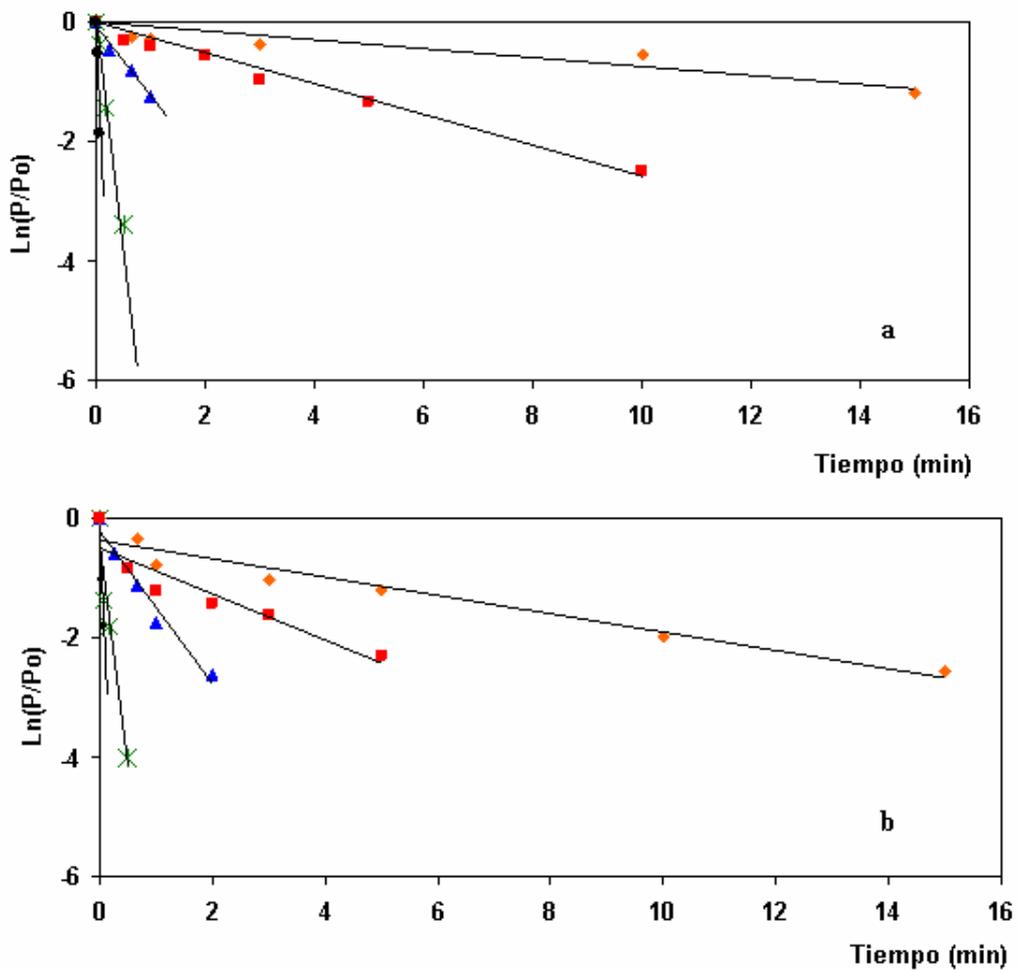


Figura 3.9 Regresiones lineales para obtener las constantes cinéticas de primer orden k (min^{-1}) de la desnaturalización de las proteínas a diferentes temperaturas. Naranja: 100°C, Rojo: 90°C, Azul: 80°C, Verde: 70°C y Negro: 60°C. a) Actina, b) Miosina.

Tabla 3.4 Constantes cinéticas de Actina y Miosina a las diferentes temperaturas, obtenidas de la Figura 3.9.

Temperatura (°C)	Temperatura (K)	1/T(K)	Actina		Miosina	
			k	ln(k)	k	ln(k)
60	333	0,00300	0,06	-2,63	0,11	-2,25
70	343	0,00292	0,26	-1,39	0,37	-0,98
80	353	0,00283	1,16	0,14	1,68	0,52
90	363	0,00275	7,84	2,19	11,38	2,43
100	373	0,00268	22,65	3,16	21,33	3,06

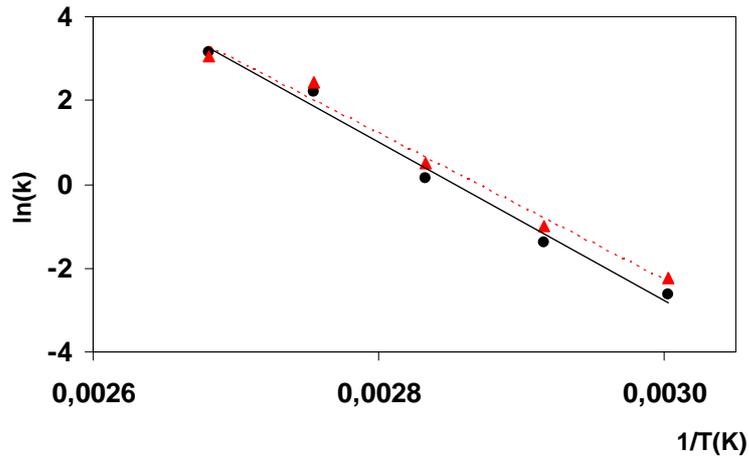


Figura 3.10 Líneas de regresión para obtener las energías de activación (E_a) de la ecuación de Arrhenius, para la desnaturalización térmica de la miosina (línea punteada) y actina (línea continua) en el músculo del cangrejo.

Tabla 3.5 Valores de la energía de activación y del factor preexponencial obtenidos a partir de las curvas de la Figura 3.10.

Proteína	Ln(k_0)	E_a (kJ/mol)	R^2
Actina	53,68	156,42	0,99
Miosina	50,29	145,703	0,98

La Ecuación 3.18 permite calcular el grado de desnaturalización proteica alcanzado en un punto del sistema teniendo en cuenta la historia térmica de la pieza, a través de la incorporación de la información de la variación de la temperatura en función del tiempo. La historia térmica en cada punto puede incorporarse en forma discretizada en la ecuación 3.19, donde $T(t_i)$ es la temperatura media alcanzada en el punto para el tiempo t_i , y Δt el intervalo de tiempo seleccionado para la discretización. Esta ecuación permitió obtener el grado de desnaturalización alcanzado por los sistemas proteicos en distintos puntos del tejido sometidos a tratamiento térmico.

Para determinar el grado de desnaturalización alcanzado por las proteínas miofibrilares se usaron las curvas experimentales de penetración térmica presentadas en la Figura 3.2, así como las E_a de cada sistema proteico; se utilizó la Ecuación 3.19 y se expresó el porcentaje de desnaturalización de las proteínas como $1-(P/P_0) \times 100$.



De esta manera se calcularon los porcentajes de desnaturalización proteica alcanzados por el cuerpo y pinzas a diferentes tiempos de proceso y para las distintas temperaturas de calentamiento ensayadas.

La Tabla 3.6 muestra, a modo de ejemplo, los porcentajes de actina y miosina desnaturalizada a lo largo del tratamiento térmico (para un intervalo de tiempo $\Delta t=30s$) para las diferentes secciones de los crustáceos.

Los resultados indican que, para tiempos de tratamiento equivalentes, el porcentaje de miosina desnaturalizada fue superior a los de la actina. La desnaturalización de las proteínas miofibrilares en solución con calor, generalmente resulta en la formación de un gel. La miosina es la única proteína, en este sistema, que forma geles en soluciones a muy bajas concentraciones; sin embargo, si la actina está presente en la matriz, se obtiene un gel mucho más firme (Tornberg, 2005). Los picos de proteínas miofibrilares de las curvas endotérmicas disminuyeron más rápidamente al aumentar la temperatura. Todos los picos desaparecieron en las muestras tratadas a 70°C durante 10 minutos y solo fueron necesarios 20 segundos a 100°C para alcanzar la misma condición. Un comportamiento similar fue observado por Skipnes y col. (2008) en el análisis de la cinética de la desnaturalización de las proteínas en el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), reportando que las muestras calentadas más de 10 minutos a 68°C fueron totalmente desnaturalizadas.

Como se puede observar en la Tabla 3.6, después de 5 minutos de calentamiento a 100°C, la miosina fue totalmente desnaturalizada en el punto más frío en las pinzas de gran tamaño (*D. patagonicus*), mientras que la actina solo se desnaturalizó en un 76,97%; la desnaturalización total de ambas proteínas se logró después de 8 minutos. Sin embargo, para las pinzas de *O. trimaculatus*, al ser más pequeñas, la desnaturalización total de las proteínas miofibrilares a 100°C se alcanzó a los 5 minutos de calentamiento.



Tabla 3.6 Porcentaje de actina y miosina desnaturalizada en pinzas pequeñas, grandes y cuerpo para distintos tiempos de calentamiento a las temperaturas ensayadas.

<i>Cuerpo</i>	% de actina desnaturalizada				% de miosina desnaturalizada			
	Temperatura (°C)				Temperatura (°C)			
Tiempo (min)	70°C	80°C	90°C	100°C	70°C	80°C	90°C	100°C
1	0	0	0	0	0,08	0,12	0,12	0,06
2	0,03	0,06	0,12	0,01	1,29	2,33	4,05	0,28
3	0,30	0,74	1,79	0,5	9,76	21,23	42,09	14,90
4	1,44	4,16	11,38	14,37	36,45	71,15	96,35	98,36
5	4,45	13,93	37,66	73,8	74,08	98,39	99,99	100
6	10,29	32,09	72,81	99,28	95,47	99,99	100	100
7	19,21	55,22	94,14	99,99	99,73	99,99	100	100
8	30,53	75,89	99,46	100	99,99	100	100	100
<i>Pinza Ovalipes trimaculatus</i>	Temperatura (°C)				Temperatura (°C)			
Tiempo (min)	70°C	80°C	90°C	100°C	70°C	80°C	90°C	100°C
1	0	0,00	0	0,03	0,11	0,15	0,19	0,15
2	0,06	0,14	0,63	3,86	4,04	8,27	16,52	63,27
3	0,13	2,37	13,46	44,77	36,9	71,68	96,87	99,99
4	1,67	12,89	61,12	97,99	88,17	99,86	99,99	100
5	8,09	35,07	95,76	99,99	99,72	99,99	100	100
6	21,65	61,20	99,93	100	99,99	100	100	100
7	40,14	81,21	100,00	100	99,99	100	100	100
8	58,52	92,31	100,00	100	100	100	100	100
<i>Pinza Danielethus patagonicus</i>	Temperatura (°C)				Temperatura (°C)			
Tiempo (min)	70°C	80°C	90°C	100°C	70°C	80°C	90°C	100°C
1	0,00	0,00	0,00	0,01	0,19	0,21	0,23	0,26
2	0,01	0,03	0,11	0,18	1,55	2,35	3,59	5,35
3	0,05	0,07	1,52	3,13	9,63	18,95	34,42	56,63
4	0,33	0,72	10,71	25,04	36,37	67,94	93,89	99,88
5	1,61	4,24	39,92	76,97	76,10	98,29	99,99	100
6	5,29	15,29	82,57	99,23	96,96	99,99	100	100
7	12,94	36,7	97,89	99,99	99,91	100	100	100
8	24,92	62,85	99,93	100	99,99	100	100	100



3.10. Determinación de las condiciones de tiempo y temperatura de calentamiento para una adecuada separación de la carne de cangrejo de la capa calcárea en pinzas.

En general, para determinar las condiciones más adecuadas de la separación de la carne de cangrejo de la capa calcárea se toma como referencia la temperatura de calentamiento a 100°C, ya que es la más utilizada industrialmente para la cocción de crustáceos en agua (Burton y Robert, 1972; Edwards y Early, 1976); temperaturas por debajo de los 80°C necesitan tiempos de calentamiento prolongados (Fig 3.11), lo cual implica mayor tiempo de proceso y mayor gasto de energía. En la Figura 3.11 se muestra un ejemplo de aplicación práctica industrial basado en los resultados obtenidos, donde los datos de desnaturalización de la proteína, expresados en la Tabla 3.6, se correlacionaron con condiciones empíricas adecuadas para el desprendimiento de la carne de cangrejo del exoesqueleto (procedimiento de extracción manual llevado a cabo a el Laboratorio Tecnológico de Bioquímica del CENPAT).

La zona sombreada en la figura muestra el tiempo de calentamiento recomendado a diferentes temperaturas del agua para lograr un desprendimiento adecuado de la carne de cangrejo de la capa calcárea, para pinzas de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*. Por debajo de la curva, el desprendimiento se hace difícil debido a un tratamiento térmico insuficiente, que se correlaciona con los termogramas del DSC donde se observa que las proteínas miofibrilares no están totalmente desnaturalizadas. Este tipo de información puede ser útil a nivel industrial con el fin de optimizar el tratamiento térmico de los cangrejos.

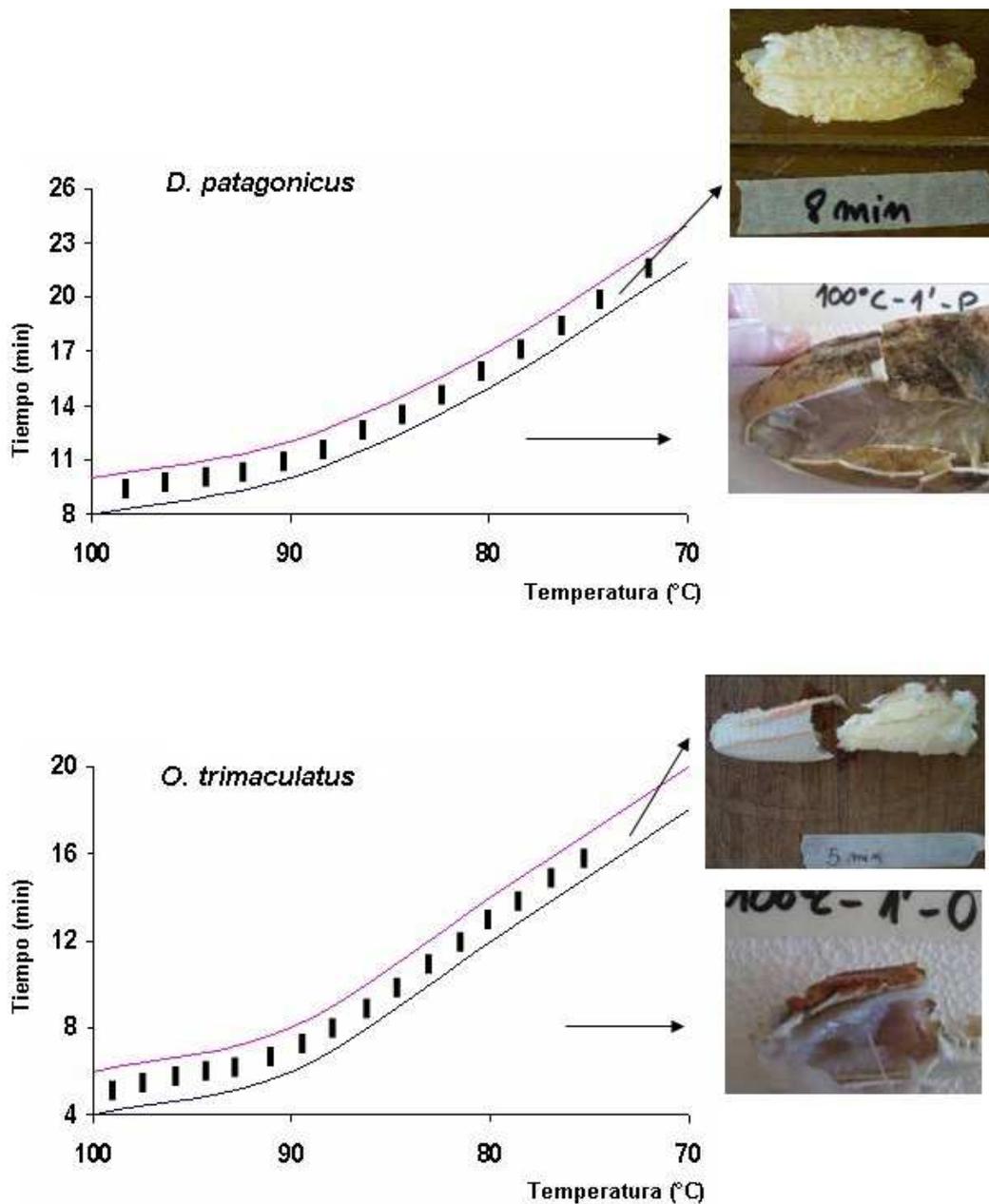


Figura 3.11 Condiciones de tiempo y temperatura de calentamiento para una adecuada separación de la carne de cangrejo de la capa calcárea en pinzas. La zona sombreada representa las condiciones recomendadas.

3.11. Síntesis del Capítulo

La simulación computacional de la transferencia térmica se realizó resolviendo en estado no estacionario la ecuación diferencial a derivadas parciales de la conducción de calor con condiciones de contorno convectivas, utilizando el método de elementos



finitos con el programa Comsol Multiphysics. Se ha considerando en todos los casos (pinzas y cuerpo) la presencia de una capa calcárea externa al músculo.

Paralelamente, empleando Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), se observaron dos picos cuyas temperaturas máximas y entalpías fueron: $T_{\max 1}=49,02^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_1=0,12\text{J/g}$ (miosina) y $T_{\max 2}=77,47^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_2=0,22\text{J/g}$ (actina); de igual manera se determinaron y analizaron los termogramas para las distintas condiciones ensayadas. Las energías de activación resultaron $145,70\text{kJ/mol}$ para la miosina y $156,42\text{kJ/mol}$ para la actina. Acoplando la cinética de desnaturalización proteica, las energías de activación y las curvas de penetración térmica se pudo correlacionar el grado de desnaturalización alcanzado por las proteínas miofibrilares en el proceso de calentamiento con las condiciones que permitieron separar el músculo del exoesqueleto. De los resultados obtenidos se derivó un ejemplo práctico de aplicación industrial, presentado en un diagrama, en donde se pueden obtener los tiempos y temperaturas de calefacción adecuadas para la separación de la carne de la capa calcárea en las pinzas de los cangrejos *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*. Dicha información es de suma importancia en el proceso industrial para la obtención de carne de cangrejo ya que, un tratamiento térmico insuficiente dificulta el desprendimiento de la carne del exoesqueleto. Sin embargo, la exposición a altas temperaturas de calentamiento puede dar lugar a la deshidratación del producto, produciendo un menor rendimiento de carne, el deterioro de la textura, la generación de compuestos de amonio que otorgan olores desagradables, o la producción de reacciones de Maillard que reducen el valor nutricional de los alimentos. Por lo tanto, debido a que la optimización del tratamiento térmico es de gran importancia, la simulación numérica, junto con la información sobre la desnaturalización de las proteínas, pueden contribuir a establecer las condiciones adecuadas para la transformación industrial de la carne de cangrejo.



Capítulo

4

Determinación del Rendimiento y Caracterización de la Carne Cocida



Capítulo 4

Determinación del Rendimiento y Caracterización de la Carne Cocida

4. Introducción

La evaluación de la rentabilidad económica de la elaboración de productos a partir de recursos marinos depende en gran medida del rendimiento en carne que puede obtenerse de cada individuo (Zugarramurdi y col. 2003). Para los cangrejos el rendimiento puede variar según la especie, época del año, la talla y sexo del individuo, como así también del método y tecnología empleada para la extracción de su carne (Gates y col. 1993; Cifuentes y Quñinao, 2000; De-Wei Chen y col. 2007; Barrento y col. 2009). Dado que en la mayor parte de las especies de cangrejos explotadas comercialmente las tallas de los machos exceden ampliamente la de las hembras, y que se trata generalmente de especies poligínicas en las que cada macho es capaz de aparearse con numerosas hembras, las pesquerías son dirigidas generalmente a la captura exclusiva de machos (Goshima y col. 2000; Carver y col. 2005; Leal y col. 2008). Normalmente, la carne de cangrejo se separa, por un lado, en pinzas y patas, y por el otro, en la carne proveniente del cuerpo. Por lo general, la carne de la pinza tiene el valor más alto, ya que se produce en grandes trozos con mejor color y sabor y no necesita un proceso manual adicional. La carne extraída del cuerpo (pulpa) se utiliza para la elaboración de productos a base de carne de cangrejo (Trenholm, 1998); la misma es preparada en forma manual, es difícil de remover y posee una gran incidencia de restos de cartílagos o caparazón, si no es procesada en forma correcta y cuidadosa (Trenholm, 1998). Si bien existen métodos alternativos a la extracción manual, como se mencionó en el Capítulo 1, el personal capacitado alcanza mayores rendimientos y realiza al mismo tiempo la limpieza y clasificación de la materia prima. Datos reportados para jaibas (*Callinectes sp.*) estiman que, en promedio, cada operario puede procesar 100kg de materia prima entera al día. El volumen de



producción es considerado a partir de que cada 8kg de jaiba entera se produce 1kg de pulpa (Reyes Canino y col. 2003). Los sistemas de calentamiento más utilizados por la industria de estos crustáceos son la cocción a vapor o agua en ebullición, siendo este último el preferido por las plantas procesadoras dado el menor costo de equipamiento y la obtención de un mayor rendimiento en carne (Moody, 1982; Gates y Parker, 1992; Gates y col. 1993). Sin embargo, algunos autores sostienen que la cocción al vapor conserva mejor determinadas propiedades organolépticas, como el aroma, característico de estas especies (Ward y col. 1983; Chung, 1997). Independientemente del método utilizado, es importante que la exposición al calor no sea excesiva debido a que puede provocar la deshidratación del producto, generando menores rendimientos, como también el deterioro de la textura o la producción de compuestos nitrogenados no deseados (Quitral-Robles, 2003; Baxter y Skonberg, 2007, 2008). Estos parámetros serán función de la materia prima de partida (Capítulo 2) y de los tiempos y características de los métodos de calentamiento utilizados para la extracción de la carne.

El presente capítulo está orientado a: a) Conocer el rendimiento en carne de cada especie de cangrejo en función del sexo del individuo, método de calentamiento y sección del cuerpo de la cual es extraída la carne; b) Conocer las características fisicoquímicas de los cangrejos *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus patagonicus* luego de ser sometidos a dos diferentes formas de calentamiento, agua en ebullición (según lo recomendado en el Capítulo 3) y calentamiento por vapor.

4.1. Preparación y acondicionamiento de la materia prima

4.1.1. Método de medición

Se recolectaron ejemplares de machos y hembras de cangrejos *D. patagonicus* (DP) y *O.trimaculatus* (OT) en las costas del golfo Nuevo. Los cangrejos de DP fueron capturados con trampas cebadas, y los ejemplares de OT recolectados por buceo



autónomo. Los mismos se trasladaron vivos hasta las instalaciones del CENPAT donde fueron pesados, medidos y acondicionados para su posterior procesamiento.

Una vez en el laboratorio, los cangrejos fueron clasificados según lo descrito en el Capítulo 2, Sección 2.1. Al mismo tiempo se registraron el peso fresco total (PF) y el peso de los quelípedos (PQ), pieza que resulta de cortar manualmente el cuerpo a la altura de la articulación de las coxas. Además, se registró el peso de ambas pinzas (dáctilo y manus) (PPi), que resultan de cortar al quelípedo a la altura de la articulación del meropodito. Dichos pasos se pueden observar en la Figura 3.1 del Capítulo 3. Los individuos fueron ordenados según el sexo basándose en la observación visual del ancho del abdomen. Luego de seccionar el ejemplar en cuerpo y pinzas, se eliminaron del cuerpo, el caparazón y la masa visceral. Una vez clasificados, medidos y seccionados, los ejemplares de ambas especies fueron tratados térmicamente por ebullición en agua durante 8-10 minutos para pinzas de *D. patagonicus*, durante 4-6 minutos para pinzas de *O. trimaculatus* y 8 minutos para los cuerpos de ambas especies. Por otro lado, se calentaron muestras de ejemplares machos de ambas especies con vapor a presión en un autoclave de 105 litros de capacidad durante 3 minutos después de alcanzar los 110°C (Edwards y Early, 1976; Ward y col. 1983). Luego de la cocción, los cangrejos fueron sumergidos en agua-hielo para detener el proceso de calentamiento y facilitar el desprendimiento de la carne del exoesqueleto. Una vez cocidos y refrigerados se determinó el rendimiento en carne por: sexo, método de cocción y partes del cuerpo. El mismo se calculó porcentualmente como carne extraída sobre el peso total del individuo (PF). La carne fue separada del exoesqueleto en forma manual, usando una espátula y una cuchara pequeña de acero inoxidable. En función del sector del cuerpo del cangrejo de donde fue extraída la carne se la clasificó en las siguientes categorías (Fig 4.1): 1) "Jumbo"- correspondiente a la carne del músculo de la zona del cuerpo (cefalotórax) que constituyen las inserciones musculares de las patas traseras, 2) "Flake"- correspondiente a la carne



del músculo de la zona del cuerpo (cefalotórax) que constituyen las inserciones musculares de las demás patas caminadoras, 3) "Arm" o "Mero"- el músculo del mero y carpo del quelípedo y 4) "Pinza"- el músculo del manus y dáctilo del quelípedo.

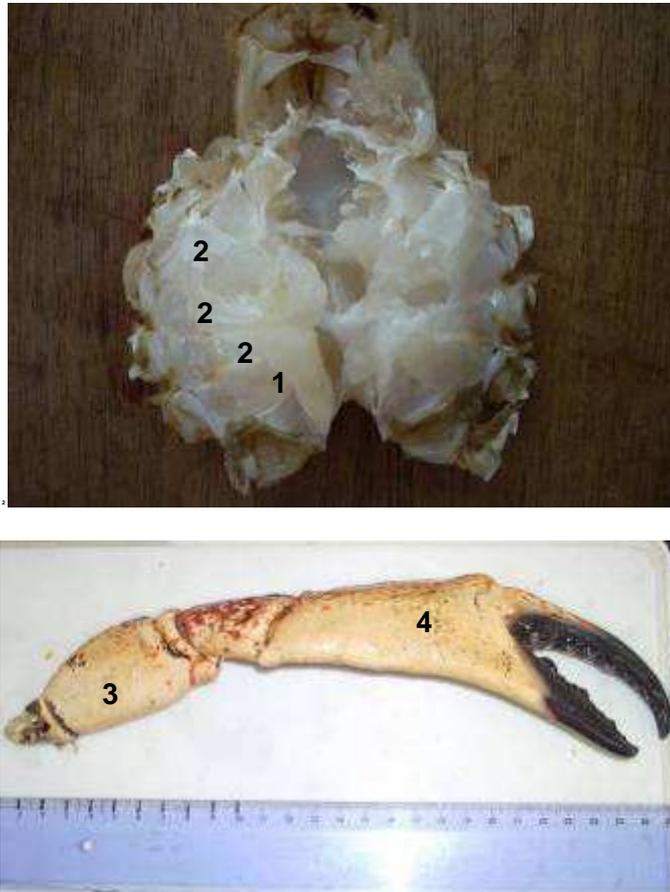


Figura 4.1 Cuerpo de *O. trimaculatus* (arriba): 1- "Jumbo", 2- "Flakes". Quelípedo de *D. patagonicus* (abajo): 3- "Mero o Arm", 4- Pinza.

La carne de las quelas (Mero y Pinzas) se extrajo rompiendo el exoesqueleto con una máquina de trituración manual, similar a un rompenueces. Para la extracción de la carne de cefalotórax ("Jumbo" y "Flake"), primero se cortó el cuerpo en dos mitades iguales y luego se extrajo la carne del "Jumbo" utilizando una cuchara pequeña de acero inoxidable. Esta sección corresponde a la mayor masa de carne del cuerpo (Fig 4.2). Una vez extraída la carne tipo "Jumbo", se realizó un corte longitudinal a la altura media del cuerpo para extraer las fibras musculares tipo "Flake" (Fig 4.2). Para cada sección de carne extraída se registró su peso.

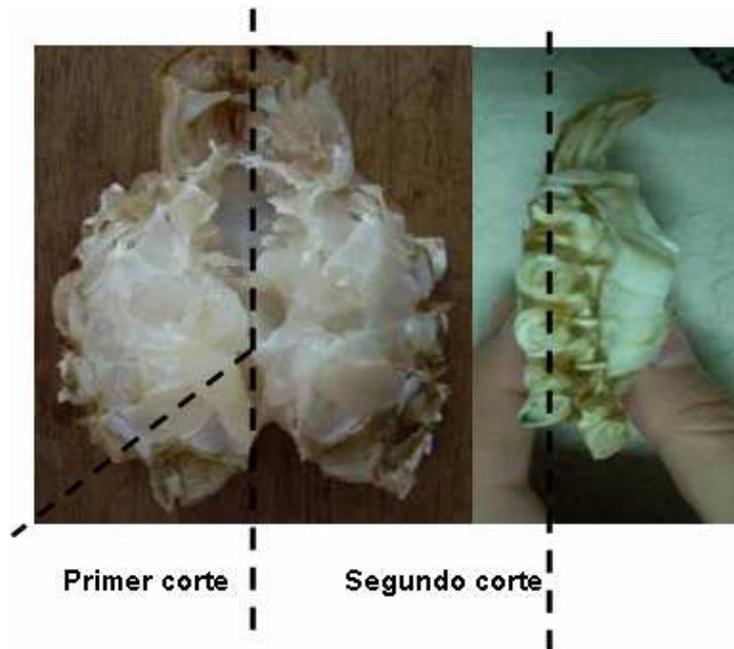


Figura 4.2 Cortes para la obtención de carne de cangrejo del cuerpo (“Jumbo” y “Flake”). Primer corte extracción de carne tipo “Jumbo”, segundo corte extracción de carne tipo “Flake”.

4.1.2. Análisis estadísticos

Las medias y las desviaciones estándar de los datos se calcularon con las funciones estadísticas de la planilla de cálculo de Microsoft Office Excel (versión 2007). Las regresiones y líneas de tendencia de las curvas también fueron calculadas con este programa. Para el análisis estadístico comparativo de los datos se usaron: para diseño de datos paramétricos, un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95%; para los valores de los datos no paramétricos se utilizó una prueba paralela, Mann-Whitney (Prueba U), al mismo nivel de confianza. Las pruebas se realizaron con el programa de estadística STATISTICA 8.0,(Statsoft Inc, versión 2007).

4.2. Rendimiento por sexo y especie

4.2.1. Métodos de medición

Se procesaron machos y hembras maduros de ambas especies, a los cuales se les registraron sus pesos y medidas y se los clasificó según su estadio de muda (Sección



2.1, Capítulo 2). Los ejemplares de ambas especies y sexos fueron calentados por agua en ebullición y posteriormente refrigerados según lo descrito en la Sección 4.1 del presente Capítulo. El rendimiento por sexo se determinó en función de la carne total extraída, incluyendo todas las secciones del cuerpo. El mismo se calculó como: [(Carne total extraída (CTE, g) / peso fresco del individuo (PF, g)) x100].

4.2.2. Resultados del rendimiento de cangrejos por sexo y especie

Para los machos y hembras de *D. patagonicus* cocidos en agua a ebullición, la cantidad de carne extraída (CTE) aumentó con el aumento de la talla, es decir, a mayor tamaño del ejemplar mayor cantidad de carne es extraída. La cantidad de carne extraída para machos fue significativamente mayor que para las hembras de igual talla (ANOVA, $P < 0,05$) (Fig 4.3a). Para el rango de tallas estudiado, el rendimiento porcentual en carne se mantuvo constante (Fig 4.3b). El rendimiento fue significativamente menor en las hembras que en los machos (Prueba U de Mann y Whithney, $P < 0,05$), observándose que el rendimiento de las hembras no superó valores del 15% (Fig 4.3b).

Al igual que *D. patagonicus*, para machos y hembras de *O. trimaculatus* calentados en agua a ebullición, la cantidad de carne extraída (CTE) aumentó con el aumento de la talla (Fig 4.4a). El rendimiento porcentual, para el mismo rango de tallas estudiados, no mostró diferencias significativas entre sexos (ANOVA, $P > 0,05$) (Fig 4.4b). Se puede observar que a partir de una determinada talla de ancho de caparazón ($AC > 95\text{mm}$), los rendimientos fueron significativamente mayores en los machos que en las hembras, y otros machos de tallas menores a la mencionada (Prueba U de Mann y Whithney, $P < 0,05$) (Fig 4.4b).

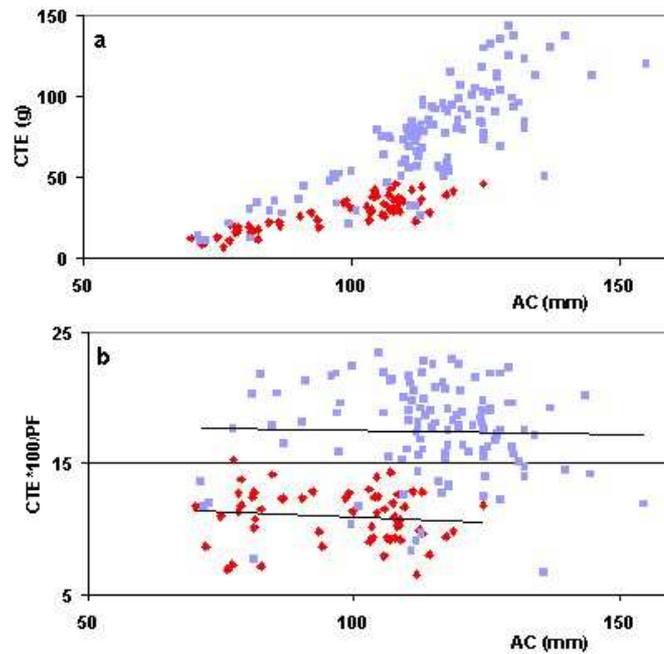


Figura 4.3 a) Relación carne total extraída (CTE) de *D. patagonicus* sobre la talla del ejemplar (AC). b) Rendimiento porcentual de la carne extraída en función de la talla (AC). Machos (Azul), Hembras (Rojo).

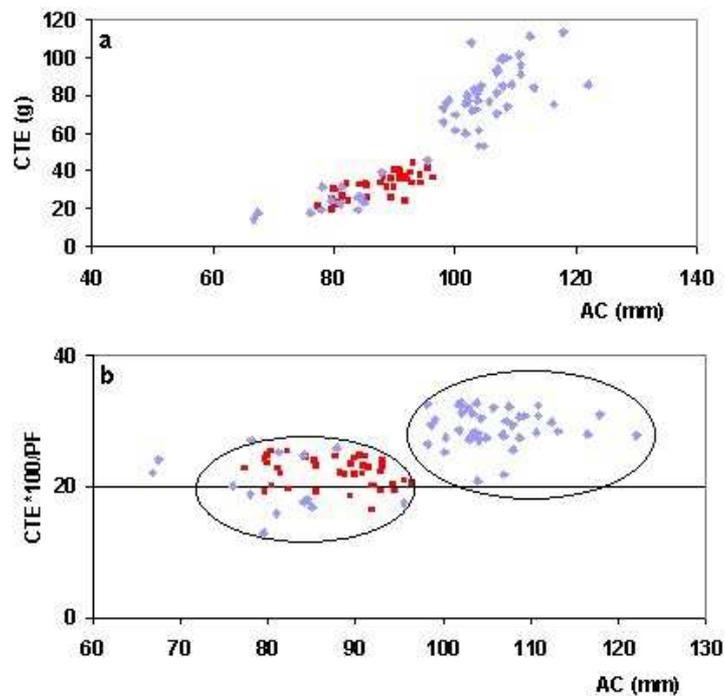


Figura 4.4 a) Relación carne total extraída (CTE) de *O. trimaculatus* sobre la talla del ejemplar (AC). b) Rendimiento porcentual de la carne extraída en función de la talla (AC). Machos (Azul), Hembras (Rojo).



Los rendimientos en carne fueron mayores para la especie *O.trimaculatus*, superando valores del 30%, mientras que para *D. patagonicus* no llegaron al 25% de rendimiento. Debe considerarse que *D. patagonicus* posee un exoesqueleto grueso, fuertemente calcificado y pesado, lo cual reduce el valor estimado de rendimiento en carne para una talla determinada. Esta característica es compartida por otras especies emparentadas, pertenecientes también a los llamados “Stone Crabs”, como el *Menippe nodifrons* (Oshiro y col. 1999). Por otro lado, los portúnidos presentan generalmente exoesqueletos menos calcificados, más delgados y livianos, lo que resulta en un mayor rendimiento porcentual en carne en relación al peso total (Edwards y Early, 1976; Sumpton, 1990). Estimaciones previas realizadas sobre otras especies de braquiuros comerciales muestran que los rendimientos (peso de carne extraída / peso fresco del animal x 100) varían aproximadamente entre el 18 y 39% (Edwards y Early, 1976; Cifuentes y Quiñinao, 2000; Yomar-Hattori y col. 2006), rango en el que se encuentran los ejemplares estudiados.

A partir del advenimiento de la madurez sexual de la mayoría de los braquiuros comerciales las quelas de los machos adquieren mayor tamaño que las de las hembras de igual talla (Carsen y col 1996; Leal y col 2008; Siam Lahera, 2011). Por otro lado, la tasa de crecimiento corporal de las hembras disminuye en relación a la de los machos, alcanzando éstas menores tallas máximas (Goshima y col. 2000; Carver y col. 2005; Leal y col. 2008). Como consecuencia, el rendimiento en carne suele diferir entre sexos (Ogawa y col. 1973; Oshiro y col. 1999; Yomar-Hattori y col. 2006), como se observó en el presente estudio. En el caso particular de los machos de *D. patagonicus*, el dimorfismo sexual de las quelas resulta muy marcado en relación a las hembras (Leal y col. 2008), lo cual se ve reflejado en la gran diferencia de rendimientos. En el caso de *O. trimaculatus*, el rendimiento en carne no presentó diferencias significativas entre sexos, sin embargo, los machos alcanzan mayores tallas máximas que las hembras, lo cual resulta también en un incentivo adicional para



que la industria demande la provisión exclusiva de machos para su procesamiento. Los resultados de los rendimientos reportados en el presente capítulo, refuerzan la idea de que las pesquerías de braquiuros comerciales estén generalmente dirigidas a la captura exclusiva de machos (Smith y Jamieson 1991; Solano 2006; Carver y col. 2005). En el caso particular de *D. patagonicus*, esta estrategia de explotación no sólo favorecería la sustentabilidad de la especie desde el punto de vista biológico, sino que además resultaría eficiente en términos de rendimiento en la conversión de materia prima a producto, dada la gran diferencia existente entre las hembras y los machos.

4.3. Rendimiento por método de cocción

4.3.1. Métodos de medición

Por lo discutido en la Sección 4.2 del presente Capítulo, para el estudio de rendimientos por método de cocción sólo se usaron ejemplares machos. Los ejemplares machos de cangrejo de ambas especies fueron tratados térmicamente en agua en ebullición y con presión de vapor según la metodología descrita en la Sección 4.1. El rendimiento se calculó según lo expresado en la Sección 4.2.

4.3.2. Resultados de los rendimientos por método de cocción

Como se mencionó, el rendimiento de los ejemplares varía con la época del año, período de cópula, tipo de muda, la talla, como así también del método y tecnología empleada para la extracción de su carne (Gate y col. 1993; Cifuentes y Quiñinao, 2000, De-Wei Chen y col. 2007; Barrento y col. 2009). Tanto en machos de *D. patagonicus* como de *O. trimaculatus*, no se encontraron diferencias significativas entre los métodos de calentamiento empleados (Prueba U Mann y Whithney, $P > 0,05$) (Fig. 4.5). Sin embargo, en ejemplares de *O. trimaculatus* los cangrejos cocidos con vapor superan por poco el 20% de rendimiento, inclusive en tallas grandes, mientras que para la cocción por ebullición algunos ejemplares alcanzan más del 30% del rendimiento total (Fig. 4.5a). Para *D. patagonicus* esta diferencia no es tan marcada,



sin bien en la mayoría de los casos, se reportan valores mayores para cangrejos cocidos por inmersión en agua que con vapor (Fig. 4.5b).

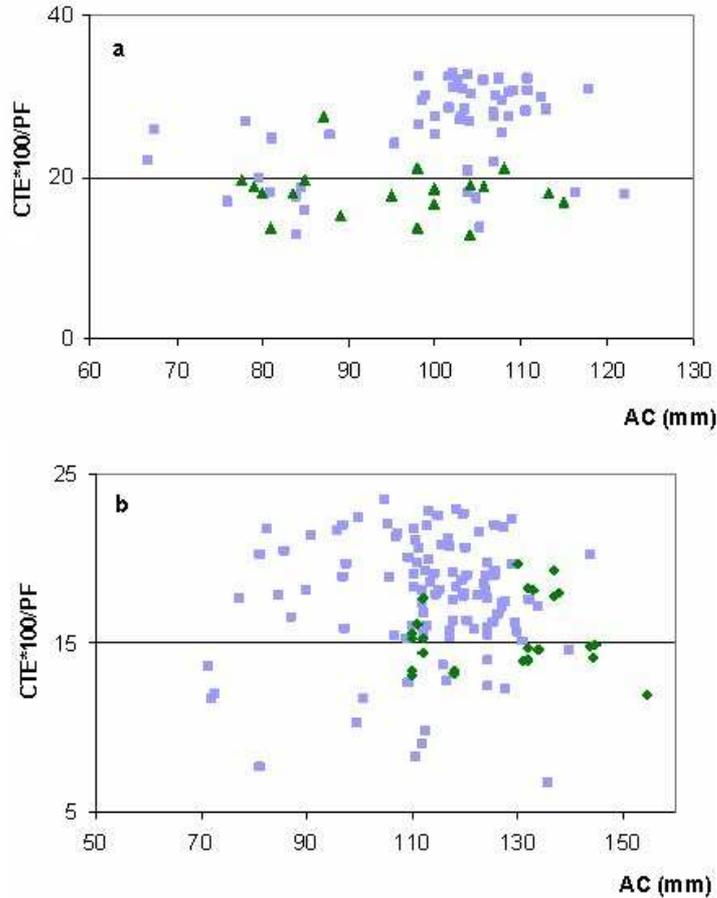


Figura. 4.5 a) *O. trimaculatus*; b) *D. patagonicus*. Carne total extraída, según el método de calentamiento empleado, versus la talla del ejemplar (AC). Inmersión en agua (azul), Vapor (verde).

La exposición al calor excesivo y altas temperaturas puede dar lugar a la deshidratación de la carne, lo cual se asocia a una mayor pérdida de agua por cocción, y se traduce en un menor rendimiento en carne (Quitral-Robles y col. 2003; Baxter y Skonberg, 2007). Una de las características de la cocción por inmersión es que otorga mayor humedad al producto, produciendo una mayor retención de agua por parte de las fibras musculares y otorgando mayor rendimiento. (Moody, 1982; Trenholm, 1998; Quitral-Robles y col. 2003). Sin bien en la cocción por vapor se observaron tendencias a menores rendimientos que en el calentamiento en agua en



ebullición, tanto en *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*, no hubo diferencias significativas a un nivel de significación del 5% (Prueba U Mann y Whithney, $P > 0,5$), encontrándose diferencias significativas a un nivel de significación del 10% (Prueba U Mann y Whithney, $P < 0,1$). Una de las razones de este resultado es el grado de dispersión de los datos obtenidos. Esta dispersión es normal y puede deberse a los diferentes factores biológicos internos o externos previamente mencionados; un ejemplo de ello puede ser las épocas del año en las que se realizó la captura, donde el ejemplar se encuentra más o menos alimentado o, si bien se utilizan ejemplares en etapa de muda 4 y 5, pueden existir mudas 4 tempranas, donde el caparazón se encuentra recientemente calcificado o mudas 5 tardías, donde el ejemplar está cercano a su próxima muda.

La elección de un método de calentamiento sobre el otro, requiere de un conocimiento profundo de las ventajas que ofrece la utilización de cada uno de ellos, el cual será particular para cada línea de procesamiento que se desee o pueda implementarse. En este trabajo en particular, en relación a los rendimientos obtenidos por método de cocción, el calentamiento por vapor resulto más desventajoso que el calentamiento por inmersión en agua.

4.4. Rendimiento según las partes del cuerpo

4.4.1. Métodos de medición

Los ejemplares machos de ambas especies fueron tratados térmicamente en agua en ebullición y por vapor a presión según la metodología descrita en la Sección 4.1 de este Capítulo. Una vez cocidos y refrigerados se determinó el rendimiento en carne de cada parte comercial del cuerpo del cangrejo. En función de las secciones del cuerpo de la que fue extraída, la carne se la clasificó en cuatro categorías: "Jumbo"; "Flake"; "Arm (Mero)" y "Pinza" (Sección 4.1, Fig 4.1).



La carne de las quelas (“Mero o Arm” y Pinzas) y del cefalotórax (“Jumbo” y “Flake”) se extrajeron según lo explicado en la Sección 4.1. El rendimiento se calculó como: [(carne total extraída de cada sección/ peso total del individuo) x100].

4.4.2. Resultados de rendimiento según las partes del cuerpo

En machos de cangrejos de *D. Patagonicus* el total de carne extraída de los quelípedos (Pinza y Mero) fue significativamente mayor que la extraída del cuerpo (“Jumbo” y “Flake”), (Prueba U de Mann y Whithney, $P < 0,05$) (Fig 4.6). Los valores medios de rendimiento por partes del cuerpo para DP fueron: 40,02% para las Pinzas (manus-dáctilo), 33,56% para el “Arm” (carpo-mero), 14,08% para “Jumbo” y 12,34% para “Flake”. En machos de *O. trimaculatus*, se observó un patrón marcadamente diferente, la carne extraída de los quelípedos fue significativamente menor que la del cuerpo (Prueba U de Mann y Whithney, $P < 0,05$) (Fig 4.6). Los valores medios de carne extraída por parte del cuerpo para OT fueron: 24,51%, 16,46%, 37,19% y 21,84% para Pinzas, “Arm”, “Jumbo” y “Flake”, respectivamente.

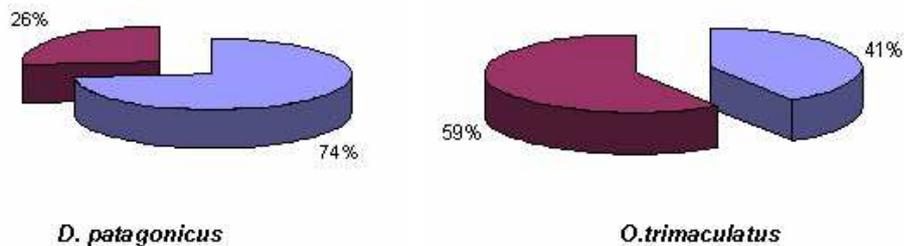


Figura 4.6 Rendimiento porcentual en carne representado por los quelípedos y por el cuerpo. Quelas (Azul), Cuerpo (Rojo).

Este estudio representa un aporte importante en la estrategia pesquera y de desarrollo técnico que se puede emplear para cada especie en particular. La carne proveniente de distintas secciones corporales (pinzas, “Jumbo”, “Flake”, patas) poseen valores diferenciales en el mercado (Trenholm, 1998; Yomar-Hattori y col. 2006). Como ya se mencionó, generalmente la carne de las quelas tiene el valor más alto, ya que se



produce en grandes trozos con mejor color y sabor y no necesita un proceso manual adicional, mientras que la carne extraída del cuerpo es más difícil de remover y presenta una gran incidencia de restos de cartílagos, si no se la manipula correctamente. Esto se relaciona con lo discutido anteriormente, en cuanto a que los ejemplares de DP poseen un exoesqueleto rígido y muy calcificado en relación a los ejemplares de OT, por lo cual la extracción de carne del cuerpo, además de ser menor, es de dificultosa remoción. En el caso de OT ocurre lo contrario, las quelas son más pequeñas y el cuerpo representa una fuente importante de carne para la elaboración de productos a base de pulpa de cangrejo. Asimismo, debido a que su exoesqueleto es delgado, permite realizar cortes para una rápida extracción de la carne del cuerpo. Por estos motivos, el estudio de los rendimientos por secciones corporales resulta indispensable para establecer el procesamiento de cada especie en particular (Trenholm, 1998; Yomar-Hattori y col. 2006). Por otro lado, la evaluación de estos rendimientos puede determinar la estrategia de explotación pesquera que será implementada.

4.5. Caracterización química del músculo cocido de cangrejo

4.5.1. Método de medición

Las secciones de pinza y cuerpo de los cangrejos *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*, fueron tratadas térmicamente en agua hirviendo a 100°C. Las pinzas se calentaron durante 8min y 5min para ejemplares de DP y OT respectivamente, y 8min para los cuerpos de ambas especies. El tiempo se contó a partir de producido nuevamente el hervor. Posteriormente, las piezas cocidas se sometieron a un enfriamiento rápido en un recipiente de agua con hielo y se almacenaron refrigeradas a 4°C en heladera para realizar los análisis bioquímicos correspondientes. Se determinó el contenido de humedad, proteínas, lípidos, cenizas y carbohidratos empleando las técnicas descritas en la Sección 2.2 del Capítulo 2.



4.5.2. Resultados de la composición química del cangrejo *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* calentado por inmersión en agua a 100°C

La Tabla 4.1 muestra los valores de la composición química de cuerpo y pinzas de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* luego del calentamiento por inmersión en agua a los tiempos recomendados. Estos valores serán utilizados para la simulación de los procesos industriales posteriores, como la pasteurización y la congelación, necesarias para la obtención del producto final.

Tabla 4.1 Valores de composición proximal de la carne de cangrejo cocida.

*Valores expresados en peso húmedo.

Componente(%)	<i>D. patagonicus</i>		<i>O. trimaculatus</i>	
	Pinza	Cuerpo	Pinza	Cuerpo
Humedad	77,58±2,03	76,58±0,99	76,56±1,08	76,01±0,08
Proteínas	14,24±1,48	11,86±0,03	15,59±1,94	14,56±2,16
Lípidos	1,04±0,10	0,99±0,06	1,03±0,08	1,07±0,12
Cenizas	1,61±0,06	1,63±0,09	2,44±0,11	1,70±0,11
Carbohidratos	5,53±0,08	8,94±0,10	4,38±0,12	6,66±0,12

4.6. Determinación de pérdida de peso por cocción, oxidación lipídica (TBA), capacidad de retención de agua (CRA), cálculo de bases nitrogenadas volátiles (NBV) y pH en carne de cangrejo calentada en agua y a vapor

4.6.1. Métodos de medición

Los ejemplares machos de ambas especies fueron tratados térmicamente en agua en ebullición y vapor a presión según la metodología descrita en la Sección 4.1. Una vez cocidos y refrigerados, se determinaron los siguientes parámetros:

Pérdida de peso por cocción (Drip Loss): se determinó por la diferencia entre el peso crudo (peso inicial) y el peso luego de la cocción (peso final).

$$\frac{(\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) \times 100}{\text{Peso inicial}} \quad (4.1)$$



Oxidación de lípidos: Para la determinación del índice de oxidación lipídica se utilizó la técnica del ácido tiobarbitúrico (TBA). La interacción de especies reactivas al oxígeno, con los lípidos insaturados de las biomembranas permite la formación de hidroperóxidos lipídicos como principales productos, así como la de una serie de productos secundarios, entre ellos el malondialdehído (MDA).

Entre la variedad de métodos analíticos desarrollados para determinar el daño oxidativo de los lípidos, el más comúnmente utilizado se basa en la reacción del malondialdehído con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) para formar aductos cromógenos y fluorescentes de MDA-TBA muy estables y que se pueden cuantificar por espectrofotometría de absorción visible.

La reacción del MDA con el ácido tiobarbitúrico es el método más empleado como indicador de peroxidación lipídica y actividad de radicales libres en muestras biológicas. Se trabajó con muestras crudas y cocidas. Se desmenuzaron 2g de carne de cangrejo, se agregó 16ml de ácido tricloroacético al 12% y se agitó en baño de hielo durante ½ hora. Luego de la agitación se filtró la mezcla en un tubo de ensayo y se tomaron 2ml del filtrado. Los 2ml del filtrado se colocaron en un tubo de hemólisis y se adicionaron 2ml de TBA 0,5% p/v. Los tubos con 4ml (2ml de TBA y 2ml de muestra digerida) se calentaron a 70°C por 30min, luego se enfriaron en agua bajo canilla y se leyeron rápidamente en un espectrofotómetro (HP 8452A) a 532nm en cubetas de vidrio de 1cm.

El nivel de TBA se expresó como:

$$\text{Nivel de TBA (mg/kg)} = A_{532} \times 14,77 / \text{g muestra} = \text{mgMDA/kg}$$

donde: g muestra: gramos de muestra inicial, A_{532} : absorbancia leída, MDA: ácido Malondialdehído, 14,77: constante obtenida del coeficiente de extinción de la ley de Beer,

$$\frac{M \times V_a \times V_e \times 1000}{L \times E} = 14,77$$



siendo M: masa molecular del malonaldehído (72g), V_a : volumen de la alícuota (2ml), V_e : volumen del extracto (16ml), E: coeficiente de extinción molar del complejo coloreado ($1,56 \times 10^5 M^{-1}$), L: camino óptico (1cm).

El contenido de bases nitrogenadas volátiles del músculo cocido (NBV) se determinó según la técnica descrita en la Sección 2.3 del Capítulo 2.

El pH se determinó según la metodología descrita en la Sección 2.4 del Capítulo 2.

La Capacidad de retención de agua del músculo cocido (CRA) se determinó según la técnica descrita en la Sección 2.5 del Capítulo 2.

4.6.2. Resultados de la caracterización química y física del músculo cocido

En la Tabla 4.2 se observan las mediciones de los parámetros físicos y químicos obtenidos para las dos especies de cangrejos estudiadas, sometidas a tratamiento térmico por dos métodos de calentamiento (inmersión en agua y con vapor). Para el mismo método de calentamiento empleado, los valores no difirieron significativamente entre una especie y la otra, (ANOVA, $P > 0,05$). Se observaron diferencias significativas entre los métodos de calentamiento para algunos parámetros analizados, como la pérdida de agua por cocción, el contenido de NBV y el pH (ANOVA $P < 0,05$). El aumento de la temperatura produce la liberación de bases volátiles presentes en el músculo de cangrejo. De acuerdo con Gallardo y col. (1982, 1990), el contenido de NBV aumenta con el tratamiento térmico y por el efecto de mayor tiempo de exposición al calor. Durante el calentamiento se altera la composición de los compuestos nitrogenados y más específicamente se producen variaciones en aminas de bajo peso molecular. El nivel del NBV aumenta como consecuencia de la degradación de aminoácidos y del óxido de trimetilamina (OTMA). Esto trae como consecuencia un mayor aumento en el pH, dado que la liberación de aminas produce un ambiente básico en la carne (Quitral-Robles y col. 2003). Otro factor importante, en el caso del calentamiento por vapor, es la ausencia de un medio difusor como el agua, para la liberación de aminas solubles. Esto último, sumado a las altas temperaturas del



calentamiento por vapor, se manifiesta en un alto contenido de NBV, llegando a valores no recomendados para su comercialización.

Tabla 4.2 Valores de parámetros físicos y químicos para carne de cangrejo calentada en agua a 100°C y con vapor a 110°C.

D. patagonicus

	Calentamiento por inmersión		Calentamiento por vapor	
	pinzas	cuerpo	pinza	cuerpo
Pérdida de peso (%)	3,61±0,96	2,87±1,34	15,22±2,17	18,57±0,51
pH	7,52±0,02	7,47±0,07	8,38±0,10	8,24±0,10
NBV (mg%)	32,83±0,58	30,70±1,45	63,30±3,23	-
CRA (%)	86,61±0,54	87,62±1,10	80,24±1,61	79,85±1,20
TBA	0,20±0,02	0,22±0,01	0,29±0,00	0,30±0,01

O. trimaculatus

	Calentamiento por inmersión		Calentamiento por vapor	
	pinzas	cuerpo	pinza	cuerpo
Pérdida de peso (%)	3,84±1,5	2,78±1,10	14,34±1,32	18,18±0,31
pH	7,64±0,07	7,41±0,06	8,26±0,03	7,81±0,09
NBV (mg%)	22,48±2,47	22,12±2,28	57,76±3,37	47,41±1,50
CRA (%)	88,03±3,57	79,67±4,2	84,13±3,02	78,62±2,20
TBA	0,21±0,00	0,23±0,01	0,31±0,02	0,32±0,01

Los valores de nitrógeno volátil y pH reportados para el calentamiento con vapor, aún habiendo utilizado ejemplares recién capturados e higiénicamente manipulados, superan los valores de calidad establecidos por la legislación, inclusive la de países donde se permiten valores relativamente altos de pH y NBV en crustáceos cocidos. Dependiendo de cada país, los valores máximos permitidos para NBV oscilan entre 35mg% y 60mg% y establecen un valor de pH no mayor a 7,7 (Código Alimentario de Chile 1998; European Commission. 2005; Normas COVENIN de Venezuela). Los valores encontrados en el presente trabajo son similares a los reportados por Quitral-Robles y col. (2003) para la Jaiba Mora (*Homalaspis plana*). La pérdida de peso por cocción también mostró diferencias significativas entre métodos de calentamiento. Como se mencionó en la Sección 4.3.2, la exposición a altas temperaturas puede dar lugar a una mayor deshidratación de la carne. Los valores ácido tiobarbitúrico (TBA),



se hallaron dentro de los reportados para otros crustáceos (Procópio de Moura y col. 2003; Benjakul y Sutthipan, 2009). Los mayores valores de TBA en la cocción a vapor son esperables, debido a la utilización de mayores temperaturas que favorecen la formación de peróxidos (Huss, 1997). Estos últimos estudios también refuerzan la decisión de la utilización de agua como método de calentamiento.

4.7. Color instrumental (Y, xy)

4.7.1. Materiales y métodos

Se determinó el color (Y, xy) en el músculo crudo y cocido de cuerpo y pinzas de cada especie de cangrejo utilizando un colorímetro Minolta CR14 (Osaka, Japón). Los datos se transformaron en L*, a*, b* (Hunter, escala de laboratorio). Las mediciones de color se realizaron por triplicado. Luego se compararon los valores de L*, a*, b* previos y posteriores a la cocción según la ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (4.2)$$

4.7.2. Resultados del cálculo de color instrumental (Y, xy)

Al igual que en otros crustáceos, el color del músculo de los cangrejos cambia notablemente durante y después del calentamiento (Himmelbloom y col. 1983; Gates y col. 1993; Chaiyawat y col. 2008; Parisenti y col. 2011). Los cambios de color en la carne de cangrejo procesado han sido clasificados de acuerdo a diferentes categorías generales de color predominante después de su calentamiento. Azul: relacionado con los componentes en la sangre del cangrejo como el cobre o el hierro; Marrón: debido a los hidratos de carbono que producen junto a las proteínas la reacción de Maillard; Negro: causadas por el sulfuro de las reacciones de los metales durante el envasado; Amarillo: debido a la oxidación lipídica en el almacenamiento en congelación y Rojo: debido a los pigmentos musculares que se encuentran en la carne (Boon, 1975; Requena y col. 1999). Los parámetros experimentales de L* (Luminosidad), a* (+ rojo, -verde), b* (+ azul, -amarillo) y el cambio de color total (ΔE) resultaron, en promedio



para ambas especies, para el músculo crudo (sin tratamiento térmico) igual a: $L^*=42,79$, $a^*=-4,21$ y $b^*=5,98$. Para pinzas de *D. patagonicus* los parámetros de color luego del calentamiento en agua durante 8 minutos resultaron: $L^*=71,63$, $a^*=-6,07$ y $b^*=8,06$ con un $\Delta E=28,74$, mientras que para pinzas de *O. trimaculatus* los valores de calentamiento en agua durante 5 minutos resultaron: $L^*=68,87$, $a^*=-6,74$ y $b^*=6,77$ con un $\Delta E=28,30$. Como se puede observar, el valor de L^* aumenta significativamente al igual que el valor b^* (ANOVA, $P<0,05$), mientras que el valor de a^* disminuye. Por ello se pudo inferir que los parámetros L^* , a^* y b^* mostraron que para la cocción del músculo de cangrejo, a los tiempos y temperatura propuesto, el músculo vira de un color blanco grisáceo a un color blanco amarillento (Fig 4.7).

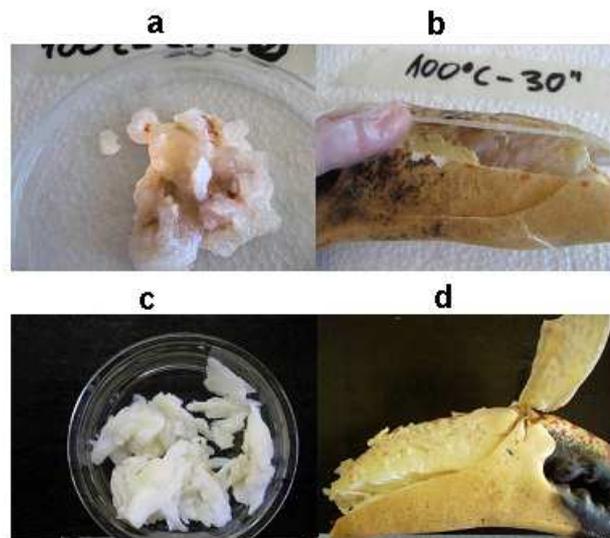


Figura 4.7 a) pulpa de cangrejo de OT cocida a 100°C por 30s; b) pinza de cangrejo de DP cocida a 100°C por 30s; c) pulpa de cangrejo de OT cocidas a 100°C por 5 min; d) pinza de cangrejo de DP cocidas a 100°C por 8min.

4.8. Síntesis de Capítulo

Se estudió el rendimiento en carne de ambas especies de cangrejo en función del sexo del ejemplar, el método de tratamiento térmico utilizado para el desprendimiento de la carne y en función de las diversas secciones del cuerpo de los individuos. Las hembras presentaron rendimientos mucho menores que los machos, lo que sustenta la estrategia pesquera de dirigir la captura sólo a ejemplares machos. El rendimiento por



cocción con vapor se vio desfavorecido, posiblemente a la mayor deshidratación de la carne por las altas temperaturas. Para *D. patagonicus* la mayor cantidad de carne se extrajo de las quelas, siendo muy poca y dificultosa la extracción de la carne del cuerpo, contrariamente a lo observado en *O. trimaculatus*, donde la mayor cantidad de carne se extrajo del cefalotórax (cuerpo). Los rendimientos obtenidos sientan una base para el desarrollo de una estrategia pesquera y productiva que debe ser discriminada por especie.

Los parámetros físicos y químicos de la carne variaron según el método de calentamiento empleado, presentando para las muestras tratadas con vapor altos valores de bases nitrogenadas volátiles, pH y pérdida de agua, que exceden los valores permitidos para su comercialización. El color también varió significativamente durante la cocción, pasando de un color grisáceo a un blanco amarillento. La información obtenida en el presente capítulo puede ayudar a sustentar o determinar estrategias pesqueras y productivas para el desarrollo más adecuado del proceso de industrialización de estas especies de crustáceos, sugiriendo en principio, el uso de agua como método de calentamiento para facilitar la extracción de la carne de las especies de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*.



Capítulo

5

Segunda Etapa de Calentamiento



Capítulo 5

Segunda Etapa de Calentamiento (Pasteurización)

5. Introducción

La carne del cuerpo y de las pinzas destinada a la elaboración de productos a base de pulpa de cangrejo se extrae principalmente en forma manual, por lo tanto, el contacto con el operador humano da la posibilidad de una potencial contaminación microbiana. La otra posibilidad de contaminación depende de los sistemas de saneamiento y de higiene de la planta (Trenholm, 1998; Galetti, 2010). Por lo tanto, la optimización del proceso de pasteurización como base de inactivación de microorganismos patógenos para asegurar la calidad microbiológica del alimento, previo al proceso de congelado del producto final, resulta de suma importancia para la seguridad del mismo (Codex Alimentarius, 1983; Trenholm, 1998). La mayoría de las bacterias presentes en el cangrejo se encuentran en el caparazón, las vísceras y las branquias, por lo cual el eviscerado y el rápido manipuleo previo es importante en el procesamiento del mismo (Gillman, 2001). Entre los patógenos característicos y de fácil contaminación durante la separación de la carne para elaborar los productos a base de carne de cangrejo se encuentra el *Staphylococcus aureus*. En este caso, los cangrejos pueden ser contaminados a través de manipuladores infectados o a través del medio ambiente. Con mayor frecuencia la contaminación procede de un individuo con una infección en las manos o con un resfrío (Huss, 1997). No obstante, su principal reservorio y hábitat es la nariz, garganta y piel del hombre, por lo que puede ser transferido directamente a la carne durante la etapa de despulpado (comercialmente denominada “picking”). Entre otros agentes patógenos de principal preocupación se encuentra la *Listeria monocytogenes* (Gillman, 2001; Trenholm, 1998). *L. monocytogenes* está distribuida por todo el medio ambiente y se puede encontrar en una serie de productos alimenticios incluyendo los crustáceos (Huss, 1997). En la actualidad la FDA (Food



and Drug Administration) de los Estados Unidos de Norte América exige la ausencia de *L. monocytogenes* en productos pesqueros listos para el consumo, tales como la carne de cangrejo, mariscos o pescado ahumado (Huss, 1997). *Listeria* se encuentra en las superficies en contacto con alimentos, y más a menudo en las superficies que no entran en contacto directo con los mismos, como los drenajes, los pisos, las cabinas de los camiones de transportes y las cámaras de refrigerado (Morillo y col. 2007).

Dado que la carne de cangrejo es manipulada previa a su envasado, antes de ser congelada, la misma debe someterse a un proceso de pasteurización para eliminar la presencia de microorganismos patógenos (Edwards y Early, 1976; Codex Alimentarius, 1983). El tiempo de exposición a las temperaturas de pasteurización y la letalidad del microorganismo son función del sustrato, pH, temperatura de trabajo, tratamiento inicial del producto, presencia u ausencia de oxígeno, potencial de reducción y actividad de agua, entre otras variables (Trenholm, 1998). El Código Internacional de Prácticas para Cangrejos (Codex Alimentarius, 1983) ha recomendado para la pasteurización de carne de cangrejo envasada, un calentamiento de 85°C, manteniéndose a dicha temperatura durante un minuto. Sin embargo, se han reportado varios trabajos donde la utilización de temperaturas por arriba de 83°C puede producir cambios indeseables en el color de la carne durante su posterior almacenamiento (Gates y Parker, 1992; Gates y col. 1993; Trenholm, 1998).

La utilización de envases con baja permeabilidad al oxígeno y al vapor de agua, sumado a la utilización de vacío para envasar la pulpa de cangrejo, también es de gran ayuda en la protección de la materia prima. Este tipo de envasado permite la utilización de un contenido menor de aditivos o de permanecer libres de ellos conservando sus propiedades nutritivas y organolépticas tras el procesado (Parry, 1995; Kivançli Jimenez Martinez, 2007).

Para estimar los requerimientos energéticos y diseñar adecuadamente el proceso de



calentamiento de la pulpa de cangrejo, es necesario predecir los tiempos de proceso de manera precisa. La simulación numérica del proceso de transferencia de energía permite calcular la distribución tiempo-temperatura en todo el dominio del alimento variando distintos parámetros como la temperatura del medio calefactor o los coeficientes de transferencia de calor. Esta información es fundamental cuando es necesario diseñar un proceso industrial satisfactorio para asegurar la inocuidad del alimento.

Dada la ambigüedad de la información acerca de los procesos de pasteurización en carne de cangrejo, el presente capítulo está orientado a: a) Optimizar el proceso de pasteurización de la carne de cangrejo despulpada y envasada al vacío; b) Cuantificar las curvas de letalidad de microorganismos patógenos representativos como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* determinando los parámetros de reducción decimal (D), valor z y su energía de activación (Ea); c) Simular matemáticamente la transferencia de energía durante el proceso de pasteurización utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF) y validar experimentalmente el modelo de transferencia térmica; d) Acoplar las historias térmicas con el cálculo de la letalidad microbiana de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* y validar microbiológicamente los resultados del modelo.

5.1. Preparación de la muestra. Determinación de las curvas de penetración térmica en pulpa de cangrejo envasada al vacío

5.1.1. Materiales y métodos

Los cangrejos fueron seccionados en cuerpo y pinzas según lo descrito en el Capítulo 4. En el caso particular del cuerpo se extrajeron el caparazón y las vísceras. Las distintas partes fueron calentadas mediante inmersión en agua en ebullición y luego enfriadas rápidamente en agua-hielo para permitir un mejor desprendimiento de la carne del exoesqueleto. La carne utilizada para ser envasada fue la extraída del cuerpo (“Jumbo” y “Flake”) y “Mero” del cangrejo *O. trimaculatus*. La misma se separó



manualmente de la lámina calcárea y luego se envasó al vacío por 250g en películas plásticas Cryovac (T7335) de 90 micrones de espesor, siendo las dimensiones del envase 11,5cm de ancho por 19,2cm de largo. El vacío se realizó en una envasadora Komet Plusvac 21 de una sola cabina. Los envases (“Pouches” comercialmente) Cryovac T7335 para vacío, son envases multicapa de polietileno y nylon (PE/PA), están preparados especialmente para soportar amplios rangos de temperaturas, presentan una baja permeabilidad al oxígeno ($60\text{cm}^3/\text{m}^2/\text{día}$) y al vapor de agua ($9\text{g}/\text{m}^2/\text{día}$). Estas bolsas están diseñadas específicamente para soportar temperaturas de 100°C , permitiendo de esa manera los procesos de pasteurizado, cocido y hervido. Están diseñadas para envasar mariscos, y demás productos que necesiten pasar por procesos de altas temperaturas para ayudar a preservar la calidad del alimento.

La carne (pulpa) de cangrejo cocida envasada al vacío por 250g en películas plásticas Cryovac, fue pasteurizada a distintas temperaturas constantes de calentamiento (60°C , 72°C y 82°C) utilizando un baño termostático. En principio, se registraron experimentalmente las historias térmicas del producto mediante termocuplas calibradas tipo K y adquisidor de datos (Omega, USA). Debido a que al colocar la termocupla se producía pérdida de vacío, se utilizó un data logger de temperatura digital (iButton® Sensors, Maxim products USA) de rango de trabajo de -55°C a 100°C , con mediciones de temperatura cada 1 minuto. El iButton es un sensor de temperatura digital muy pequeño, de geometría cilíndrica de 0,3cm de alto y 0,5cm de diámetro. El mismo se colocó en el centro geométrico del envase. Las historias térmicas experimentales se utilizaron para ser comparadas con las predicciones del modelo matemático de penetración térmica de la segunda etapa de calentamiento (pasteurización), utilizando el programa Comsol Multiphysics.

5.1.2. Análisis estadísticos

Las medias y las desviaciones estándar de los datos se calcularon con las funciones estadísticas de la planilla de cálculo de Microsoft Office Excel (versión 2007). Las



regresiones y líneas de tendencia de las curvas también fueron calculadas a través de este programa. Para el análisis estadístico comparativo de los datos se usó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95%.

La raíz cuadrada del error medio cuadrático (root-mean-square error, RMSE) se utilizó para medir las diferencias entre los datos de temperaturas calculados por el modelo numérico y los valores experimentales, según las fórmulas descritas en el Capítulo 3.

5.1.3. Resultados de las curvas de penetración térmica en pulpa de cangrejo envasada al vacío.

Las curvas de penetración térmica se realizaron sobre pulpa de cangrejo envasada al vacío por 250g (Fig 5.1). Una vez sellados, los envases alcanzaron un alto de 1,7cm. Estos envases son generalmente conocidos en la industria bajo la denominación “pouches”. Los envases se sumergieron en un baño termostático a 60°C, 72°C y 82°C. La temperatura fue registrada cada 1 minuto hasta alcanzar la temperatura final, como se observa en la Figura 5.1.

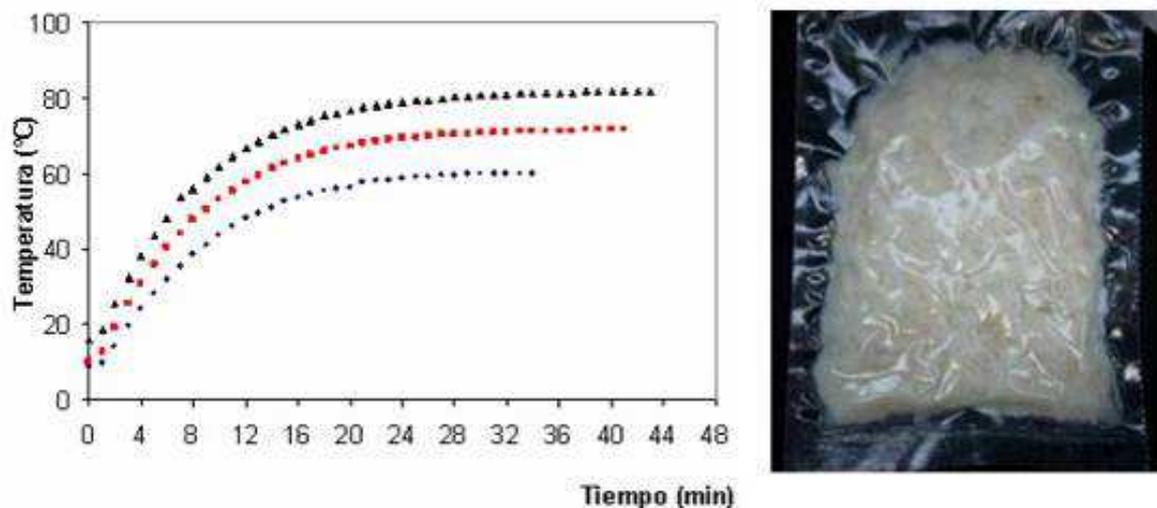


Figura 5.1 Curvas de penetración térmica experimentales. Negro: 82°C; Rojo: 72°C; Azul: 60°C. Derecha: Imagen de pulpa de cangrejo envasada al vacío.



5.2. Determinación experimental del calor específico (C_p) por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

5.2.1. Método de medición

La determinación experimental del calor específico (C_p) se realizó a través de un Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC), TA Instruments, New Castle, Delaware, USA modelo Q100. La medición se realizó para el músculo de cangrejo cocido, usando la misma metodología descrita en la Sección 3.5 del Capítulo 3.

5.2.2. Resultados experimentales del calor específico por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En promedio, el calor específico determinado por DSC entre 20 y 100°C fue 3,20kJ/kgK. Los valores de C_p calculados se encuentran dentro del rango de valores reportados por Radhakrishnan (1997) para diversas especies marinas, donde el mismo osciló entre 3,1kJ/kg°C y 3,8kJ/kg°C. Mohsenin (1980) ha discutido en detalle otros métodos utilizados en las mediciones del calor específico de diversos alimentos. Mohsenin (1980) y Sweat (1986) sugirieron el calorímetro diferencial de barrido como la mejor herramienta práctica para la determinación de C_p en los alimentos.

5.3. Modelado matemático y simulación numérica de la transferencia de energía, en pulpa de cangrejo envasada al vacío, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF)

5.3.1. Modelo matemático

Se resolvió la ecuación diferencial que representa el balance microscópico de energía no estacionario de conducción en sólidos para sistemas tridimensionales de geometría irregular.

$$\rho(T) C_p(T) \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k(T) \nabla T) \quad (5.1)$$

donde las condiciones iniciales y de contorno son las siguientes



$$T = T_0 \quad t = 0 \quad \text{en } \Omega_c$$

$$-k_c \left(\frac{\partial T}{\partial x} \cdot n_x + \frac{\partial T}{\partial y} \cdot n_y \right) = U(T - T_{\text{ext}}) \quad t \geq 0 \quad \text{en } \delta\Omega_c \quad (5.2)$$

n_x y n_y son los vectores externos normales unitarios en la interfase, U es un coeficiente de transferencia global que incluye la resistencia al flujo calórico debido al material plástico, y considera la presencia de pequeños huecos de aire que contiene la carne, T_{ext} es la temperatura externa del medio calefactor y $\delta\Omega_c$ representa la superficie exterior del producto. Para la simulación numérica se utilizó el método de elementos finitos con el programa Comsol Multiphysics (Ver el desarrollo de las ecuaciones en el Capítulo 3). El producto envasado posee una geometría tridimensional con una sección transversal representada por una elipse de eje menor= 1,7cm y eje mayor= 11,5cm; la longitud del paquete es de 19,2cm. Dadas las dimensiones del envase se despreció la transferencia axial y se resolvió el problema como un sistema bidimensional donde la transferencia de energía se producía a través de la sección transversal elíptica del envase. Se alimentaron al programa computacional las propiedades termofísicas de la carne cocida: densidad (ρ , kg/m³), calor específico (C_p , kJ/kgK) y conductividad térmica (k , W/mK). Para la condición de contorno en la interfase se tuvieron en cuenta los coeficientes de transferencia calórica convectivos y las propiedades de la película del envase. El coeficiente de transferencia calórica del medio calefactor (h_{agua}) se obtuvo mediante experimentos independientes con piezas de aluminio (prisma de 5x7x15cm) similares al “pouche”. El coeficiente de transferencia calórica se determinó utilizando el mismo procedimiento descrito en la Sección 3.7 del Capítulo 3. Se consideró en el modelo un coeficiente global de transferencia calórica U cuyo cálculo incluía la resistencia a la transferencia calórica del líquido de calefacción ($1/h_{\text{agua}}$), la resistencia térmica de la película plástica del envase (e/k_{envase}) y la de la capa de aire dentro de dicho envase ($1/h_{\text{aire}}$) de acuerdo con la ecuación:



$$\frac{1}{U} = \frac{1}{h_{\text{aire}}} + \frac{e_{\text{envase}}}{k_{\text{envase}}} + \frac{1}{h_{\text{agua}}} \quad (5.3)$$

5.3.2. Resultados de la simulación y modelado matemático de la transferencia de energía, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF) en pulpa de cangrejo envasada al vacío

Se alimentaron al programa computacional Comsol Multiphysics las propiedades termofísicas de la carne cocida de cangrejo. Las mismas fueron: densidad (ρ) =858kg/m³, calculada como el peso del la pulpa envasada (250g) dividido por el volumen ocupado al ser sometida al vacío (desplazamiento de agua al ser sumergido el paquete); calor específico (C_p)=3,209kJ/kgK, calculado por DSC y la conductividad térmica (k)=0,53W/mK, calculada por Choi y Okos (1983) según las ecuaciones propuestas en la Tabla 3.1 del Capítulo 3.

Para la condición de contorno en la interfase se tuvieron en cuenta los coeficientes de transferencia calórica convectivos y las propiedades de la película del envase. De acuerdo con la Ecuación 5.3; el valor del coeficiente global de transferencia calórica (U) fue de 40 W/m²K, calculado en base al h del medio calefactor ($h=200\text{W/m}^2\text{°C}$), el espesor de la película plástica (90 μm) y su conductividad térmica ($k=0,42\text{W/mK}$), y considerando además la existencia de una delgada película de aire (0,5mm) que impone una resistencia adicional dentro del paquete. El espesor del material plástico del envase y su resistencia a la transferencia resulta mucho menor que la debida a la capa de aire. Como puede observarse, el modelo propuesto (simulación numérica) coincidió satisfactoriamente con los datos experimentales tiempo-temperatura para todas las condiciones ensayadas, siendo la raíz cuadrada del error porcentual entre las temperaturas simuladas y experimentales menor al 4% (RMSPE% < 4%) para todas las corridas realizadas. En la Figura 5.2 se muestra la distribución de temperaturas en el envase expuesto a una temperatura de 82°C después de 1020 segundos.

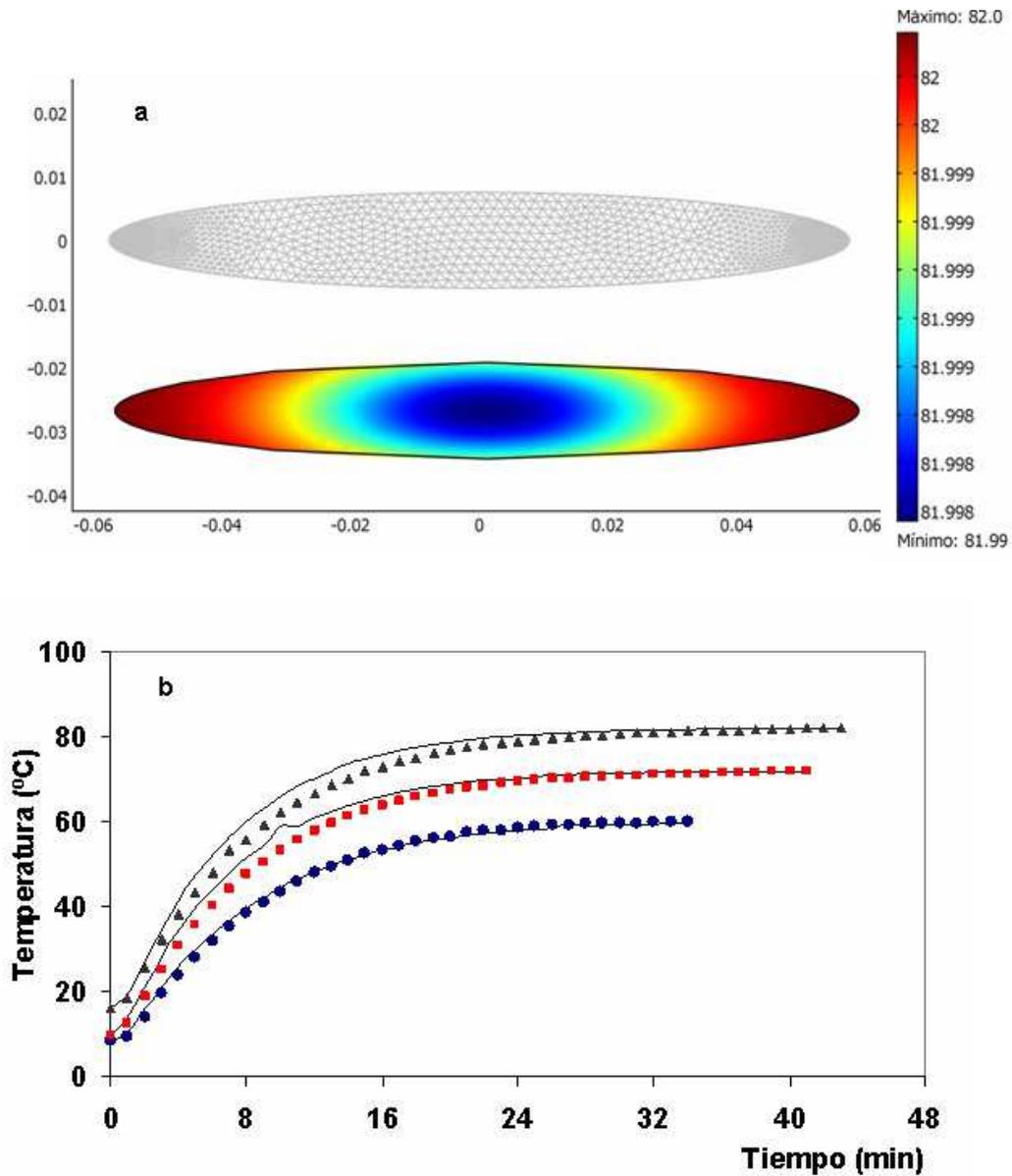


Figura 5.2 a) Distribución de temperaturas a 1020s. Temperatura externa = 82°C y malla utilizada en el programa de elementos finitos; b) Curvas de penetración térmica: simulación numérica (línea llena), temperaturas experimentales (línea punteada). Curvas: Negra- 82°C; Roja- 72°C y Azul- 60°C.



5.4. Determinación de la curvas de letalidad microbiana para *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*: cálculos de los parámetros de reducción decimal (D), valor z y energía de activación (Ea)

5.4.1. Materiales y métodos

Se trabajó con cepas de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* proporcionadas por la Facultad de Veterinaria de la Universidad Nacional de La Plata. Para cada patógeno se midió la cinética de letalidad térmica y se determinó el tiempo de reducción decimal (D) y el valor z (°C). Para la obtención de estos parámetros se extrajeron 50g de carne cocida de cangrejo, la cual se inoculó con 1ml del microorganismo patógeno (1×10^7 UFC/g). De la muestra inoculada se pesó 1g y se colocó en tubos de vidrio de diámetro muy pequeño para evitar gradientes de temperatura en la muestra que va a ser calentada, a la misma se le adicionó solución peptonada al 0,1%. Los tubos se colocaron en un baño termostático a temperatura constante y a intervalos de 15 y 30 segundos se retiró secuencialmente un tubo por vez. Los experimentos se realizaron a las 3 temperaturas de calentamiento: 60°C, 72°C y 82°C. De cada muestra tratada térmicamente a diferentes tiempos y temperaturas se sembró 1 microlitro en placa con caldo nutritivo Baird-Parker Agar, específico para *S. aureus* y medio UVM (University of Vermont Medium) para *L. monocytogenes*. Las placas sembradas se incubaron en estufa a 37°C por 48 horas. Pasado dicho tiempo se cuantificó el número de colonias por placa. Con esta información se realizaron las curvas de letalidad microbiana en función del tiempo para cada temperatura de trabajo. Los ensayos se realizaron por triplicado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, UNLP-CONICET). Los valores de reducción decimal (D) para *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogene*, para cada una de las temperaturas ensayadas, se obtuvieron a partir de la pendiente de $\text{Log}(N/N_0)$ en función del tiempo (Fig 5.3), donde N es el número de colonias a un determinado tiempo de calentamiento y N_0 es el número de colonias iniciales. El valor z (°C) para cada microorganismo fue hallado a partir de la pendiente



del logaritmo decimal de D en función de la temperatura (Fig 5.4). Las energías de activación se obtuvieron utilizando la ecuación de Arrhenius.

5.4.2. Resultados de la curvas de letalidad microbiana para *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*: cálculos de los parámetros de reducción decimal (D), valor z (°C) y energía de activación (Ea)

La Tabla 5.1 muestra los valores de reducción decimal (D) obtenidos para *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* a las diferentes temperaturas ensayadas. Los valores de D se obtuvieron a partir de las pendientes del $\text{Log}(N/N_0)$ en función del tiempo, como se muestra en la Figura 5.3.

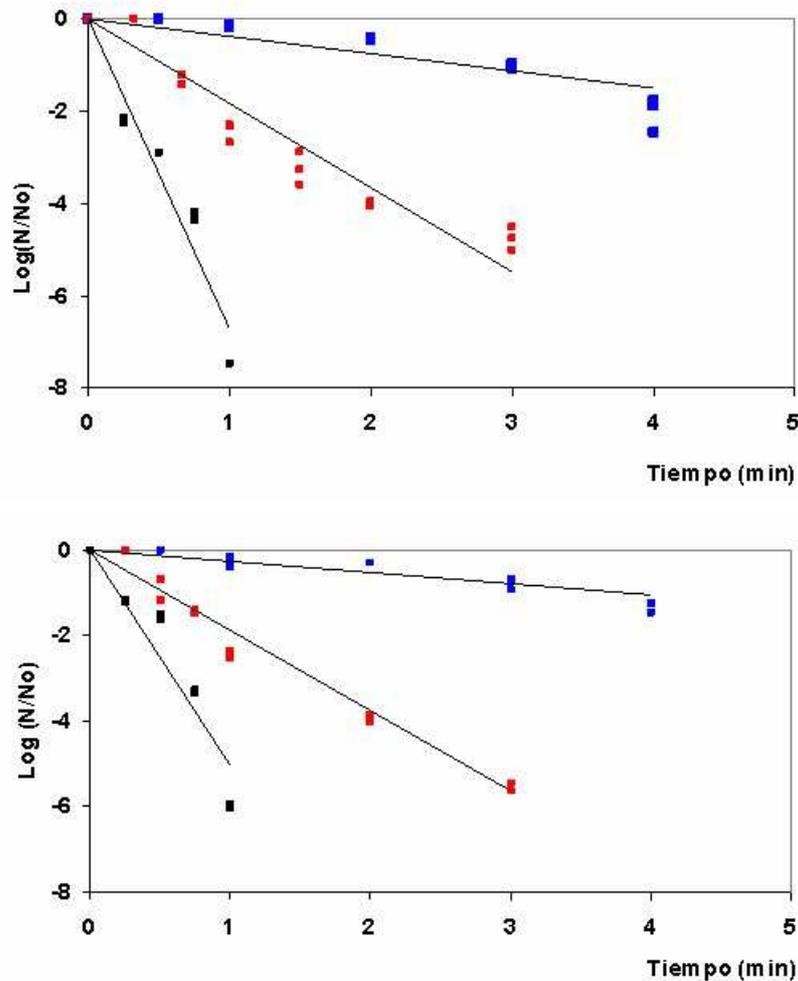


Figura 5.3 Curvas de letalidad microbiana a diferentes temperaturas y tiempos de calentamiento. Azul- 60°C; Rojo- 72°C; Negro- 82°C. a) *L. monocytogenes*, b) *S. aureus*.



Tabla 5.1 Valores de tiempos de reducción decimal D en minutos, obtenidos de las pendientes (k) mediante ajustes de regresión a los datos de letalidad (Fig 5.3).

L. monocytogenes

T(°C)	Pendiente (min ⁻¹)	D=-1/k (min)	Log (D)
60	-0,45	D60=2,22	0,35
60	-0,38	D60=2,63	0,42
60	-0,38	D60=2,63	0,42
72	-1,80	D72=0,56	-0,26
72	-1,75	D72=0,57	-0,24
72	-1,86	D72=0,54	-0,27
82	-6,72	D82=0,15	-0,83
82	-6,82	D82=0,15	-0,83

S. aureus

T(°C)	Pendiente (min ⁻¹)	D=-1/k (min)	Log (D)
60	-0,30	D60=3,33	0,52
60	-0,25	D60=2,92	0,59
72	-1,95	D72=0,51	-0,29
72	-1,90	D72=0,53	-0,28
82	-5,05	D82=0,20	-0,70
82	-5,39	D82=0,19	-0,73

Los valores de tiempo reducción decimal D hallados se encuentran dentro del rango publicado por Huss (FAO, 1997) para diferentes especies marinas, reportando valores de $D_{60}=1,95-4,48\text{min}$ para *Listeria monocytogenes* y $D_{60}=0,43-7,9\text{min}$ para *Staphylococcus aureus*.

El valor z (°C) para cada microorganismo representa el incremento de temperatura requerido para reducir el valor de D en un 90%. El mismo fue hallado a partir de la pendiente del logaritmo decimal de D en función de las temperaturas (Fig 5.4); los datos fueron extraídos de la Tabla 5.1. Los valores de z obtenidos fueron: $z=16,6^{\circ}\text{C}$ para *Staphylococcus aureus* y $z= 17,5^{\circ}\text{C}$ para *Listeria monocytogenes* (Fig 5.4). Valores de z entre 5°C y 17°C, para distintas especies marinas, fueron reportados por Harrison y Huang (1990) y Huss (FAO, 1997).



Asimismo se calcularon las energías de activación utilizando la ecuación de Arrhenius en función del valor z hallado, las mismas fueron 129,39kJ/mol y 132,27kJ/mol para *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente.

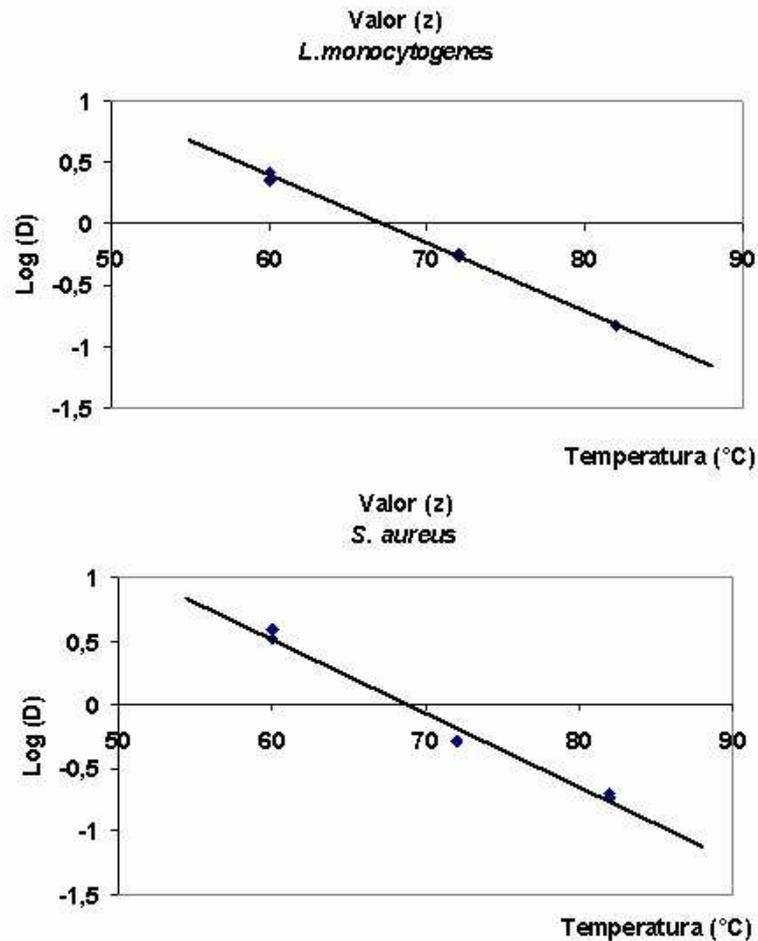


Figura 5.4 Regresión lineal para obtener los valores z (°C) para *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* en carne de cangrejo.

La dependencia del valor D y la temperatura (T) está dada por el valor z y está relacionado a la vez con la Ea por la ecuación $Ea = 9/5 [2,3R \cdot T_1 \cdot T_2 / z]$, siendo T1 la temperatura de referencia y T2 la del ensayo, en grados Kelvin. Como ocurre con los valores z, el valor de Ea indica la sensibilidad a la temperatura de la velocidad de reacción. Como se observa en la ecuación, los valores z son inversamente proporcionales a los valores de Ea. Cuanto mayor sea Ea, más va a aumentar la velocidad de reacción con el incremento de temperatura. En cambio, valores altos de z



indican baja sensibilidad de la velocidad de reacción a la temperatura. Dado que *Staphylococcus aureus* es más resistente al tratamiento térmico que *Listeria monocytogenes* a las diferentes temperaturas estudiadas, los cálculos de validación del modelo se basaron en la inactivación de este microorganismo.

5.5. Acoplamiento de las historias térmicas con el cálculo de la letalidad microbiana de *S. aureus* y *L. monocytogenes* para la determinación del tiempo real del proceso de calentamiento

5.5.1. Modelo matemático

La destrucción de microorganismos durante el proceso térmico se ajustó a una cinética de primer orden a través de la ecuación:

$$-\frac{dN}{dt} = kN = \frac{2.303}{D} N \quad (5.4)$$

donde N es el número de colonias al tiempo t (UFC/g) y D es el valor de reducción decimal a la temperatura T.

Si se tiene en cuenta que durante el proceso de calentamiento D no se mantiene constante sino que es función de la historia térmica del producto D(T) resulta:

$$D = D_{\theta} 10^{\frac{T_{\theta}-T}{z}} \quad (5.5)$$

donde D_{θ} es el tiempo de reducción decimal a la temperatura de referencia, T_{θ} es la temperatura de referencia y el valor z representa el incremento de temperatura requerido para reducir el valor de D en un 90%.

Remplazando la Ecuación 5.5 en la 5.4; al integrarla resulta:

$$\log \frac{N}{N_{\theta}} = \int_0^t \frac{10^{\frac{T_{\theta}-T}{z}}}{D_{\theta}} dt \quad (5.6)$$

donde $\text{Log}(N/N_{\theta})$ es el valor de pasteurización PV, número de ciclos logarítmicos de



población microbiana que se proponen reducir en el proceso.

Discretizando la Ecuación (5.6) se puede calcular el tiempo de calentamiento necesario para satisfacer el valor F_p del proceso de pasteurización (F_p)

$$\sum_{i=1}^n 10^{\frac{(T - T_{\theta})}{z}} \Delta t_i = F_p = PV \cdot D_{\theta} \quad (5.7)$$

5.5.2. Resultados del acoplamiento de las historias térmicas con el cálculo de la letalidad microbiana de *S. aureus* y *L. monocytogenes* para la determinación del tiempo real del proceso de calentamiento

Utilizando la Ecuación 5.7, en la que se acoplan las historias térmicas de la carne de cangrejo envasada al vacío por 250g en envases flexibles Cryovac T7335 (Fig 5.1), considerando el valor de z previamente obtenido para *S. aureus* (microorganismos base) y *L. monocytogenes*, y tomando un valor de pasteurización de cinco ciclos logarítmicos ($PV = 5$), se pudieron determinar los tiempos de pasteurización en función de la temperatura de proceso para lograr reducir los recuentos en 5 ciclos logarítmicos. Dichos tiempos resultaron de 32, 20 y 17 minutos para *S. aureus* y 26, 18 y 8 minutos para *L. monocytogenes* a temperaturas del fluido de calefacción de 60°C, 72°C, y 82°C, respectivamente.

Diversos informes (Codex Alimentarius, 1983, Ward y col. 1983) han recomendado para la pasteurización de la carne de cangrejo envasada, un calentamiento a 85°C manteniendo dicha temperatura durante un minuto. Dicha temperatura es tomada, generalmente como referencia para productos enlatados. Varios trabajos realizados sobre carne de cangrejo envasada en diferentes tipos de “packaging” han informado que la utilización de temperaturas por arriba de 83°C puede producir cambios indeseables de color y sabor en la carne durante su almacenamiento, debido al uso de altas temperaturas (Edwards y Early, 1976; Gates y Parker, 1992; Gates y col. 1993; Trenfiolrn, 1998). Edwards y Early, (1976), Gates y Parker, (1992) proponen tanto para carne de cangrejo enlatada, como para pulpa de cangrejo envasada en diferentes



empaques plásticos, una temperatura de pasteurización entre 80,6°C y 83°C. Por otro lado, diversos autores (Ward y col. 1983; Gates y Parker, 1992; Gates y col. 1993) han informado sobre la necesidad de utilizar diferentes tipos de envases con menor volumen de carne, para reducir tiempos y costos de proceso, sugiriendo el cambio de productos enlatados “steel cans” de 1 libra a latas de aluminio o plásticas, o al uso de “pouches” flexibles envasados por 1/2 o 1/4 de libra. El actual desarrollo de empaques diseñados para la pasteurización permite la optimización del proceso, permitiendo la utilización de menores temperaturas de trabajo a tiempos y costos razonables de proceso.

5.6. Experimentos de inoculación con el patógeno *S. aureus*

5.6.1. Materiales y métodos

La temperatura de calentamiento, para la inoculación de *S. aureus*, se seleccionó tomando como criterio la bibliografía mencionada en la sección anterior (Sec 5.5.2), donde se recomiendan temperaturas de pasteurización entre 80,6°C y 83°C. Los envases de 250g de carne de cangrejo envasada al vacío fueron inoculados con 1ml de *S. aureus* (1×10^7 UFC/g). Los envases fueron sometidos a un calentamiento de 18 minutos en un baño termostático a 82°C. Transcurrido el tiempo de calentamiento, se sembró la muestra en placa con caldo nutritivo Baird-Parker Agar, específico para *S. aureus*, y se siguieron los pasos explicados en la Sección 5.4, para comprobar que el proceso de pasteurización diseñado producía la letalidad requerida, ya que no se deberían contar colonias sobrevivientes.

5.6.2. Validación del proceso de pasteurización considerando la inactivación del patógeno *S. aureus*

La validación microbiológica del tiempo de proceso se realizó tomado en cuenta el microorganismo más resistente, *S. aureus*. Se pudo comprobar que el proceso de pasteurización diseñado (“pouches” pasteurizados a 82°C por 18 min) producía la



letalidad requerida ya que no se contaron colonias sobrevivientes. Es importante resaltar, que para asegurar la calidad microbiológica del alimento, el mismo debe ser envasado y pasteurizado inmediatamente después del despulpado de la carne y posteriormente refrigerado o congelado, manteniendo siempre una temperatura menor a los 10°C, a fin de impedir el crecimiento de los microorganismos que pudieron sobrevivir a la pasteurización (Codex Alimentarius, 1983; Mossell y Moreno Garcia, 1982). Estas características mencionadas son de vital importancia dado que, como se mencionó anteriormente, los manipuladores de alimentos son el principal origen de contagio del *S. aureus*, y si las condiciones de temperatura y pH son las adecuadas y las buenas prácticas de manufactura (BPM) son insuficientes, los estafilococos se multiplican rápidamente. Valores por encima de los 10⁵UFC/g forman cantidades mínimas de enterotoxinas, altamente termorresistentes y peligrosas para la salud del humano (Mossell y Moreno Garcia, 1982).

5.7. Síntesis del Capítulo

Dado que la extracción de la carne se realiza manualmente, se ensayaron distintas combinaciones de temperatura y tiempo de pasteurización (60°C, 72°C y 82°C), donde se registraron las historias térmicas del producto: pulpa de cangrejo cocida envasada al vacío por 250g en envase flexibles Cryovac. Paralelamente, se realizó el modelado matemático de la transferencia térmica durante la pasteurización de la carne cocida envasada al vacío en envases de polietileno/nylon (PE/PA) de 90µm y dimensiones de 11,5cm de ancho por 19,2cm de largo. Para la simulación numérica se utilizó el método de elementos finitos con el programa Comsol Multiphysics, considerando que el producto se podía asimilar a un sistema de geometría regular bidimensional cuya sección transversal correspondía a una elipse con eje menor de 1,7cm y eje mayor de 11,5cm. Se alimentaron las propiedades termofísicas de la carne cocida: densidad (848kg/m³), calor específico (3,20kJ/Kg.) y conductividad térmica (0,42W/mK). Se consideró también un coeficiente global de transferencia calórica U, cuyo cálculo



incluía la resistencia a la transferencia calórica del líquido de calefacción ($1/h_{\text{agua}}$), la resistencia térmica de la película plástica del envase (e/k_{envase}) y la de la capa de aire dentro de dicho envase ($1/h_{\text{aire}}$), el mismo resultó $U = 40 \text{ W/m}^2 \text{ K}$. Para cada patógeno se midió la cinética de letalidad térmica y se determinó el tiempo de reducción decimal (valor D) y el valor z ($^{\circ}\text{C}$), resultando $z = 16,6^{\circ}\text{C}$ para *Staphylococcus aureus* y $z = 17,5^{\circ}\text{C}$ para *Listeria monocytogenes*. Acoplando la cinética de destrucción de microorganismos a las curvas de penetración térmica, y tomando un valor de pasteurización de cinco ciclos ($PV=5$), se pudo determinar el tiempo del proceso al cual debe ser sometido el producto final, resultando para *S. aureus* ($F_{p60} = 32\text{min}$) y *L. monocytogenes* ($F_{p60} = 26\text{min}$). La correspondiente validación microbiológica se realizó a 82°C sobre el organismo más resistente a la temperatura, *S. aureus*, provocando la letalidad del microorganismo base. Los datos del presente estudio permitirán diseñar el proceso tecnológico para lograr la inocuidad de la pulpa de cangrejo envasada y pasteurizada.



Capítulo 6

Tiempos de congelación y atributos de calidad durante el almacenamiento congelado



Capítulo 6

Tiempos de Congelación y Atributos de Calidad Durante el Almacenamiento Congelado

6. Introducción

La industria procesadora de carne proveniente de cangrejos constituye una actividad incipiente en nuestro país. Las especies de cangrejos *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus patagonicus* son reconocidas como recursos de valor pesquero cuya comercialización puede generar productos de alto valor agregado. Una de las principales maneras en que pueden ser comercializados es como productos congelados, habiéndoseles aplicado previamente un tratamiento térmico (Codex Alimentarius, 1983). Esto es importante ya que durante el almacenamiento de los cangrejos sin cocción previa se producen reacciones enzimáticas que deterioran el sabor y la textura del producto terminado y, dado que la carne de cangrejo está adherida firmemente al exoesqueleto, el resultado es un rendimiento deficiente y una dificultad para la extracción de la carne (Edwards y Early, 1976; Codex Alimentarius, 1983). Entre los productos congelados tradicionales que se están exportando a partir de estos crustáceos pueden mencionarse: el cangrejo entero, pinzas de cangrejo, patas (cluster, generalmente en centollas) y bajo la forma de “salad meat” en bloques (pulpa) sellados al vacío y empacados en cajas individuales de varios formatos: 250g, 1kg y 2kg, entre otros productos (Edwards y Early, 1976; Gates y col. 1993). No todos los cangrejos se congelan de igual manera, ya que de cada uno se obtienen diferentes resultados. Un ejemplo de ello son las centollas (*Lithodes* y *Paralithodes*) que representan las especies comerciales de mayor tamaño y las más adecuadas para la congelación en relación a otras especies (Codex Alimentarius, 1983). El cangrejo Dungeness (*Cancer magister*) es un crustáceo de gran porte y se congela, por lo general, a -23°C como cangrejo cocido entero y eviscerado, con un tiempo de vida útil



de almacenamiento congelado entre 3 y 6 meses dependiendo de la velocidad de la congelación (Kolbe y Kramer, 2007). Esta forma es comparable con la empleada en la congelación del cangrejo Jonas (*Cancer borealis*) en el norte de California (Rebach y col. 1990). Por otro lado, los cangrejos azules o sirí (perteneciente a la familia de los Portúnidos, al igual que *O. trimaculatus*) son pequeños y no son adecuados para almacenar en estado congelado como cangrejo entero, por lo que la carne se extrae del caparazón y se envasa en latas o en bolsas plásticas, las cuales se pasteurizan y luego se congelan (Morrison y Veitch, 1957; Kolbe y Kramer, 2007). Por el contrario, como se mencionó en los capítulos anteriores, *Danielethus patagonicus* es un cangrejo perteneciente al grupo de los llamados “Stone Crabs”, este tipo de cangrejos es reconocido por sus dos grandes pinzas, que a diferencia de los portúnidos, solo las pinzas se cosechan, se someten a cocción y congelan (Oshiro y col. 1999; Alvarez y Briquets, 1983). Los cangrejos dan buenos resultados en el almacenamiento congelado si el proceso de congelación fue adecuado, pudiendo tener una vida útil de almacenamiento congelado a -18°C entre 6 meses y 1 año sin sufrir alteraciones (Kolbe y Kramer, 2007). La temperatura final de congelación también es relevante; para un aprovechamiento óptimo de la carne del cangrejo dorado (*Chaceon chilensis*) la bibliografía indica que se debe aplicar un proceso de congelación en el que la pieza alcance una temperatura de -20°C y se mantenga posteriormente en cámara a dicha temperatura (Cifuentes y Quiñinao, 2000). Huss (FAO, 1998) y el Código Alimentarius (1983) recomiendan una congelación donde la pieza alcance como mínimo una temperatura de -18°C en el punto más caliente. Cuando el tejido de un producto de mar se congela, el punto inicial de congelación se encuentra por debajo de 0°C debido a las diferentes sales, proteínas y otras moléculas disueltas en el agua del producto. El punto de congelación inicial para productos marinos depende de su contenido de humedad y es típicamente del orden de $-1,1$ a $-2,2^{\circ}\text{C}$ (Kolbe y Kramer, 2007; Codex Alimentarius, 1983; Huss, 1998). A partir del punto inicial de congelación, el agua se



separa como cristales de hielo (Zaritzky, 1997). La utilización de altas velocidades de extracción calórica producirá durante esta etapa pequeños y homogéneos cristales de hielo que no distorsionan la estructura del sistema que se congela (Zaritzky, 2010, 2011). El conocimiento del tiempo de congelación de un alimento es de gran importancia para el diseño del proceso ya que se puede convertir directamente en el tiempo de residencia del producto en el equipo de congelación; además, el tiempo de congelación constituye una información necesaria para determinar la velocidad de refrigeración requerida en relación con la capacidad del sistema de congelación (Zaritzky, 1997). Para estimar los requerimientos energéticos y diseñar adecuadamente los equipos de congelación es necesario predecir tiempos de proceso de manera precisa. El proceso de transferencia térmica en la congelación de alimentos está gobernado por las ecuaciones diferenciales a derivadas parciales (EDP) de conducción de calor con cambio de fase. La simulación numérica implica resolver un problema matemático altamente no lineal, ya que las propiedades termofísicas del alimento (conductividad térmica, densidad y calor específico) son funciones dependientes de la temperatura. Las variaciones bruscas de las propiedades termofísicas con la temperatura son debidas a la conversión de agua en hielo que se produce durante el proceso de congelación. La solución numérica de las ecuaciones consiste en dos pasos: discretizar el dominio espacial para obtener ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO) correspondientes a un número finito de temperaturas nodales y, a continuación, resolver este conjunto de EDO a distintos intervalos de tiempo (Pham, 2012). Para discretizar el espacio o dominio, el método de elementos finitos (MEF) es una de las herramientas más adecuadas ya que permite trabajar con formas que no pueden ser representadas por una red ortogonal regular.

La simulación numérica del proceso de transferencia de energía permite calcular la distribución tiempo-temperatura en todo el dominio del alimento variando distintos parámetros como la temperatura del aire refrigerante, los coeficientes de transferencia



de calor y la geometría del producto a congelar. Esta información es fundamental cuando es necesario definir procesos óptimos de congelación o adquirir equipamiento industrial específico. En consecuencia, es de interés para el sector industrial del congelado contar con información adecuada para el diseño y adquisición de los equipos de congelación necesarios para esta actividad. Por esta razón, es importante conocer los tiempos de congelación de los productos teniendo en cuenta sus características particulares, como la composición bioquímica y las propiedades termofísicas en todo el rango de temperaturas de congelación.

El presente capítulo está orientado a: a) Utilizar el modelo numérico de elementos finitos para simular el proceso de congelación de “pouches” de carne de cangrejo; b) Utilizar el simulador comercial COMSOL para predecir los tiempos de congelación en pinzas de cangrejo teniendo en cuenta una geometría irregular y heterogénea; considerar además el cambio de fase y la variación de las propiedades termofísicas con la temperatura; c) Determinar los coeficientes de transferencia de calor en un túnel industrial de congelación (placa-producto y producto-aire); d) Validar los modelos numéricos mediante experimentos de congelación en túnel a escala industrial; e) Evaluar el efecto del tiempo de congelación sobre el tamaño y la ubicación de los cristales de hielo en el tejido de la carne; f) Utilizar el modelo validado para analizar el efecto de diferentes condiciones de funcionamiento (temperatura externa de refrigeración, coeficientes de transferencia de calor, temperaturas iniciales) en los tiempos de congelación de productos a base de carne de cangrejo a fin de diseñar y controlar el proceso industrial; g) Evaluar la variación de la calidad de los productos pinzas y pulpa de cangrejo envasada, almacenados en cámara a -22°C .

6.1. Preparación y acondicionamiento de la materia prima

6.1.1. Materiales y métodos

Para la optimización del proceso de congelación se trabajó sobre dos productos procesados a base de carne de cangrejo. Por un lado se trabajó con pinzas de



cangrejos cocidas; las mismas fueron calentadas en agua a ebullición durante 5min y 10min para ejemplares de *O. trimaculatus* y *D. patagonicus*, respectivamente. Por otro lado, se procesaron los cuerpos de la especie *O. trimaculatus*, los mismos fueron separados del caparazón, eviscerados y calentados durante 8min en agua en ebullición (Dima y col. 2012). Después de la cocción, ambas secciones (pinzas y cuerpos) fueron sumergidas en agua-hielo para detener el proceso de calentamiento y facilitar el posterior desprendimiento de la carne del exoesqueleto. En esta etapa las pinzas ya se encontraban preparadas para ser congeladas. En el caso particular de los cuerpos, la carne se separó manualmente de la lámina calcárea y se envasó por 250g al vacío en películas plásticas Cryovac (T7335) de 90 μ m de espesor y dimensiones de 11,5cm de ancho por 19,2cm de largo. Una vez envasada y sellada se sometió a un proceso de pasteurización en un baño termostático a 82°C por 18 minutos según lo especificado en el Capítulo 5. Luego de ser pasteurizada la carne envasada se enfrió rápidamente y se encontró preparada para ser congelada.

6.1.2. Análisis estadísticos

La raíz cuadrada del error medio cuadrático (Root-mean-square error, RMSE) y la raíz cuadrada del error medio cuadrático porcentual (Root Mean Square Percentage Error, RMSPE), se utilizaron para medir las diferencias entre los datos de temperaturas calculados por el modelo (analíticamente) y los valores experimentales, según las ecuaciones descritas en el Capítulo 3.

Las regresiones polinómicas se realizaron utilizando el software SYSTAT 12. (Systat Software Inc.).

Las medias y las desviaciones estándar de los datos se calcularon con las funciones estadísticas de la planilla de cálculo de Microsoft Office Excel (versión 2007). Para el análisis estadístico comparativo de los datos se usó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95%.



6.2. Determinación de curvas de congelación en pinzas y en pulpa de cangrejo envasada al vacío

6.2.1. Materiales y métodos

Para las determinaciones de las curvas de tiempo y temperatura se utilizó un equipo de congelación desarrollado por la empresa Refmar S.R.L (Fig 6.1), situado en la Planta “Madryn Mariscos”, perteneciente a los Pescadores Artesanales de Puerto Madryn. El equipo es un túnel de congelación horizontal continuo de 6 metros de largo por un área transversal de $3,6\text{m}^2$. El mismo cuenta con seis ventiladores adaptados en la parte superior que trabajan a una frecuencia máxima de 50Hz. El equipo alcanza una temperatura máxima promedio de -40°C . El tiempo máximo de residencia de los productos dentro del túnel es de 40 minutos, pudiéndose regular dicha velocidad para producir menores tiempos de residencia para la congelación. Otra característica esencial del equipo es que el producto a congelar se coloca sobre una base metálica conductora la cual se encuentra a la temperatura del equipo. Por esta razón, la transferencia de energía durante la congelación se produce por convección (aire) y por conducción (placa de apoyo). La velocidad del aire dentro del equipo se registró por medio de un anemómetro digital portátil (STANDARD St Modelo ST8, USA). La misma varía entre $1,56\text{m/s}$ y $4,16\text{m/s}$ para frecuencias de operación de los ventiladores entre 30Hz y 40Hz, respectivamente. Se registraron experimentalmente diferentes curvas de congelación de los productos: pinzas de cangrejos cocidas y carne de cangrejo envasada al vacío, en el túnel de congelación descrito. Las curvas se registraron a velocidades entre $4,16\text{m/s}$ y $1,56\text{m/s}$ durante 35 minutos, que era el tiempo de residencia de los productos dentro del equipo, y a una temperatura externa del aire frío y la placa de contacto entre -27°C y -40°C .



Figura 6.1 Fotos del prototipo del equipo de congelado diseñado por Refmar S.R.L.

El registro tiempo-temperatura se realizó, para las pinzas de cangrejo cocidas, mediante termocuplas calibradas tipo K acopladas a un adquisidor de datos (Omega, USA). Para la carne de cangrejo envasada al vacío, debido a que la inserción de una termocupla producía pérdida de vacío, se utilizó un dispositivo digital de temperatura (iButton® Sensors, Maxim products USA) de rango de trabajo de -55°C a 100°C , con registros de temperatura cada 1 minuto; el mismo se colocó dentro del envase que luego se selló al vacío. Como se mencionó, el iButton es un sensor de temperatura digital, muy pequeño, y que no requiere cables de conexión. El mismo se ubicó en el centro geométrico del envase.



6.2.2. Resultados de las curvas de congelación de pulpa de cangrejo envasada al vacío

Algunas de las curvas experimentales obtenidas para la carne envasada al vacío y las pinzas de ambas especies de cangrejo se observan en la Figura 6.2. La línea punteada roja pertenece a curvas de congelación a 1,56m/s de velocidad del aire frío dentro del túnel, mientras que la línea punteada azul corresponde a una velocidad de 4,16m/s.

Las pinzas se congelaron a mayor velocidad que la pulpa envasada. Debe tenerse en cuenta que la carne de cangrejo desmenuzada (pulpa) posee un cierto grado de porosidad debido a la presencia de aire que queda en el envase; por mínima que resulte la presencia del aire, disminuye considerablemente la velocidad de congelación del producto. Asimismo, se puede observar que la velocidad de congelación disminuye al disminuir la velocidad del fluido refrigerante. Si se comparan las curvas de congelación obtenidas a distintas velocidades de aire, para los distintos productos, las diferencias se hacen notorias a partir del comienzo del cambio de fase (zona de meseta), volviéndose más pronunciada a medida que avanza el frente frío y disminuye la temperatura. La zona de meseta es donde el agua se transforma en hielo y se pone en juego el calor latente de cambio de fase, dando lugar al crecimiento de los cristales. Cuanto más tiempo permanezca el producto en esta zona, más lenta será la congelación y más inconvenientes se presentarán durante la descongelación, pudiéndose producir una mayor exudación o pérdida de agua del producto.

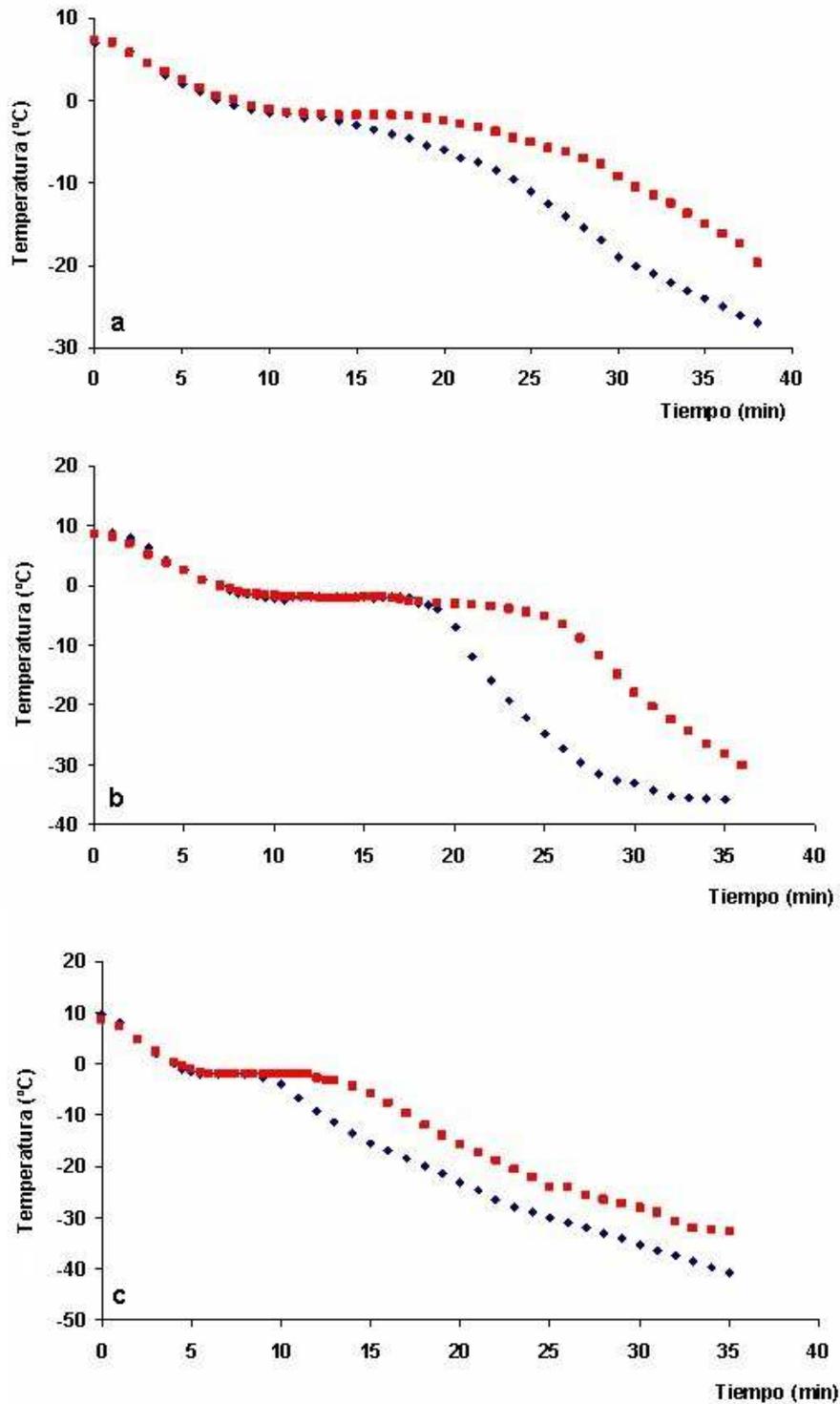


Figura 6.2 Curvas de congelación para: a) carne de cangrejo envasada al vacío, b) pinzas de *D. patagonicus* y c) pinzas de *O. trimaculatus*. Línea punteada azul (4,16m/s); línea punteada roja (1,56m/s). Temperatura externa -40°C.



Una forma de medir la velocidad de congelación es a través del tiempo local de congelación (t_c); expresado como el tiempo (min) que tarda el alimento en pasar de la temperatura inicial de congelación a una temperatura de por ejemplo -10°C . Los tiempos locales de congelación para una velocidad del fluido refrigerante de $4,16\text{m/s}$ resultaron de 12min y 9min para las pinzas de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*, mientras que para una velocidad de $1,56\text{m/s}$ fueron de $17,5\text{min}$ y 14min , respectivamente; en todos los casos la temperatura del fluido refrigerante fue de -40°C .

A partir de las curvas de congelación obtenidas se calculó la temperatura inicial de congelación T_i , utilizando el método de la tangente (Fennema, 1973). La Figura 6.3 muestra a modo de ejemplo el cálculo de la T_i para pinzas de *D. patagonicus*.

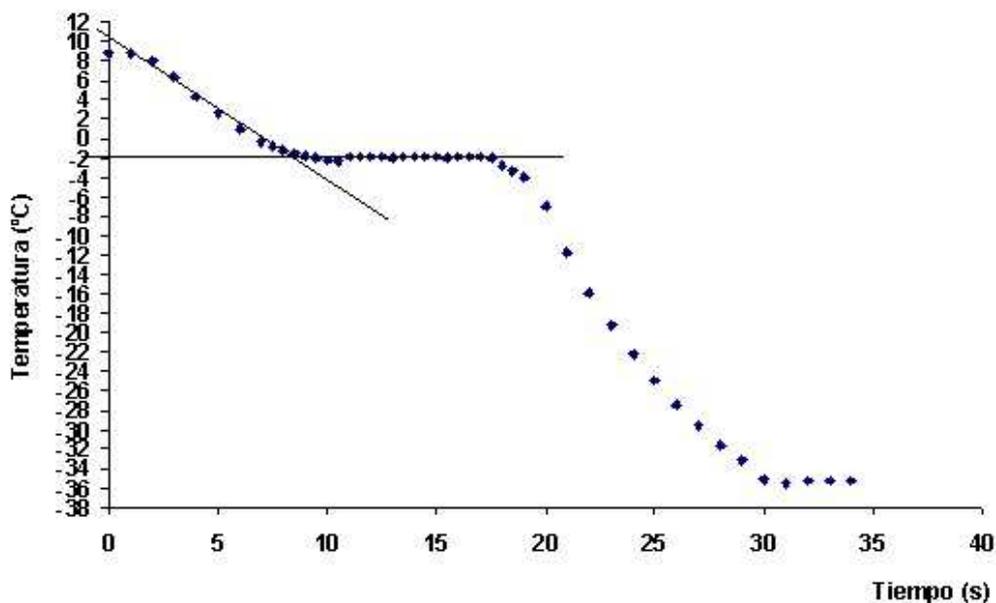


Figura 6.3 Cálculo de la temperatura inicial de congelación obtenida por el método de la Tangente (Fennema, 1973) para pinzas de *D. patagonicus*.

La temperatura inicial de congelación fue de $-1,8^{\circ}\text{C}$; la misma resultó similar para la carne envasada y pinzas de cangrejos cocidas. El punto inicial de congelación observado para dichos productos, depende de la composición y del contenido de humedad. El valor obtenido se encuentra dentro del rango de valores reportados para



diversas especies marinas por Kolbe y Kramer (2007).

6.3. Determinación de las propiedades termofísicas del músculo cocido

6.3.1. Materiales y métodos

El calor específico de la carne de cangrejo (C_p) en estado congelado y sin congelar, la temperatura de congelación inicial, la cantidad de agua no congelada y el calor latente de congelación, se midieron utilizando calorimetría diferencial de barrido (DSC) en un Equipo TA modelo Q100 controlado por un módulo TA 5000 (TA Instruments, New Castle, Delaware, USA). En este equipo se hicieron corridas de calentamiento a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ desde -50°C hasta 100°C , con un período isotérmico inicial de 10 minutos a -50°C . La primera corrida se realizó para obtener una línea de base por lo que se utilizaron dos cápsulas vacías de igual peso. Luego se obtuvo el termograma correspondiente a un estándar de zafiro. La tercera corrida se realizó con la muestra de carne de cangrejo. El procedimiento completo se realizó por triplicado. El cálculo del C_p se realizó según la norma ASTM E1269 y según McNaughton y Mortimer (1975), como se explicó en el Capítulo 3. El calor latente de fusión (ΔH_m) se determinó según Roos (1986), mediante la integración del pico de la curva de fusión; este valor se utilizó para calcular la fracción de agua no congelada en el alimento. Los límites de integración de temperatura del pico se tomaron cuando fue detectada una separación clara entre la curva y la línea de base. La fracción de agua no congelada (x_b) se obtuvo experimentalmente a partir del termograma de descongelación utilizando el DSC. El cociente entre el calor de fusión del material, el cual se obtuvo integrando el pico endotérmico del termograma, y el calor de fusión del agua pura ($333,2 \text{ J/g}$) (Weast y Astle, 1981) representa la fracción de agua congelada en el alimento. El x_b se calculó como la diferencia entre el contenido de agua total del alimento y el contenido de agua congelada (Sá y col. 1994).

Las propiedades termofísicas del músculo de cangrejo: densidad (ρ), calor específico (C_p) y conductividad térmica (k), que se utilizan en el modelo computacional que



describe el proceso de congelación, se estimaron teniendo en cuenta la composición bioquímica del músculo del cangrejo cocido reportado en el Capítulo 4, y utilizando las ecuaciones propuestas por Choi y Okos (1986), expresadas en la Tabla 3.1 del Capítulo 3.

La conductividad térmica de los alimentos congelados varía fuertemente con la temperatura, si tenemos en cuenta que el hielo es casi cuatro veces más conductor que el agua. La dependencia de la conductividad térmica con la temperatura se estimó utilizando un modelo en paralelo (Choi y Okos, 1986):

$$k(T) = \sum x_i^v \cdot k_i(T) \quad (6.1)$$

donde k es la conductividad global y k_i es la conductividad térmica del componente i (agua, carbohidratos, cenizas, lípidos, proteínas, y hielo si la temperatura se encuentra por debajo de la temperatura inicial de fusión). La fracción " x_i^v " corresponde a la fracción volumétrica de cada componente.

La densidad también sufre cambios significativos durante la congelación de alimentos, dado que el agua se expande un 10% por debajo del punto de inicial de congelación (disminuye la densidad) generando un stress térmico-mecánico importante.

La densidad del producto se calculó utilizando la siguiente ecuación (Choi y Okos, 1986):

$$\rho(T) = \frac{1}{\sum \frac{x_i}{\rho_i}} \quad (6.2)$$

donde $\rho(T)$ es la densidad global y ρ_i es la densidad del componente i (agua, carbohidratos, cenizas, lípidos, proteínas, y hielo si la temperatura se encuentra por debajo de la temperatura inicial de fusión). La fracción " x_i " corresponde a la fracción másica de cada componente.

Cuando se calcula el calor específico en un rango de temperaturas que abarcan valores por arriba y por debajo del punto de congelación se debe incluir el efecto del



cambio de fase. Si el rango de temperaturas comprende el cambio de fase es necesario tener en cuenta el aporte del calor latente en el rango de fusión del alimento de acuerdo a la fracción de hielo que se forma, el cual se denomina calor específico aparente. Para la carne de cangrejo, el mismo se estimó usando la ecuación propuesta por Miles y col. (1983):

$$C_{p_{ap}}(T) = \sum x_i C_{p_i} - Lx_w \frac{T_f}{T^2} \quad (6.3)$$

donde L es el calor latente de fusión del agua, T_f es la temperatura de inicio de congelación del producto determinado experimentalmente mediante el método descrito por Fennema (1973), C_p es el calor específico global y C_{p_i} es el calor específico del componente i (agua, carbohidratos, cenizas, lípidos, proteínas, y hielo si la temperatura se encuentra por debajo de la temperatura inicial de fusión).

Si consideramos la cantidad de agua ligada o no congelable, la fracción de hielo que se forma como una función de temperatura (a $T < T_f$) se puede estimar según Miles y col. (1983) como:

$$x_h = (x_w - x_b) \left(1 - \frac{T_f}{T}\right) \quad (6.4)$$

donde T_f es la temperatura inicial de congelación ($^{\circ}\text{C}$), x_h es la fracción másica de hielo, x_w es la fracción másica de agua en el alimento y x_b es la fracción másica de agua no congelada (agua ligada) obtenida por DSC.

6.3.2. Resultados de la determinación de las propiedades termofísicas

Aplicando las ecuaciones expresadas en la sección anterior, junto con los valores de la composición química del cuerpo cocido de cangrejo reportados en el Capítulo 4, se obtuvieron los gráficos de densidad, calor específico aparente y conductividad térmica para un rango de temperatura entre -40 y 20°C , temperaturas a las cuales estuvieron sometidos los productos a base de carne de cangrejos durante la congelación (Fig 6.4). El calor latente de fusión de la carne de cangrejo resultó $\Delta H_m = 243350 \text{ J/kg}$. La



fracción de agua ligada determinada mediante DSC en base húmeda resultó $x_b=0,1484$ y el calor específico de la carne de cangrejo en un estado completamente congelado (medido a -50°C) fue $C_{Pc}=1894,3\text{J/kg}^{\circ}\text{C}$. Estos datos experimentales se incorporaron a las ecuaciones propuestas para la obtención de las propiedades termofísicas en función de la temperatura (Fig 6.4).

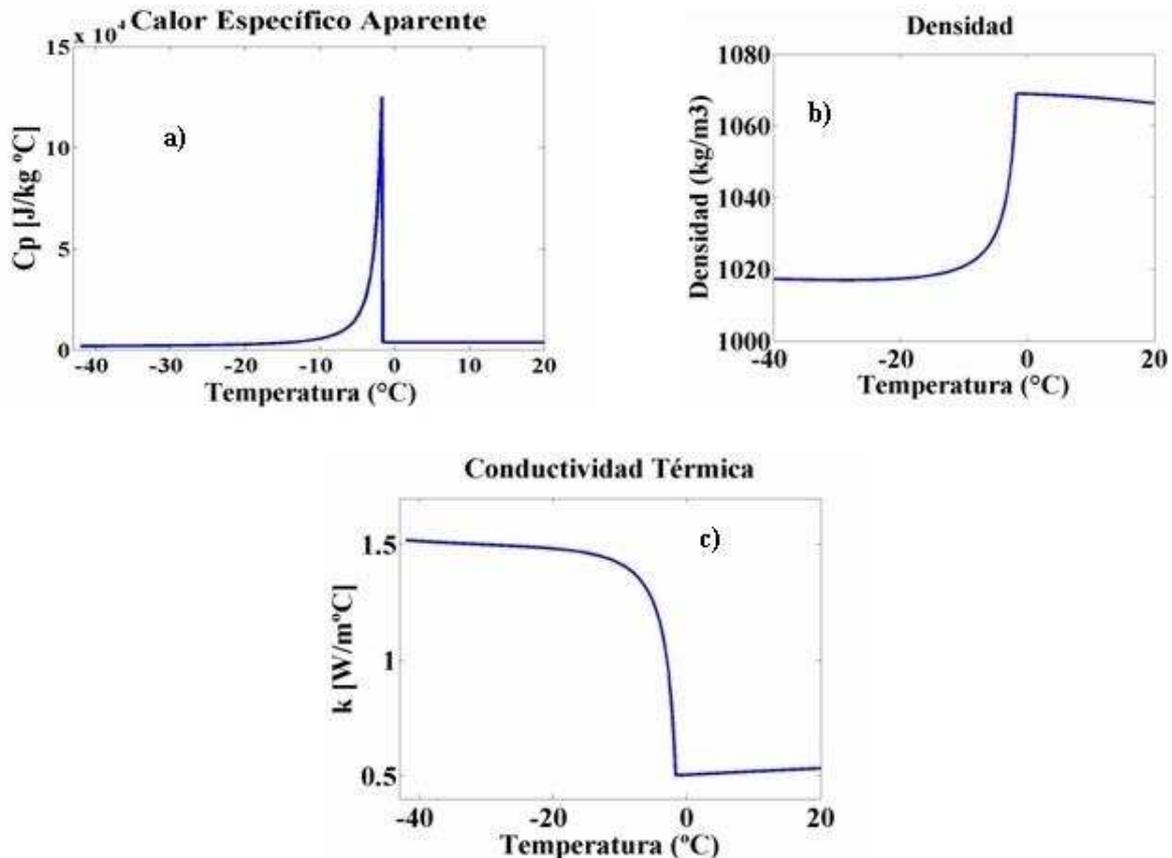


Figura 6.4 Gráficos de conductividad térmica, densidad y calor específico aparente para carne de cangrejo cocida, para un rango de temperatura de -40°C a 20°C .

6.4. Modelado matemático y simulación numérica de la transferencia de energía en el proceso de congelación, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF)

Como se mencionó anteriormente, simular numéricamente el proceso de transferencia de energía con cambio de fase implica resolver un problema matemático fuertemente no lineal, dado que las propiedades termofísicas del alimento intervinientes en la



ecuación diferencial (conductividad térmica, calor específico y densidad) son función de la temperatura. La variación de estas propiedades termofísicas con la temperatura es muy abrupta dada la conversión de agua a hielo dentro del alimento durante la congelación. Particularmente, el calor específico aparente presenta una funcionalidad cuasi delta de Dirac y es más abrupta cuanto más agua contiene el alimento debido a la liberación del calor latente de fusión en un rango pequeño de temperatura de cambio de fase. El método de los elementos finitos es uno de los métodos más adecuados para resolver problemas en sistemas de geometrías irregulares como las presentadas por algunos de los productos a base de crustáceos marinos. Existen técnicas numéricas que incorporan los efectos del cambio de fase en las propiedades termofísicas; densidad, conductividad térmica, y calor específico aparente, teniendo en cuenta su dependencia con la temperatura. En cada incremento del tiempo se debe estimar el nuevo valor de calor específico a través de la curva $C_{p_{ap}}$ (calor específico aparente) en función de la temperatura. Sin embargo, es muy difícil obtener una convergencia utilizando esta técnica. Existen en la literatura varias técnicas propuestas para evitar este problema utilizando el Método de Elementos Finitos (MEF) y calcular el calor específico efectivo cerca del rango de fusión (Cleland y col. 1984; Comini y col. 1989), sin embargo estas mejoras no siempre conducen a resultados satisfactorios (Pham, 1995, 2008). Por estas razones, las formulaciones Entálpicas (H) se desarrollaron con éxito y fueron utilizadas por varios autores (Mannapperuma y Singh, 1988, 1989). A su vez la integral de la conductividad térmica con la temperatura representa la función de Kirchhoff (E), que es una función más suave con la temperatura que la correspondiente a la conductividad térmica versus la temperatura. Introduciendo simultáneamente ambas variables, H y E, en la ecuación de conducción de calor se logra que el problema no-lineal se transforme en un problema lineal más simple de resolver.

Para simular la congelación de “pouches” de pulpa de cangrejo en el túnel de



congelado se utilizó una formulación Entálpica y de Kirchhoff (Scheerlinck y col. 1997, 2001; Fikiin, 1996, 1998). La formulación Entálpica se obtiene mediante la integración del calor específico aparente volumétrico con la temperatura (Comini, 1974; Mannapperuma y Singh, 1988, 1989; Pham, 2008) y la función de Kirchhoff, a través de la integración de la conductividad térmica con la temperatura. De esta forma la ecuación diferencial de transferencia de energía en términos de la temperatura se transforma en una ecuación diferencial en variable Entálpica y de Kirchhoff, ambas variables mutuamente relacionadas. Esta formulación ha sido utilizada con éxito para la simulación de procesos de congelación en productos alimenticios de geometrías irregulares tridimensionales (Santos y col. 2010a,b; Santos y Lespinard, 2011).

Para la congelación de pinzas de cangrejos, que es un sistema heterogéneo y compuesto, la formulación Entálpica y de Kirchhoff presenta dificultades ya que existen dos materiales con distintos valores de entalpía en íntimo contacto (carne y capa calcárea). En este tipo de problemas la energía se transfiere a través de resistencias en serie, representado mediante dos dominios con distintas propiedades termofísicas, la carne de cangrejo en contacto con una lámina calcárea. En la condición de contorno correspondiente a la interfase entre ambos materiales no existe unicidad en los valores de entalpía y función de Kirchhoff, lo cual hace imposible su resolución mediante esta metodología (Pham, 2008). Por lo tanto, para el caso de pinzas de cangrejos, se propuso utilizar el software Comsol Multiphysics para simular la transferencia de energía con cambio de fase cuando existen resistencias en serie. Asimismo, resultó necesario contar con la información de los coeficientes de transferencia calórica en los equipos de congelación.

6.4.1. Modelo matemático de congelación de pinzas de cangrejo

El problema se basó en estudiar un problema de congelación bidimensional en una geometría de contorno irregular. Debido a las dimensiones promedio de las pinzas (largo > diámetro), se consideró que el aporte axial a la transferencia de calor era



despreciable frente al intercambio de calor radial a través de la sección transversal. Por ende el problema se basó en estudiar un problema de congelación en 2D de contorno irregular tomando la sección media de la pinza (Fig 6.5a,c).

Para las pinzas, el contorno irregular del objeto se obtuvo a través de imágenes digitales, las cuales fueron procesadas en el programa Matlab. Luego, las imágenes fueron importadas al mallador para su discretización en elementos triangulares (Fig 6.5b).

En el caso de las pinzas de cangrejo, se tiene un sistema compuesto por dos dominios con propiedades termofísicas diferentes: carne de cangrejo y lámina calcárea. En el caso de la carne, ésta sufre un proceso de cambio de fase durante la congelación, en cambio la lámina calcárea presenta propiedades termofísicas constantes en todo el rango de temperaturas bajo estudio. Los problemas no lineales de conducción de calor que involucran cambios de fase se pueden describir mediante la siguiente ecuación diferencial definida en el dominio Ω . Las ecuaciones que describen el sistema son las siguientes:

$$\rho_c(T) C p_c(T) \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k_c(T) \nabla T) \quad \text{en } \Omega_c \quad (6.5)$$

$$\rho_{LC} C p_{LC} \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k_{LC} \nabla T) \quad \text{en } \Omega_{LC} \quad (6.6)$$

donde el subíndice “c” corresponde a la carne de cangrejo y “LC” a la lámina calcárea.

Las condiciones iniciales y de contorno son las siguientes:

$$T = T_0 \quad t = 0 \quad \text{en } \Omega_c \text{ y } \Omega_{LC}$$

$$-k_{LC} \left(\frac{\partial T}{\partial x} \cdot n_x + \frac{\partial T}{\partial y} \cdot n_y \right) = h_{placa-p} (T - T_{ext}) \quad t \geq 0 \quad \text{en } \delta\Omega_{placa-p} \quad (6.7)$$

$$-k_{LC} \left(\frac{\partial T}{\partial x} \cdot n_x + \frac{\partial T}{\partial y} \cdot n_y \right) = h_{p-a} (T - T_{ext}) \quad t \geq 0 \quad \text{en } \delta\Omega_{p-a} \quad (6.8)$$



Como se explicó anteriormente, el problema de la presencia de dos materiales con distintas propiedades genera que la formulación Entálpica y de Kirchhoff resulten inaplicables dado que existen dos valores distintos de E y H en la interfase entre ambos materiales (Pham, 2008). Por esta razón, se utilizó el software comercial Comsol Multiphysics para simular el proceso de cambio de fase con materiales en serie. Esta metodología se basa en representar al calor específico aparente (que incluye el cambio de fase) mediante la suma de las funciones Heaviside y Gaussiana, lo cual genera una función más suave en todo el rango de temperaturas, especialmente en la zona de cambio de fase, evitando inestabilidades numéricas para la resolución por elementos finitos, según lo recomendado por el manual del COMSOL (Manual COMSOL Multiphysics vs. 3.4). Por ende el calor específico de la carne de cangrejo se describió de la siguiente manera:

$$Cp_c(T) = Cp_{cc} + \frac{\Delta H_m}{T_m} \cdot f(H_{ea}) + D \cdot \Delta H_m \quad (6.9)$$

donde el Cp_{cc} corresponde al valor de calor específico de carne de cangrejo congelada, T_m es la temperatura del pico de congelación (equivalente a la media μ en la curva gaussiana), ΔH_m es el calor latente de fusión, y D es la función Gaussiana definida como

$$D(T) = \frac{e^{\left(\frac{-(T-T_m)^2}{dT^2}\right)}}{\sqrt{\pi dT^2}} \quad (6.10)$$

donde dT es la mitad del rango de transición, $2dT$ corresponde a la diferencia de temperatura donde ocurre la liberación del 84% del calor latente de fusión (Neeper, 2000), $f(H_{ea})$ es una función escalón Heaviside, codificada en el entorno del programa COMSOL-Matlab y tiene la gran ventaja de tener derivadas segundas continuas, lo cual permite al programa resolver el problema a pesar de la abrupta variación del calor



específico aparente, respetando los parámetros físicos, como son el rango de cambio de fase, la temperatura de congelación y el calor latente de fusión.

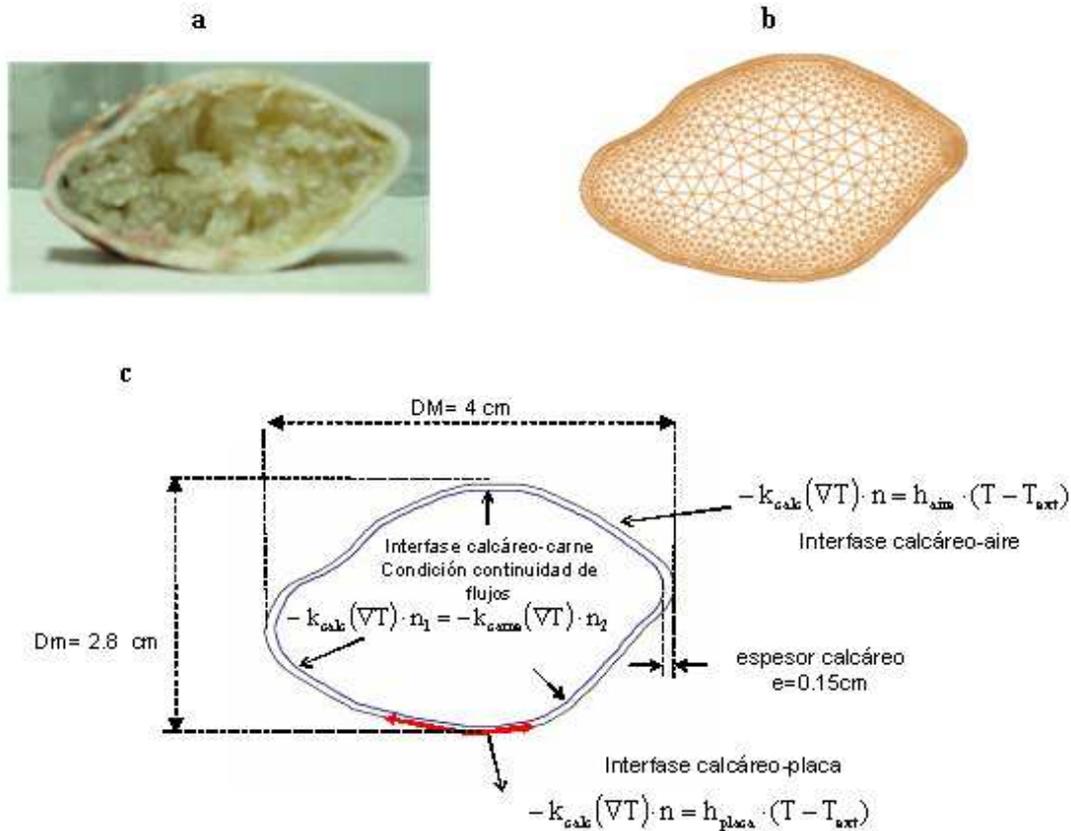


Figura 6.5 a) Diagrama del corte transversal de la pinza de cangrejo de *D. patagonicus*. Medidas geométricas de la pinza utilizada para el modelo. b) Mallado de la pinza de *D. patagonicus*. c) Ecuaciones del modelo propuesto para la transferencia de calor en la placa de apoyo y en el aire. La curva roja representa la sección de apoyo de la pinza en la placa del congelador.

En el caso de las pinzas se utilizó el simulador COMSOL, donde se incorporaron las funciones $k(T)$ y $\rho(T)$ en forma de tabla y se realizó la incorporación del $C_{p_c}(T)$ utilizando una formulación matemática alternativa donde se mantienen tanto el rango de congelación como el calor de fusión del alimento. Los coeficientes de transferencia h deben introducirse en el programa de simulación. Como se mencionó, debido a la geometría de la pinza, se consideró que el aporte axial a la transferencia de calor era despreciable frente al intercambio de calor radial a través de la sección transversal.



Por lo tanto se basó en estudiar un problema de congelación en 2D de contorno irregular tomando la sección media de la pinza (Fig 6.5c).

6.4.2. Modelo matemático de congelación de pulpa de cangrejo en “pouches”

Para el modelo de la carne envasada al vacío el problema se pudo asimilar a un proceso de transferencia de calor unidimensional (Fig 6.6).

La ecuación de conducción de calor en términos de temperatura es la siguiente:

$$\rho(T) C_p(T) \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k(T) \nabla T) \quad (6.11)$$

En el caso de congelación de envases, una forma de resolver el problema de la congelación es utilizando una transformación de variables, utilizando la formulación Entálpica y de Kirchhoff, como se explicó anteriormente en la Sección 6.4.

$$H(T) = \int_{T^*}^T \rho(T) \cdot C_p(T) dT \quad (6.12)$$

$$E(T) = \int_{T^*}^T k(T) dT \quad (6.13)$$

donde H se define como la entalpía volumétrica, que es la integral del Cp volumétrico y E es la función de Kirchhoff, que representa la integral de la conductividad. Estas funciones son monótonamente crecientes y positivas por lo que para un único valor de temperatura existe un único valor de Entalpía y función de Kirchhoff, T* es una temperatura de referencia que corresponde al valor cero de Entalpía y función de Kirchhoff.

Las condiciones iniciales y de contorno son las siguientes:

$$T = T_0 \quad t = 0 \quad \text{en } \Omega$$

$$-k \left(\frac{\partial T}{\partial x} \cdot n_x + \frac{\partial T}{\partial y} \cdot n_y + \frac{\partial T}{\partial z} \cdot n_z \right) = h'_{\text{placa-p}} (T - T_{\text{ext}}) \quad t \geq 0 \quad \text{en } \delta\Omega_{\text{placa-p}} \quad (6.14)$$



$$-k\left(\frac{\partial T}{\partial x} \cdot n_x + \frac{\partial T}{\partial y} \cdot n_y + \frac{\partial T}{\partial z} \cdot n_z\right) = h'_{p-a} (T - T_{ext}) \quad t \geq 0 \quad \text{en } \delta\Omega_{p-a} \quad (6.15)$$

donde los subíndices “placa-p” y “p-a” corresponden a la interfase placa-producto y producto-aire, respectivamente.

Para el caso de la carne envasada se utilizó un coeficiente de transferencia h'_{p-a} (producto -aire), el cual relaciona las resistencias en serie a la transferencia de calor dadas por la lámina plástica del envase (e/k_{pouche}) y la resistencia en la parte externa expuesta al aire de enfriamiento ($1/h_{aire}$). A su vez se consideró un coeficiente de transferencia $h'_{placa-p}$ (placa-producto) correspondiente a la superficie del envase apoyado sobre la placa ($1/h_{placa}$). El coeficiente de transferencia (h') incluye la resistencia al flujo calórico debido al material plástico (PE/PA), que contiene a la carne, en contacto con el aire o placa según corresponda, se considera además la presencia de una delgada capa de aire dentro del envase plástico (0,5mm). El espesor del material plástico del envase es de 90 μ m y su resistencia a la transferencia resulta mucho menor que la debida a la capa de aire.

Combinando las ecuaciones (6.11), (6.12), y (6.13) con las condiciones iniciales y de contorno representadas por las ecuaciones (6.14 y 6.15), se obtiene un sistema de ecuaciones diferenciales parciales con dos variables dependientes e interrelacionadas H y E (Santos y col. 2010, PIF: 13085/6).

$$\frac{\partial H}{\partial t} = \nabla^2 E \quad \text{en } \Omega \quad t \geq 0 \quad (6.16)$$

$$-(\nabla E) \cdot n = h'_{placa-p} \cdot (T - T_{ext}) \quad \text{en } \delta\Omega_{placa-p} \quad t \geq 0 \quad (6.17)$$

$$-(\nabla E) \cdot n = h'_{p-a} \cdot (T - T_{ext}) \quad \text{en } \delta\Omega_{p-a} \quad t \geq 0 \quad (6.18)$$

$$H = H_0 \quad t=0 \quad (6.19)$$



Para construir la formulación variacional del problema es necesario definir el residuo como:

$$r = \frac{\partial H}{\partial t} - \nabla^2 E \quad (6.20)$$

El método de elementos finitos utiliza una formulación variacional que exige que la integral del residuo ponderada en los nodos sea cero; de esta manera la energía se conserva en promedio en todos los elementos. Al utilizar las funciones de forma tanto para ponderar la integral como para representar la temperatura se aplica el método de Galerkin de residuos ponderados (Zienkiewicz y Taylor, 1994a,b):

$$\int_{\Omega} N^T \left(\frac{\partial H}{\partial t} - \nabla^2 E \right) d\Omega = 0 \quad (6.21)$$

Utilizando las reglas de diferenciación, el término $-\nabla^2 E$ se puede escribir como $-\nabla \cdot (\nabla E) + \nabla N^T \cdot \nabla E$. Luego de aplicar el teorema de la divergencia, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\int_{\Omega} N^T \frac{\partial H}{\partial t} d\Omega - \int_{\delta\Omega} N^T \nabla E \cdot n d\delta\Omega + \int_{\Omega} \nabla N^T \cdot \nabla E d\Omega = 0 \quad (6.22)$$

Las condiciones de contorno (Ecuaciones 6.17 y 6.18) se incorporaron en la formulación variacional en el segundo término de la Ecuación 6.22, obteniéndose

$$\int_{\Omega} N^T \frac{\partial H}{\partial t} d\Omega + \int_{\delta\Omega_{placa-p}} N^T h'_{placa-p} (T - T_{ext}) d\delta\Omega + \int_{\delta\Omega_{p-a}} N^T h'_{p-a} (T - T_{ext}) d\delta\Omega + \int_{\Omega} \nabla N^T \cdot \nabla E d\Omega = 0 \quad (6.23)$$

Reorganizando luego de aplicar el método de Galerkin:

$$CG \cdot \frac{dH}{dt} + FG \cdot T(H) + KG \cdot E(H) = m \quad (6.24)$$

donde:

$$CG = \sum_{e=1}^{ne} \int_{\Omega_e} (N^T N) d\Omega_e \quad \text{es la matriz global de capacitancia}$$

$$KG = \sum_{e=1}^{ne} \int_{\Omega_e} (B^T B) d\Omega_e \quad \text{es la matriz global de conductancia}$$



$$FG = \sum_{s=1}^{ns1} \int_{\Omega_s} (N^T h'_{placa-p} N) d\delta\Omega_s + \sum_{s=1}^{ns2} \int_{\Omega_s} (N^T h'_{p-a} N) d\delta\Omega_s$$

es la matriz global convectiva

$$m = \sum_{s=1}^{ns1} \int_{\delta\Omega_s} (N^T h'_{placa-p} T_{ext}) d\delta\Omega_s + \sum_{s=1}^{ns2} \int_{\delta\Omega_s} (N^T h'_{p-a} T_{ext}) d\delta\Omega_s$$

es el vector térmico global, H, E, y T son los valores nodales de entalpía de la función la Kirchhoff y de temperatura, respectivamente. Se puede observar que, gracias a la simultánea transformación de variables en entalpía y en la función de Kirchhoff, todas las propiedades no-lineales y dependientes de la temperatura fueron eliminadas y como consecuencia las matrices en la formulación por elementos permanecen constantes (no aparecen k, C_p y ρ en el cálculo de matrices y vectores elementales); esto significa que las matrices (CG, KG y FG) se calculan por fuera del ciclo que avanza en el tiempo reduciendo significativamente el tiempo de máquina (Sheerlinck y col. 2001). En otras palabras, el método permitió transformar un problema altamente no-lineal en uno lineal gracias a la incorporación de las variables E y H. Existen muchos trabajos donde se aplica la variable entalpía en procesos de congelación, sin embargo no es frecuente encontrar trabajos con una simultánea transformación Entálpica y de Kirchhoff, siendo este un aporte muy interesante en lo referente a la simulación de problemas no-lineales de congelación. La gran ventaja del método de Entalpía es que en lugar de la solución de las ecuaciones diferenciales parciales originales utilizando la temperatura como variable, el problema se reformuló en otra ecuación diferencial parcial que utiliza una variable de entalpía, donde el problema a resolver se puede representar como un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias. Por lo tanto la solución que se da como valores de entalpía sobre todo el dominio es una función H = H (x, y, z, tiempo). Si el coeficiente de transferencia de calor se considera constante durante el proceso, FG y m también permanecen constantes.

La Ecuación (6.24) es entonces un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias con tres variables desconocidas, H, E y T, relacionadas entre sí a través de funciones



algebraicas no lineales, $H(T)$, $E(T)$, $H(E)$, $T(H)$, $T(E)$, y $E(H)$. La dependencia entre la temperatura y las propiedades termofísicas se incorporan en la formulación de entalpía mediante el uso de las funciones $T(H)$ y $E(H)$. En primer lugar $H(T)$ y $E(H)$ se construyeron de acuerdo con las Ecs. 6.12 y 6.13. A continuación, usando el programa Matlab 6.5 se obtuvieron las funciones $T(H)$ y $E(H)$. Reemplazando las funcionalidades de $E(H)$ y $T(H)$ en la Ecuación 6.24, el sistema se puede escribir como (Santos y Lespinard, 2011)

$$\frac{dH}{dt} = f(H) \quad (6.25)$$

La solución del sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias necesarias para avanzar en el tiempo se implementó mediante un método implícito con un Δt variable, dentro del entorno del programa Matlab 6.5. El código computacional aplicando la formulación de Kirchhoff y de Entalpía también se programó en el Matlab. En virtud de obtener el perfil tiempo-temperatura se utilizó la ecuación $T(H)$, la cual es una función biyectiva asegurando que existe un único valor de temperatura para la solución del problema planteado en función de la variable H . Debido a las dimensiones de los pouches con carne de cangrejo, el sistema se podía asimilar a un proceso de transferencia de calor unidimensional, considerando sólo el espesor del dominio. En la Figura 6.6 se puede observar el esquema de los pouches utilizados para el modelo.

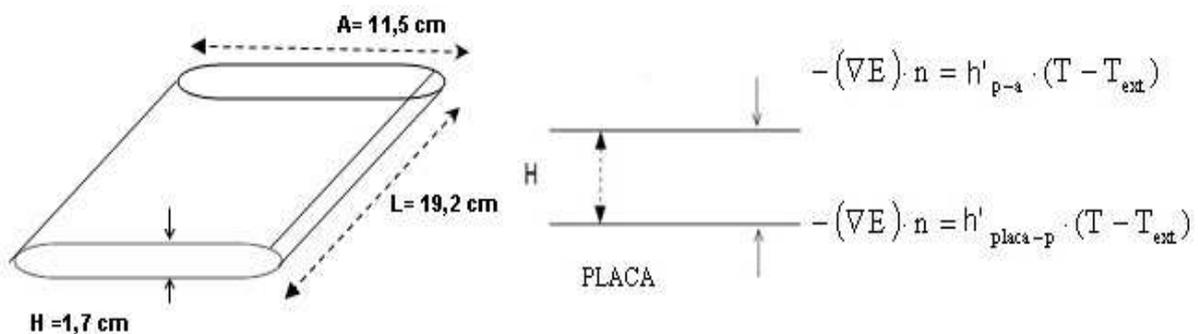


Figura 6.6 Diagrama representativo del producto carne de cangrejo envasada al vacío. Condiciones de contorno para el producto en contacto con el aire y para el producto en contacto con la placa.



6.5. Determinación del coeficiente de transferencia calórica en interfase (h) en el túnel de congelación. Curvas de velocidad de enfriamiento en sólidos altamente conductores

6.5.1. Materiales y métodos

El coeficiente de transferencia de calor en la interfase (h , $W/m^2\text{C}$) refleja las condiciones de transferencia sobre la superficie expuesta del alimento y el medio externo que lo rodea. Este parámetro es muy importante para el cálculo de tiempos de congelación y, en general, presenta una variabilidad mayor que las propiedades termofísicas del producto, lo cual genera error en los cálculos de la temperatura.

A fin de obtener un valor de coeficiente de transferencia calórica (h), para poder ser usado como punto de partida en el modelo matemático que describe el proceso de congelación de los productos pinzas de cangrejo, se determinaron experimentalmente los coeficientes de transferencia calórica en interfase utilizando sólidos regulares altamente conductores. Se emplearon a tal efecto una esfera (6cm de diámetro) y un prisma (5x7x15cm) contruidos en aluminio y a los cuales se les insertaron termocuplas tipo K en su centro geométrico para registrar la temperatura en función del tiempo al ser introducidas en el túnel de congelación. Se realizaron experimentos bajo distintas condiciones operativas para determinar los valores de h : i) Para estimar el $h_{\text{placa-p}}$ (placa-producto) se colocaron los cuerpos sólidos en el interior del túnel directamente sobre la placa conductora. ii) Para estimar el $h_{\text{p-a}}$ (producto-aire) se colocaron los cuerpos sólidos sobre un material aislante (poliestireno expandido con perforaciones) para tener solamente el registro del aporte del aire en el enfriamiento. Los coeficientes de transferencia h de la esfera y el prisma de aluminio aislados y apoyados sobre la base metálica del túnel se determinaron por el ajuste de los datos experimentales a las curvas de temperatura versus el tiempo, obtenidas mediante el programa COMSOL Multiphysics. Se propusieron diferentes coeficientes de transferencia de calor en la solución numérica; las historias térmicas experimentales se compararon con las simulaciones numéricas y se seleccionó el coeficiente de



transferencia de calor (h) que minimizaba la suma de las diferencias de los cuadrados entre las temperaturas experimentales y las predichas. Los experimentos realizados para determinar los coeficientes de transferencia de calor y poder validar el modelo se llevaron a cabo en forma independiente para cada condición operativa particular a la que fue sometido el producto pinzas de cangrejo.

Por otro lado, cuando se utilizan cuerpos de geometría regular muy conductores el coeficiente de transferencia puede ser estimado analíticamente, utilizando las curvas de temperatura adimensional en función del tiempo.

Cuando el número de Biot ($Bi=hD/k$, cociente entre la resistencia al flujo de calor por conducción dentro de un cuerpo y la resistencia al flujo externo de calor por convección) es lo suficientemente pequeño ($<1/6$), el gradiente de la temperatura interna puede considerarse despreciable en comparación con el gradiente de temperatura en la capa del fluido en la superficie, por lo que se asume que la temperatura interna del objeto bajo análisis es sustancialmente uniforme en toda su masa, en cualquier instante (“lumped parameters”).

A modo de ejemplo, tomando las curvas de temperatura en las esferas de aluminio, registradas en túnel de congelación, bajo diferentes condiciones operativa, se pudieron obtener los coeficientes de transferencia calórica por convección en el aire (h_{aire} , W/m^2K). Para la obtención del coeficiente (h) se compararon los resultados experimentales con las soluciones analíticas de la ecuación de transferencia de energía por conducción en estado no estacionario para sólidos sin gradientes de temperatura:

$$hA (T-T_{\text{ref}}) = -C_p\rho V (dT/dt). \quad (6.26)$$

donde T_{ref} es la temperatura del fluido refrigerante, A es área de transferencia (m^2) y V es el volumen del cuerpo (m^3).

El valor de h depende del estado fluidodinámico del sistema (esfera-aire), de la geometría y de las características del fluido. Por lo tanto, conociendo las propiedades



termofísicas del aluminio (conductividad térmica (k), densidad (ρ) y calor específico (C_p)), el diámetro de la esfera y la variación de la temperatura en función del tiempo, se pudo calcular el coeficiente de transferencia de calor h mediante una regresión lineal de los datos experimentales de tiempo y temperatura.

Reordenando el balance macroscópico de energía e integrándolo entre los límites de 0 y t para el tiempo, y de T_{inicial} (T_i) y T para la temperatura, se obtiene la siguiente ecuación

$$\ln\left(\frac{T - T_{\text{ref}}}{T_i - T_{\text{ref}}}\right) = \left(\frac{-hA}{\rho C_p V}\right)t \quad (6.27)$$

Esta ecuación se puede aplicar para calcular h cuando la resistencia a la conducción de calor en el interior del sólido es despreciable en relación a la resistencia térmica a la transferencia de calor por convección en el medio externo, es decir, el modelo es válido para números de Biot muy bajos ($Bi < 0,1$).

6.5.2. Coeficiente de transferencia h . Resultados de las curvas de velocidad de enfriamiento en esferas de aluminio

La Figura 6.7 muestra las curvas de temperatura- tiempo en esferas de aluminio para dos condiciones de transferencia calórica. Uno de los casos corresponde a la esfera de aluminio en el cual el calor se transfiere exclusivamente por convección del aire refrigerante, ya que la esfera está separada de la placa metálica y apoyada en un soporte perforado para que el aire circule alrededor de la misma. El otro caso, corresponde a la esfera apoyada en la cinta metálica (calor por conducción y además por convección). Como es esperable la esfera apoyada en la cinta metálica presenta una curva de descenso de temperatura más rápida que en el caso donde la transferencia se producía exclusivamente por convección. El error estándar de las medias de las temperaturas se representa por la barra de error en la parte inferior izquierda de la Figuras 6.7.

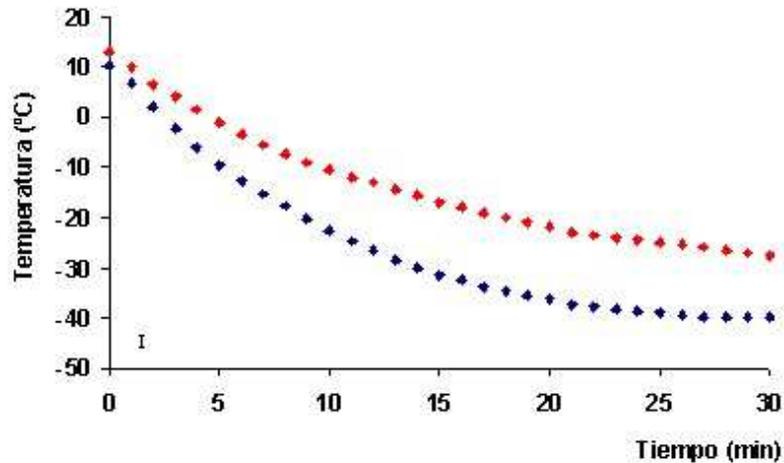


Figura 6.7 Curvas de enfriamiento para la esfera de aluminio sobre un soporte perforado (Rojo) y para la esfera apoyada en la placa fría (Azul). Temperatura del aire -40°C .

Para el cálculo analítico del h_{aire} de la esfera aislada se utilizaron los siguientes valores: Temperatura del fluido refrigerante $=230\text{K}$, Temperatura inicial (T_i) $=286\text{K}$, densidad (ρ) $=2700\text{kg/m}^3$, calor específico (900kJ/kgK), área y volumen de la esfera de aluminio. A partir de estos datos se obtuvieron los valores adimensionales de temperatura (eje Y):

$T^* = (T - T_{\text{ref}}) / (T_i - T_{\text{ref}})$, donde T es la temperatura a cada tiempo, T_i es la temperatura inicial y T_{ref} es la temperatura del fluido refrigerante.

De la Ecuación (6.27), $\ln(T^*) = (-hA/C_p\rho V)t$, se obtiene el valor de h , donde $-hA/C_p\rho V$ es la pendiente de la curva $\ln(T^*)$ versus el tiempo.

En la Figura 6.8 se observan las regresiones lineales a 2 velocidades del túnel de congelación. El valor del coeficiente de transferencia calórica (h) resultó de $h_{\text{aire}}=14,6\text{ W/m}^2\text{K}$ para las curvas de esferas de aluminio a una velocidad del aire refrigerante de $1,56\text{m/s}$ y $h_{\text{aire}}=24,3\text{ W/m}^2\text{K}$ para una velocidad del aire de $4,16\text{m/s}$.

Por otro lado, se utilizó el programa Comsol Multiphysics para determinar el valor de h correspondiente a la interfase aire-objeto (h_{aire}) y objeto-placa (h_{placa}), para una velocidad del fluido refrigerante de $4,16\text{m/s}$. Los h obtenidos fueron $h_{\text{aire}}=20\text{-}30\text{ W/m}^2\text{K}$ y $h_{\text{placa}}=400\text{-}500\text{ W/m}^2\text{K}$. Estos valores fueron luego utilizados para simular la



congelación de las pinzas, considerando la fracción de superficie apoyada sobre la placa.

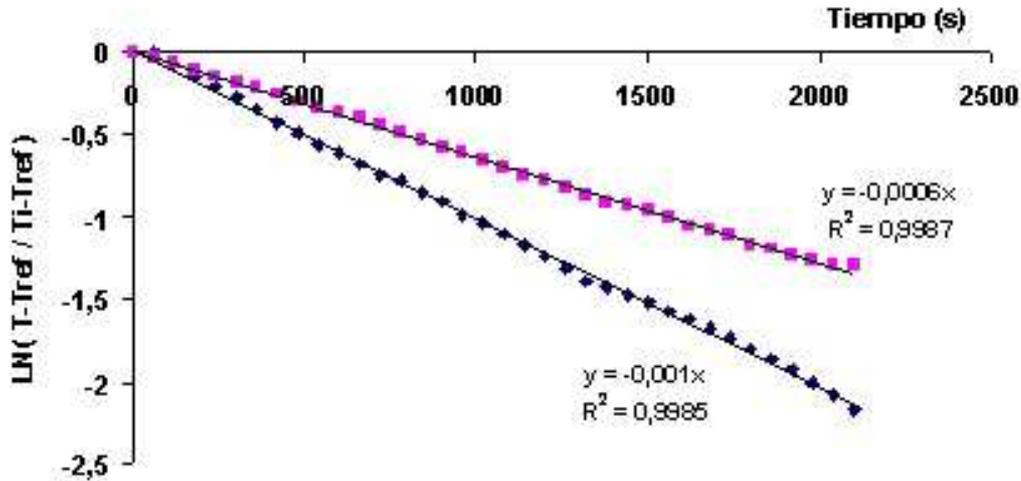


Figura 6.8 Regresión lineal de las curvas de enfriamiento para las esferas de aluminio apoyadas en soporte perforado sin contacto con la placa metálica y rodeadas por el flujo de aire refrigerante. Velocidad del aire 1,56m/s (violeta) y 4,56m/s (Azul). Temperatura del fluido refrigerante (Tf) -40°C.

Habiendo estimado previamente el $h_{placa,aire}$ se lo pudo introducir como dato en el modelo numérico desarrollado para pinzas de cangrejo. De esta manera se calculó el $h_{placa-p}$ (producto-placa) que mejor ajustaba a las historias térmicas de los productos, cuando los mismos se encuentran apoyados sobre la placa conductora en el túnel de congelación utilizado.

6.6. Resultados de la simulación y modelado matemático de la transferencia de energía durante la congelación de pinzas y “pouches”, utilizando un código computacional en elementos finitos (MEF)

La temperatura inicial de congelación medida a través el método de la tangente (Fennema, 1973), la composición química de la carne cocida de cangrejo obtenida experimentalmente y la fracción de agua ligada determinada mediante DSC en base húmeda (xb) fueron incorporadas a las ecuaciones descritas en la Sección 6.3 para la obtención de las propiedades termofísicas versus temperatura que se observan en



la Figura 6.4. Posteriormente se realizó la integración con la temperatura del calor específico volumétrico (calor específico aparente por densidad) y conductividad térmica para la obtención de la Entalpía y función de Kirchhoff (Fig 6.9) a los efectos de ser utilizados en el programa en elementos finitos codificado en el programa Matlab 6.5.

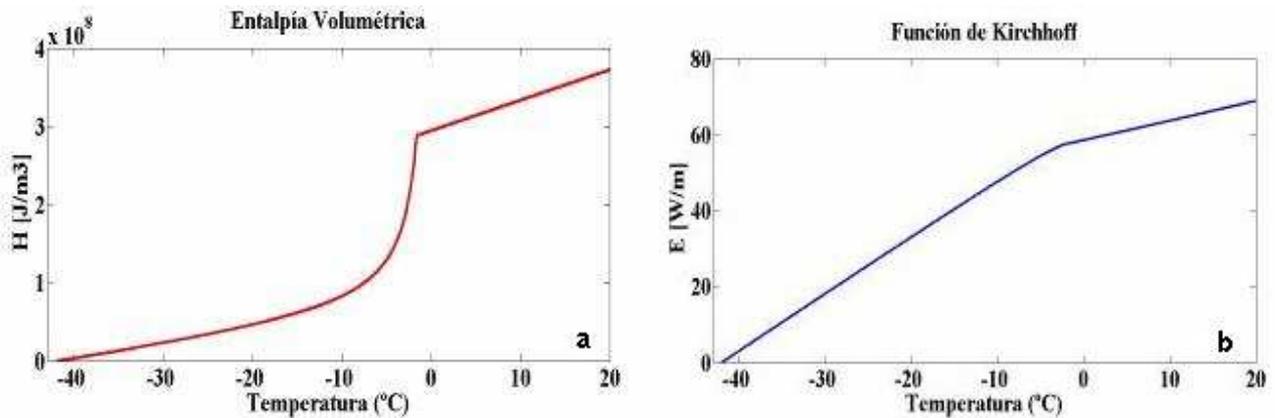


Figura 6.9 a) Entalpía Volumétrica y b) Función de Kirchhoff.

En el caso de los “pouches” se utilizaron coeficientes de transferencia (h'), los valores que mejor ajustaron con el modelo unidimensional fueron h'_{p-a} (producto-aire)=10W/m²K, y $h'_{placa-p}$ (placa-producto)=80W/m²K. En el caso de las pinzas, los coeficientes de transferencia de calor obtenidos para los experimentos en el túnel comercial con distintos objetos metálicos fueron h_{p-aire} =20-30 W/m²K y $h_{placa-p}$ =400-500 W/m²K. Estos valores fueron luego utilizados para simular la congelación de las pinzas, considerando la fracción de superficie apoyada sobre la placa. Los valores que mejor ajustaron a los experimentos fueron h_{p-aire} =20 W/m²K y $h_{placa-p}$ =500 W/m²K.

La Figura 6.10 muestra las curvas de congelación para pouches obtenidas experimentalmente y la obtenida con el modelo numérico desarrollado en Matlab, para una de las experiencias donde las condiciones fueron: temperatura inicial T_i =7°C, temperatura del aire T_{ext} =-40°C, coeficientes globales h'_{p-a} (producto-aire)=10W/m²K y $h'_{placa-p}$ (placa-producto)=80W/m²K. La posición de la termocupla era $0,85 \times 10^{-2}$ m



(Ubicada en el centro del “pouche”).

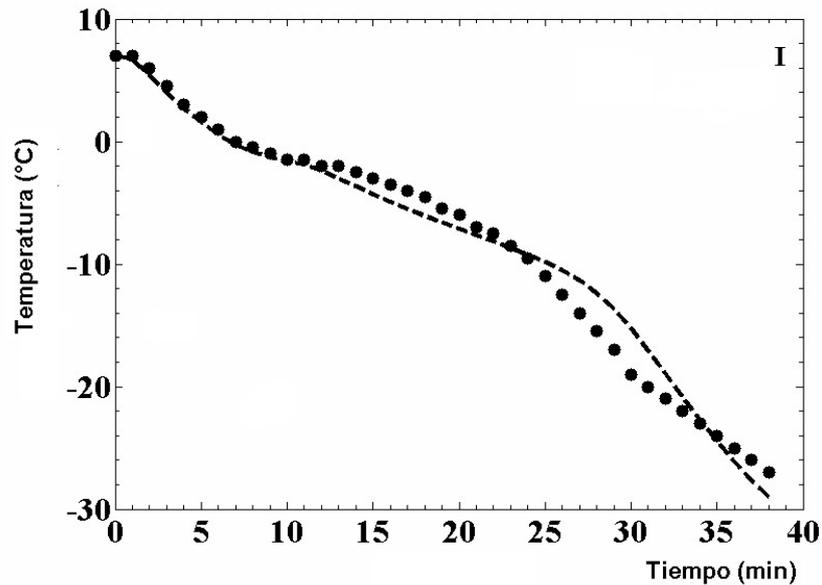


Figura 6.10 Curva de congelación para carne de cangrejo envasada al vacío. Línea de puntos: temperatura experimental. Línea llena: temperatura predicha por el modelo, utilizando la formulación Entálpica y de Kirchhoff.

Las pruebas se realizaron por triplicado, el error estándar de las medias de las temperaturas experimentales se representa por la barra de error que se muestra en la parte superior de la Figura 6.10. La raíz cuadrada del error medio cuadrado (RMSE) fue de $1,5^{\circ}\text{C}$ y la desviación máxima absoluta (DMA) fue de $3,68^{\circ}\text{C}$. Como puede observarse existe una muy buena concordancia entre los valores experimentales y predichos usando el modelo numérico propuesto para la carne envasada.

La Figura 6.11 muestra el ajuste de la curva modelada y experimental para la pinza de cangrejo de *D. patagonicus*. En el caso de la Figura 6.11a, las condiciones de congelación de las pinzas fueron las siguientes: $T_i=8,8^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{ext}}=-40^{\circ}\text{C}$, $h_{\text{p-aire}}=20 \text{ W/m}^2\text{K}$, $h_{\text{placa-p}}=500 \text{ W/m}^2\text{K}$ y la posición de la termocupla $x=0,015\text{m}$, $y=0,010\text{m}$. En la Figura 6.11b, las condiciones de congelación fueron: $T_i=12^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{ext}}=-35,4^{\circ}\text{C}$ y la posición de la termocupla $x=0,018\text{m}$, $y=0,010\text{m}$. Cada ensayo se realizó por triplicado. El error estándar de las medias de las temperaturas experimentales se representa por la barra de error en la parte superior de las Figuras 6.11a,b.

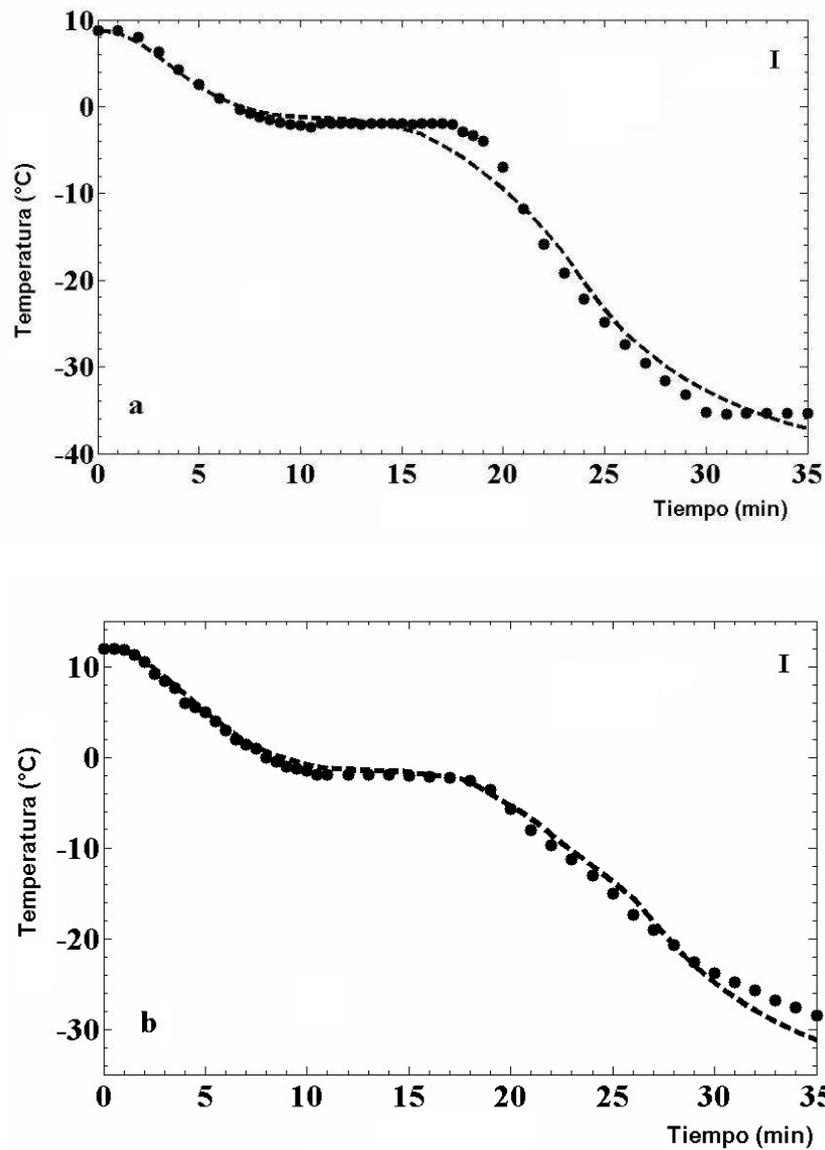


Figura 6.11 Curvas de congelación para pinza de cangrejo cocida de *D. patagonicus*. Línea de puntos: temperatura experimental. Línea llena: temperatura predicha por el modelo utilizando el simulador COMSOL.

Para las curvas mostradas en la Figura 6.11a el RMSE fue de 1,5°C y el DMA de 3,65°C, y para las curvas de la Figura. 6.11b, el RMSE fue de 0,99°C y el DMA de 2,65°C. Como puede observarse, se logró un muy buen ajuste entre el modelo predicho y los valores experimentales a lo largo de todo el proceso de congelación de las pinzas de cangrejo de *D. patagonicus*.



6.6.1. Seguimiento del punto más caliente en las pinzas de *D.patagonicus*

Un parámetro importante cuando se estudia el proceso de congelación, es observar el seguimiento del punto más caliente del alimento, ya que puede ayudar a establecer los tiempos de permanencia mínimos en el túnel y asegurar que el producto ha alcanzado su temperatura de almacenamiento final. Es interesante observar que el punto más caliente en las pinzas de cangrejo no permanece en una posición fija, sino que describe una cierta trayectoria en el interior del producto. Este cambio en la posición se puede atribuir a la forma irregular de la pinza y los diferentes coeficientes de transferencia de calor de superficie en la interfase (producto-aire y placa- producto).

A modo de ejemplo, en la Figura 6.12, se muestran las distribuciones de temperaturas en la pinza de cangrejo *D. patagonicus* a distintos tiempos luego de haber sido introducida en el túnel de congelación. En la misma se observa que el punto más caliente está inicialmente cerca del centro geométrico de la pinza ($x=0,02236$, $y=0,01388$ m) y en el transcurso del tiempo se mueve hacia arriba y hacia la derecha, llegando finalmente a una posición en la superficie calcárea en $x=0,03977$, $y=0,01668$ m (Fig 6.12). El seguimiento del punto mas caliente se observó para el caso de simulación de las pinzas de cangrejo *D. patagonicus*, suponiendo un $h_{p-aire}=20W/m^2K$, una temperatura inicial de la pinzas $T_i=8,8^{\circ}C$, y una temperatura externa de refrigeración $T_{ext}= -20^{\circ}C$.

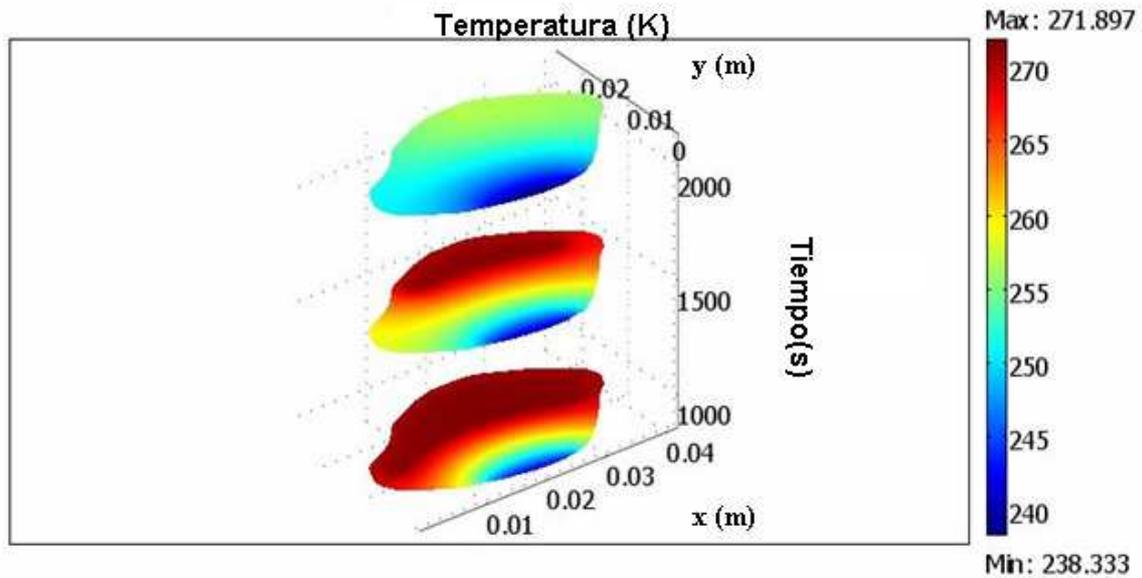


Figura 6.12 Avance del frente frío en todo el dominio simulado a distintos tiempos de congelación de la pinza de cangrejo de *D. patagonicus*.

6.6.2. Efecto de las condiciones operativas en los tiempos de congelación

Una vez validados ambos modelos numéricos, se procedió a su utilización para simular diferentes condiciones operativas variando, temperaturas externas del aire y el coeficiente de transferencia de calor (h) y el coeficiente de transferencia (h') entre el producto y el aire, según corresponda a cada producto, simulando las distintas velocidades del fluido refrigerante. En las Tablas 6.1 y 6.2 se muestran los distintos tiempos de congelación para pouches y pinzas de cangrejo, respectivamente.

Tabla 6.1 Tiempos de congelación para distintos coeficientes globales de transferencia h'_{p-a} (producto-aire) y temperaturas externas (T_{ext}) considerando $T_i=7^\circ\text{C}$ y una temperatura final de -15°C .

Tiempos de congelación (min) para pouches			
Coeficiente de Transferencia h'_{p-a} ($\text{W}/\text{m}^2\text{K}$)			
T_{ext} ($^\circ\text{C}$)	5	10	15
-20	78.0	71.3	65.8
-30	45.8	41.8	38.6
-40	32.6	29.8	27.6



Tabla 6.2 Tiempos de congelación para distintos coeficientes de transferencia h_{p-a} (producto-aire) y temperaturas externas (T_{ext}) considerando $T_i=8,8^{\circ}\text{C}$ y una temperatura final de -15°C .

Tiempos de congelación (min) para pinzas				
Coeficiente de Transferencia h_{p-a} ($\text{W}/\text{m}^2\text{K}$)				
T_{ext} ($^{\circ}\text{C}$)	5	10	15	20
-20	42	39	36	34
-30	40	36	33	30
-40	38	33	29	27

En el caso de los “pouches” (Tabla 6.1), se calcularon los tiempos para que el punto $x=0,85\text{cm}$ (Fig 6.6) alcance una temperatura final de -15°C , siendo la temperatura inicial del producto de 7°C y considerando distintos valores de temperatura externa del aire refrigerante y coeficientes de transferencia (h') correspondientes a la superficie producto-aire. En el caso de pinzas (Tabla 6.2), se calcularon los tiempos para que el punto $x=0,022\text{m}$ $y=0,017\text{m}$ (Fig 6.5) alcance una temperatura final de -15°C , siendo la temperatura inicial del alimento de $8,8^{\circ}\text{C}$ y considerando distintos valores de temperatura externa del aire refrigerante y de coeficientes de transferencia (h) correspondientes a la superficie producto-aire. A partir de esta información obtenida se puede observar el efecto del coeficiente de transferencia h y de la temperatura externa del aire refrigerante en los tiempos de congelación. Utilizando los programas en elementos finitos se puede determinar si el equipo tiene la capacidad suficiente para alcanzar las temperaturas finales de conservación. Por ejemplo, en el caso del túnel de congelación utilizado en el presente trabajo, dado que el tiempo máximo de residencia es de 40 minutos, es posible concluir que es necesario utilizar una combinación adecuada de velocidad del ventilador (reflejado en los valores de h y h') y temperaturas externas (T_{ext}) de tal manera que el tiempo de proceso no supere el tiempo de residencia en el equipo (40min).



Por otro lado, basándose en los datos mostrados en las Tablas (6.1) y (6.2) y utilizando el software SYSTAT 12, se obtuvieron regresiones del tipo polinómicas para los pouches y las pinzas de cangrejo con el fin de predecir los tiempos de congelación (t_{Co}) necesarios para alcanzar -15°C en los puntos más calientes. El tiempo de congelación resulta una función de la temperatura externa del aire refrigerante en el túnel (T_{ext} , $^{\circ}\text{C}$) y el coeficiente de transferencia de calor aire-producto h_{p-aire} ($\text{W}/\text{m}^2\text{K}$). Las ecuaciones 6.28 y 6.29 muestran las ecuaciones polinómicas ajustadas a “pouches” (Ec. 6.28) y pinzas de cangrejo (Ec. 6.29) y su correspondiente R^2 .

“Pouches” ($-40^{\circ}\text{C} \leq T_{ext} \leq -20^{\circ}\text{C}$ y $5 \leq h'_{p-aire} \leq 15\text{W}/\text{m}^2\text{K}$)

$$t_{Co}(\text{min})=202,6 +7,715(T_{ext}) -1,89333(h'_{p-a}) +0,08783(T_{ext}^2)(h'_{p-a}) -0,036(h'_{p-a})(T_{ext})$$
$$R^2= 0.99982 \quad (6.28)$$

Pinzas *D. patagonicus* ($-40^{\circ}\text{C} \leq T_{ext} \leq -20^{\circ}\text{C}$ y $5 \leq h'_{p-aire} \leq 15\text{W}/\text{m}^2\text{K}$)

$$t_{Co}(\text{min})=46,3469+0,04783(T_{ext})-0.01385(h_{p-a}^2)+0,03541(T_{ext})(h_{p-a})-0,00102(h_{p-a}^2)(T_{ext})$$
$$R^2=0,99925 \quad (6.29)$$

Se observó un muy buena concordancia entre los tiempos de congelación estimados por el método de los elementos finitos y los estimados por las ecuaciones polinómicas (Ecs. 6.28 y 6.29). Estas ecuaciones polinómicas constituyen herramientas simples que pueden ser utilizadas industrialmente para evaluar los efectos de la temperatura y del coeficiente h externo para la determinación de los tiempos de congelación.

6.7. Observación histológica de cristales de hielo

6.7.1. Materiales y métodos

La velocidad de congelación influye sobre el tamaño y forma de los cristales de hielo, que influyen al mismo tiempo sobre la calidad del producto (Zaritzky, 1997, 2010; Kolbe y Kramer, 2007). Se realizaron cortes histológicos de las pinzas y carne envasada,



sometidas a diferentes condiciones operativas en el túnel de congelado (velocidad del aire frío de 4,16m/s a 1,56m/s y temperaturas de refrigeración de -40°C a -27°C), para observar los efectos en el tamaño y forma de los cristales de hielo en los productos. Inmediatamente después de finalizada la congelación, se realizaron cortes histológicos de las muestras congeladas. La toma de muestra se realizó dentro de una cámara de congelación a -22°C para mantener las muestras en estado congelado durante el corte y la fijación. Los cortes se fijaron en Fijador de Carnoy (según lo descrito en el Capítulo 2) y se almacenaron durante 5 días a -22°C. Una vez transcurrido ese tiempo, se retiraron de la cámara y se procedió a la obtención de los cortes según la técnica histológica descrita en el Capítulo 2 para músculo fresco. El corte se observó por microscopía óptica en un Microscopio Leica DMLB con cámara fotográfica incorporada y programa de adquisición de imágenes Leica DC 100 Versión 2.51. Por medio de las imágenes obtenidas se determinó el tamaño de los cristales de hielo.

6.7.2. Resultados de la observación histológica de cristales de hielo

En la Figura 6.13 se muestran dos cortes histológicos de la carne de pinzas de *D. patagonicus*, congeladas a una velocidad del aire frío de 4,16m/s a -40°C y de 3,64m/s a -27°C. Las mismas corresponden a tiempos locales de congelación (t_c) de 11min y 29min respectivamente. En la Figura 6.13a ($t_c=11$ min) se visualizan pequeños cristales de hielo intracelulares de tamaño relativamente homogéneo, con un diámetro equivalente de $15\mu\text{m} \pm 2\mu\text{m}$, mientras que en la Figura 6.13b ($t_c=29$ min) se aprecia un tejido más desgarrado con cristales de diferentes tamaños y formas, con un diámetro equivalente de los cristales de hielo de $60\mu\text{m} \pm 4\mu\text{m}$. Como se puede observar las velocidades de congelación tienen una influencia notoria en el tamaño de los cristales de hielo de la carne de cangrejo congelada, ya que afectan la microestructura del tejido de la carne. Como se describió en la Sección 6.2 del presente Capítulo, cuanto más lenta es la congelación (mayor t_c) más irregular será la formación de cristales. En este caso, los mismos crecen en los espacios intracelulares deformando las paredes



de las células con las que entran en contacto, como consecuencia de ello, durante la descongelación, las células son incapaces de recuperar su forma y turgencia originales, por lo cual el alimento se reblandece y los fluidos celulares se pierden por exudado (Zaritzky, 1997).

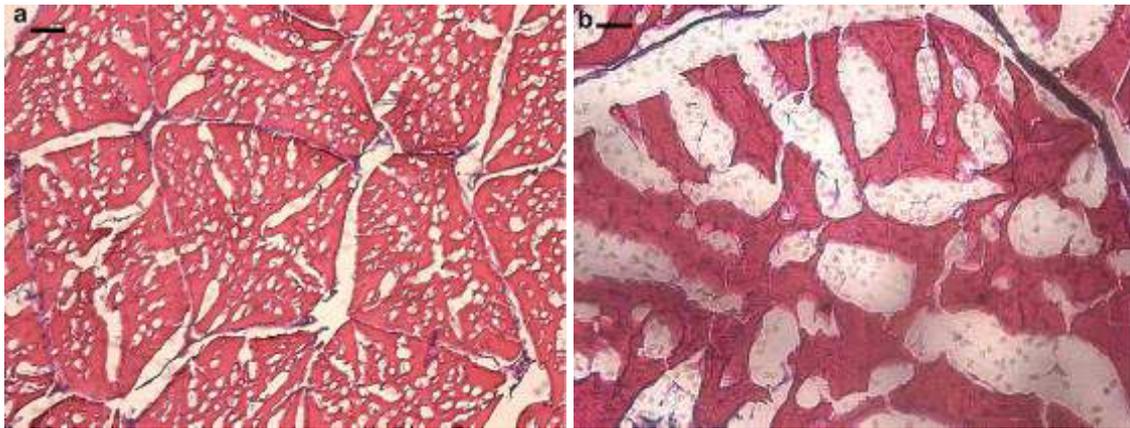


Figura 6.13 Micrografías de cortes histológicos de pinzas congeladas de *D. patagonicus*, a) velocidad del aire frío de 4,16m/s a -40°C y b) velocidad del aire frío de 3,64m/s a -27°C. Escala: a) 100µm y b) 50µm.

6.8. Parámetros de calidad de los productos congelados almacenados a -22°C

6.8.1. Materiales y métodos

Las pinzas de *D. patagonicus* y *O. trimaculatus* fueron congeladas durante 35min en un túnel continuo según lo descrito en la Sección 6.1 a una temperatura del fluido externo de -40°C y una velocidad del aire refrigerante de 4,16m/s, alcanzando una temperatura en el centro de la pieza de -30°C, aproximadamente. La carne de cangrejo envasada al vacío por 250g se congeló de la misma manera alcanzando una temperatura final de -23°C, aproximadamente. Por otro lado, y bajo las mismas condiciones, se congeló carne de cangrejo envasada por 250g en envases flexibles de polietileno de 90µm de espesor, utilizados para productos marinos, pero no aptos para vacío, y se las consideró como muestras de referencia (control). Los productos, pinzas de cangrejo de OT y DP, carne envasada al vacío y el control (bolsas plásticas sin vacío), todos congelados bajo las mismas condiciones operativas, fueron almacenados



en una cámara frigorífica a temperatura constante de -22°C , temperatura mínima recomendada por el Código Alimentario Argentino (1969) y el SENASA (Cap. XXIII) para el almacenamiento de productos marinos.

Los análisis de calidad se realizaron mensualmente durante 11 meses. Para la realización de estos análisis se aplicó la misma metodología para los 4 productos. La muestra se extrajo del congelador y se colocó en una heladera a 4°C , dejándose descongelar en esas condiciones durante 12h. Las muestras a analizar fueron previamente pesadas antes de la descongelación. En el caso de la carne envasada, la misma fue extraída de su envase y colocada en bandejas cubiertas con papel absorbente. En el caso de las pinzas se colocaron directamente en las bandejas con el papel absorbente. Una vez descongeladas las muestras, se procedió a realizar los análisis de calidad correspondientes.

6.8.2. Pérdida por exudado

6.8.2.1. Método de medición

La pérdida de peso por exudado se calculó como la diferencia entre el peso inicial: peso antes de la descongelación (P_c) y el peso final: peso descongelado (P_d), es decir transcurridas las 12h. El porcentaje de exudado se expresó como $(P_d/P_c \times 100)$.

6.8.2.2. Resultados de la pérdida por exudado

En la mayoría de los casos, el aumento del exudado por descongelación está relacionado con la desnaturalización de las proteínas miofibrilares, daño celular, menor solubilidad y agregación de las proteínas que tiene lugar durante la congelación y descongelación del alimento (Einen y col. 2002). La Figura 6.14 muestra los valores mensuales de la pérdida por exudado para los cuatro productos. En las mismas se observa un incremento progresivo con el tiempo de almacenamiento. En pinzas la merma es baja, incrementándose los valores desde 1,7% al 3% hacia el último mes de



almacenamiento. Los mismos representan valores aceptables de pérdida por exudado durante la descongelación.

Para la carne envasada, la merma es significativamente mayor que en las pinzas (ANOVA, $P < 0,05$). Una de las razones puede deberse a la presencia de agua en las bolsas que se acumula durante el envasado, ya que el mismo se realiza posteriormente a la cocción, estando el tejido completamente hidratado. Este fenómeno fue observado por Kivançli Jiménez Martínez (2007) para langostino pasteurizado y envasado al vacío. Además la carne en trozos tiene una gran superficie expuesta, lo que produce una mayor deshidratación durante la congelación y descongelación. A partir del noveno mes de almacenamiento, el control presentó valores de exudado significativamente mayores que la carne envasada al vacío (ANOVA $P < 0,05$). En ambos casos (control y vacío) la pérdida del peso se mantuvo en niveles menores al 14%, porcentajes altos, pero inferiores a los observados por Murakami (1994) y Kivançli Jiménez Martínez (2007) para carne de crustáceos envasada.

6.8.3. Índice de oxidación lipídica (TBA)

6.8.3.1. Método de medición

Para la determinación del índice de oxidación lipídica, se utilizó la técnica del ácido tiobarbitúrico (TBA) descrita en la Sección 4.9 del Capítulo 4.

6.8.3.2. Resultados de la medición de TBA

La Figura 6.15 muestra los valores de TBA, parámetro relacionado a la oxidación de los lípidos. Los valores de TBA aumentaron en forma gradual durante los 11 meses de análisis para las pinzas y los productos envasados. Los 4 productos presentaron valores bajos de rancidez oxidativa. En el caso de las pinzas, la carne se encuentra protegida por una capa calcárea que las envuelve.

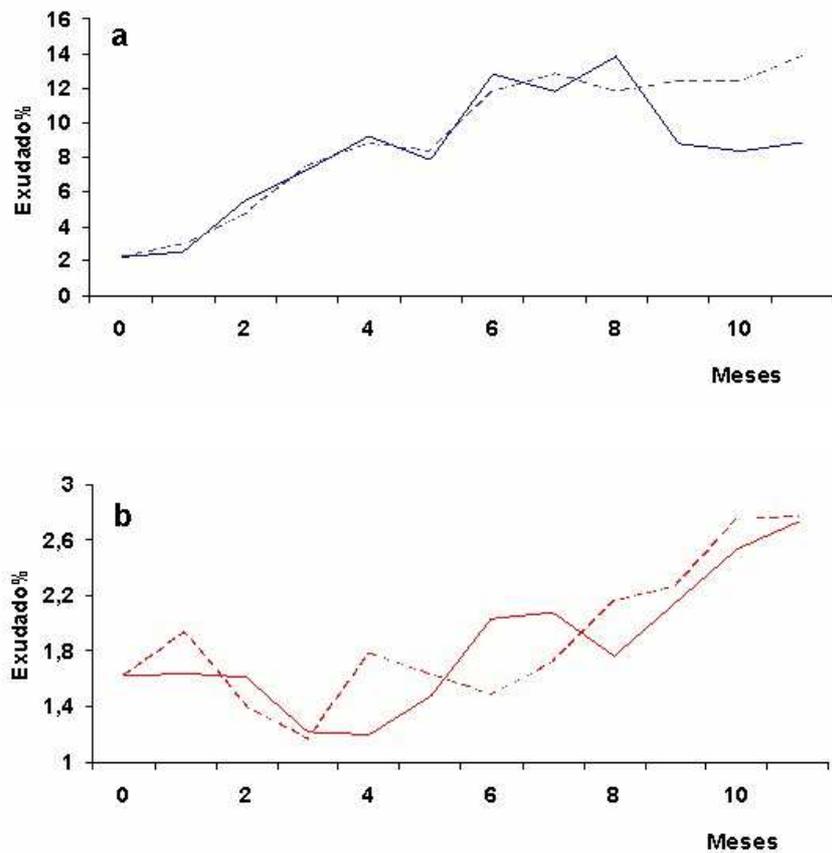


Figura 6.14 Pérdida de peso por exudado de muestras almacenadas a -22°C . a) Carne envasada al vacío (línea llena); Control (línea punteada). b) Pinzas de DP (línea llena); Pinzas de OT (línea punteada).

En la carne envasada al vacío, dada la baja permeabilidad al oxígeno ($60\text{cm}^3/\text{m}^2/\text{día}$) de la película plástica (polietileno/poliamida), el envase funciona como barrera protectora al oxígeno, manteniendo valores estables durante los meses de almacenamiento. Para el envase control, si bien los valores de TBARs fueron bajos, se observan mayores valores que la carne envasada al vacío. Este producto (control) posee la menor protección al oxígeno. Benjakul y Bauer (2001) reportaron que la oxidación de lípidos puede ser inducida durante el almacenamiento de la carne de pescado, debido a que los cristales de hielo formados durante el proceso de congelación podrían alterar las células y producir la liberación de compuestos prooxidantes como el hierro. Benjakul y Sutthipan (2009) reportaron un incremento de



TBARs a partir del cuarto mes de almacenamiento de pinzas congeladas del cangrejo *Scylla serrata*. Este incremento no fue observado para las pinzas de OT y DP estudiadas en el presente trabajo.

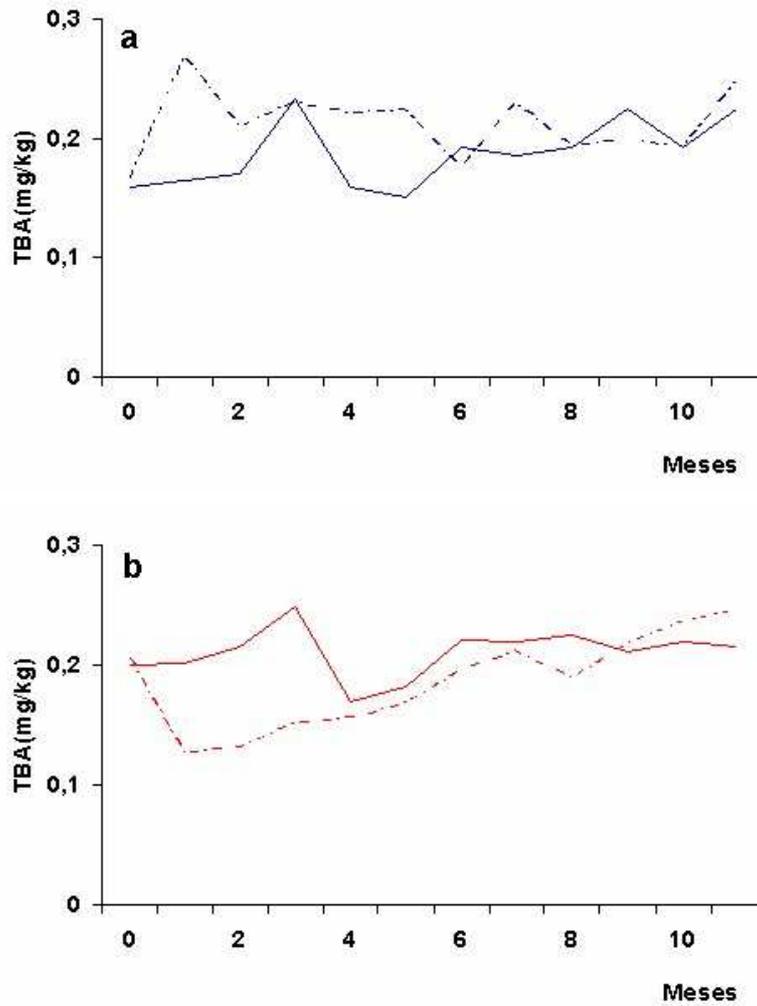


Figura 6.15 Valores de TBA mensuales de muestras almacenadas a -22°C. a) Carne envasada al vacío (línea llena); Control (línea punteada). b) Pinzas de DP (línea llena); Pinzas de OT (línea punteada).



6.8.4. Determinación de humedad

6.8.4.1. Métodos de medición

El contenido de humedad se determinó mediante el secado de la muestra en estufa a 100°C hasta alcanzar un peso seco constante (AOAC, 1990), según lo descrito en el Capítulo 2.

6.8.4.2. Resultados de humedad

La Figura 6.16 representa los valores de humedad porcentual de los 4 productos almacenados. En general, para los 4 productos, el contenido de humedad osciló entre un 75% y 81%. Estos valores guardan correlación con los datos reportados para exudado, donde los valores aumentaron con el tiempo de almacenamiento. Dicho aumento se atribuye principalmente a la disminución de la capacidad de las proteínas de retener agua (Edwards y Early, 1976). En el caso de los productos envasados (Fig 6.15a), la cantidad de agua de la muestra control fue mayor y más fluctuante que la muestra envasada al vacío, la cual se mantuvo estable durante los meses de almacenamiento; esto se correlaciona con lo encontrado para la pérdida de agua (exudado), donde el control presentó valores de exudado mayores que la carne envasada al vacío.

6.8.5. Medición de pH

6.8.5.1. Materiales y métodos

Se pesaron y mezclaron 5g de muestra con 25ml de agua destilada, con agitación continua durante 5 minutos. El pH se midió mediante un pHmetro (Hanna instrument) previamente calibrado con dos buffers (pH=4 y pH=7).

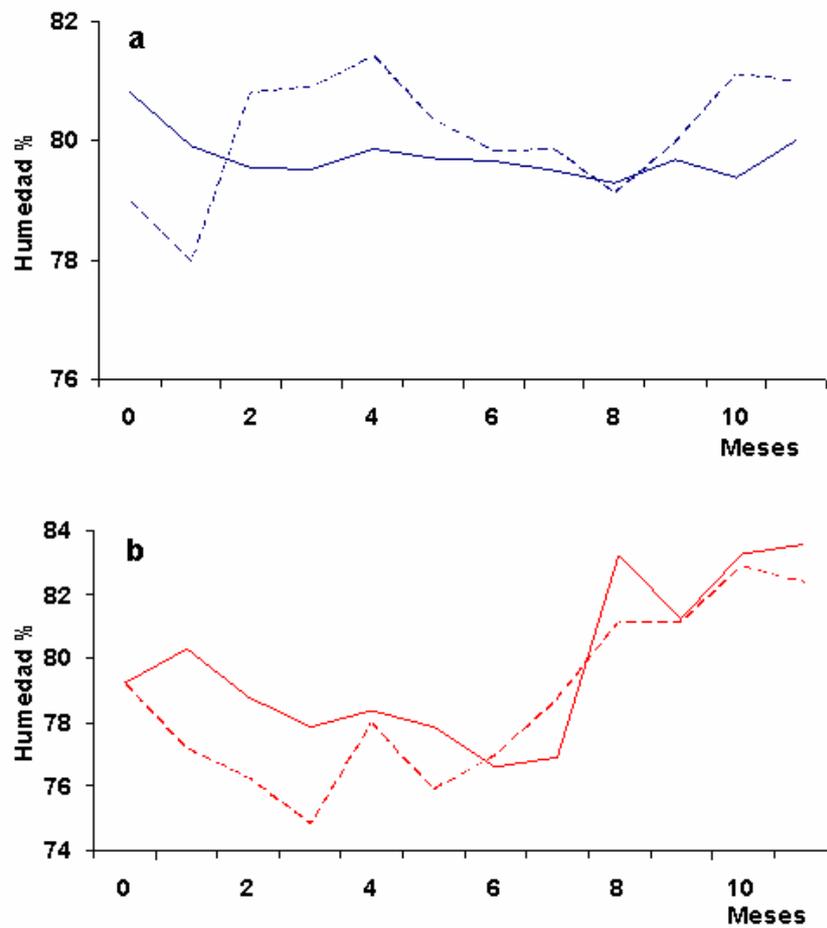


Figura 6.16 Valores de humedad de muestras almacenadas a -22°C . a) Carne envasada al vacío (línea llena); control (línea punteada). b) Pinzas de DP (línea llena); Pinzas de OT (línea punteada).

6.8.5.2. Resultados del pH

La Figura 6.17 muestra los valores de pH para los 4 productos. Los 4 productos presentaron un incremento gradual del pH con el transcurso de los meses; siendo la oscilación más marcada en las pinzas de ambas especies, donde se alcanzan valores límites permitidos de pH en el último mes de almacenamiento ($\text{pH}=7,7$). Un comportamiento similar fue reportado por Procópio de Moura y col. (2003) para camarón rosa, quienes informaron un valor máximo de pH de 8,1 durante su almacenamiento. Este aumento del pH puede deberse a la descomposición de compuestos nitrogenados, como el óxido de trimetilamina (OTMA) o aminoácidos



libres que le otorgan un carácter básico a la carne (Benjakul y Sutthipan, 2009; Quiral-Robles y col 2003). Un comportamiento similar fue reportado por Ampuero y López Salinas (2005) para el salmón Coho (*Oncorhynchus Kisutch*) almacenado a -20°C durante un año. Para los productos envasados el valor de pH se incrementó levemente durante el almacenamiento; la diferencia entre el valor máximo y mínimo solo implicó una variación de 0,30 unidades. A diferencia de las pinzas, los productos envasados se encontraron dentro de valores de pH aceptados por diferentes legislaciones vigentes (Código Alimentario de Chile 1998; European Comisión, 2005; Normas COVENIN de Venezuela).

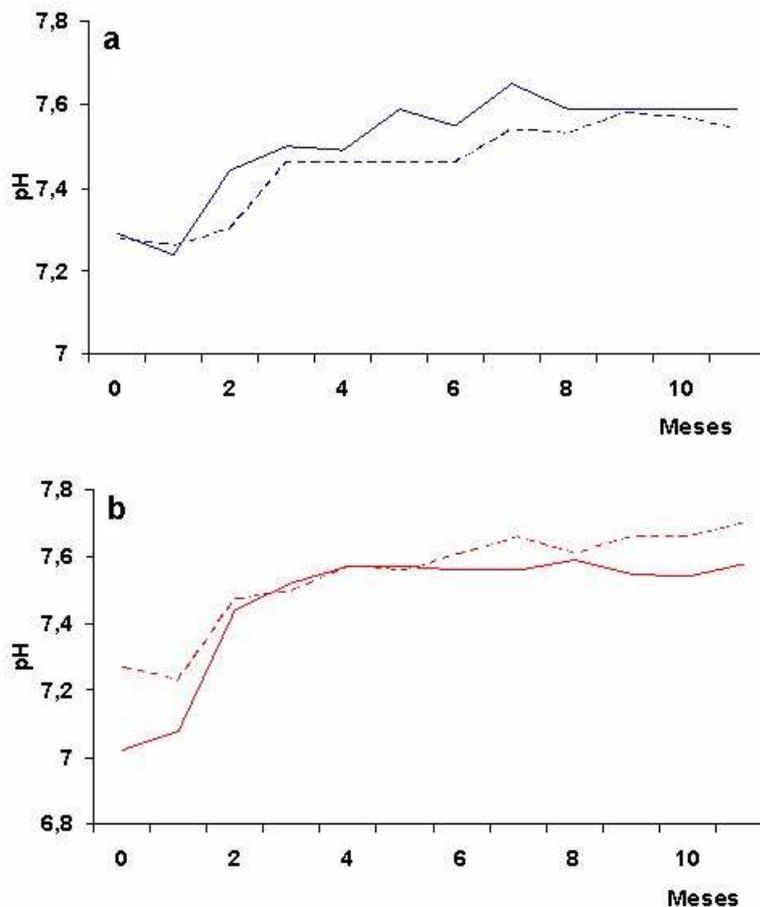


Figura 6.17 Valores de pH de muestras almacenadas a -22°C . a) Carne envasada al vacío (línea llena); Control (línea punteada). b) Pinzas de DP (línea llena); Pinzas de OT (línea punteada).



6.8.6. Capacidad de retención de agua (CRA)

6.8.6.1. Método de medición

La capacidad de retención de agua (CRA) se determinó y calculó según lo explicado en la Sección 2.6 del Capítulo 2.

6.8.6.2. Resultados de la capacidad de retención de agua (CRA)

La Figura 6.18 muestra los valores de CRA para los 4 productos. Los mismos presentan una marcada disminución de este parámetro en el tiempo, observándose diferencias significativas entre los primeros y los últimos meses de almacenamiento (ANOVA, $P < 0,05$). En las pinzas esta disminución es menor que en los productos envasados, manteniéndose dentro de valores razonables de CRA, dichos valores guardan una correlación con los datos de pérdida por exudado. En el caso de la carne envasada, la pérdida de CRA es gradual y más marcada, la misma se correlaciona también con los mayores valores de exudado que se produce en la descongelación de los productos envasados. La disminución de CRA fue significativamente mayor en las muestras control (ANOVA, $P < 0,05$), produciéndose una caída del 89% al 64%. Como se mencionó anteriormente, la disminución de la capacidad de retención de agua durante la congelación y descongelación es consistente con el aumento del exudado debido al daño celular y la agregación de las proteínas que tiene lugar durante la congelación y descongelación del alimento (Einen y col. 2002). Hay que tener en cuenta que los productos envasados pasan por 2 calentamientos previos, lo que debilita la capacidad de las proteínas de retener agua. La determinación de la pérdida de agua en productos de mar congelados indica una proporción de la proteína desnaturizada durante el almacenamiento congelado. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ampuero y López Salinas (2005) para el salmón Coho (*Oncorhynchus Kisutch*), quienes encontraron que la congelación y el almacenamiento congelado causan desnaturización y agregación de las proteínas del pescado, así



como la ruptura de las células musculares, cuya principal consecuencia es un descenso en la CRA que se manifiesta después de la descongelación.

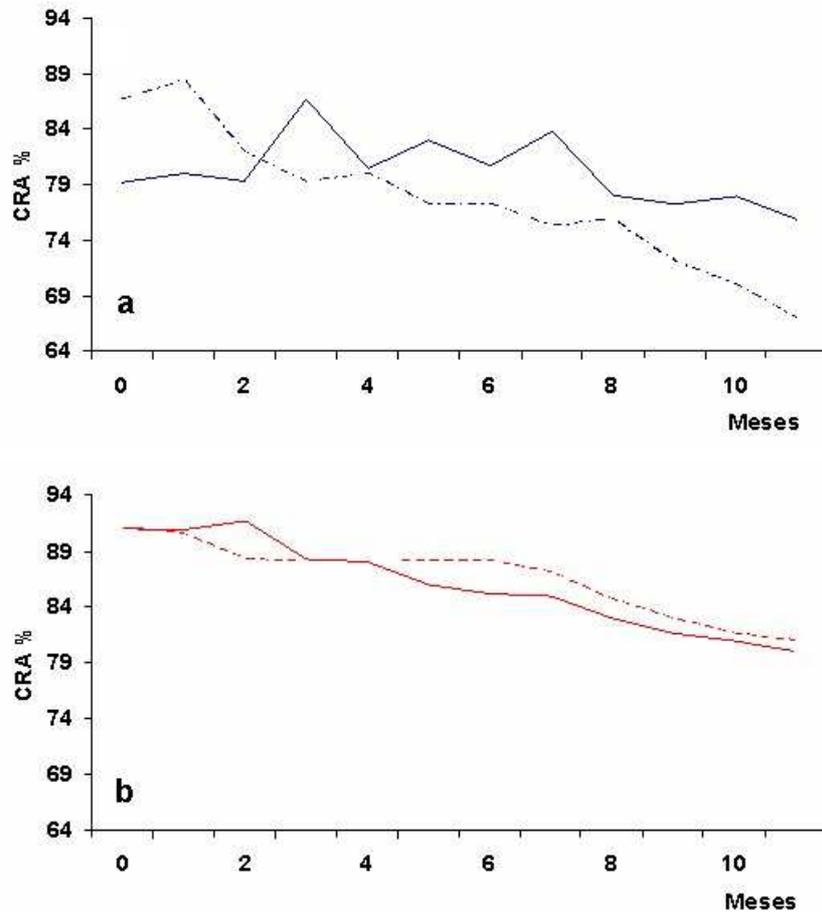


Figura 6.18 Valores de CRA de muestras almacenadas a -22°C . a) Carne envasada al vacío (línea llena); Control (línea punteada). b) Pinzas de DP (línea llena); Pinzas de OT (línea punteada).

6.8.7. Color instrumental (Y, xy)

6.8.7.1. Materiales y métodos

Se determinó el color (Y, xy) utilizando un colorímetro Minolta CR14 (Osaka, Japón). Los datos se transforman en L^* , a^* , b^* (Hunter, escala de laboratorio). Luego se compararon los valores de L^* , a^* , b^* según la ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (6.30)$$



6.8.7.2. Resultados del cálculo de color instrumental (Y, xy)

La Figura 6.19 muestra los valores de color en función del parámetro ΔE , para los 4 productos. El color es uno de los parámetros de calidad que se ve afectado por el almacenamiento (Gate y col. 1993; Ampuero y López Salinas, 2005). Existen factores que incrementan la pérdida de color, como la exposición de los productos a la luz, la temperatura de almacenamiento y la presencia oxígeno. La luz inicia la degradación de los carotenoides, la cual es incrementada por la presencia de oxígeno (No y Storebakken, 1991). Para los 4 productos el color varió significativamente con el tiempo (ANOVA, $P < 0,05$). Esta variación se debe principalmente al calentamiento previo que sufre la carne de cangrejo antes de la congelación y que se traduce luego en una decoloración durante el almacenamiento (Boon, 1975; Gates y col. 1993). Este fenómeno se denomina comercialmente “blueing” (decoloración hacia el azul) y es atribuido a las altas temperaturas y tiempos prolongados de exposición de la carne del cangrejo al calor (Boon, 1975; Gates y col. 1993), en complemento a la presencia de iones hierro y cobre en el músculo. Esto representa un inconveniente para la industria, por lo que se sugiere el menor tiempo posible de exposición al calentamiento.

Uno de los factores principales de la decoloración, como se mencionó anteriormente, es la presencia de oxígeno. En la Figura 6.19a las muestras control (barras rojas) presentan un mayor cambio de color con respecto a las muestras envasadas al vacío (barras azules). Asimismo, en la Tabla 6.3 se observa que existe una mayor pérdida de luminosidad y un mayor viraje hacia el azul (efecto “blueing”). Esta diferencia entre las muestras control, envasadas en películas permeables al oxígeno y las muestras envasadas al vacío se debe probablemente a las mejores propiedades de barrera de este último, que permite mantener mejor el color a lo largo del almacenamiento. En la Figura 6.19b, para las pinzas de *O. trimaculatus* (barras violetas) se observa un incremento gradual del color durante los meses de almacenamiento. Por el contrario, para pinzas de *D. patagonicus* (barras verdes), los valores se mantienen relativamente



estables, salvo durante los primeros meses de almacenamiento donde el ΔE es menor. El valor b^* es significativamente más alto en pinzas de DP que OT (ANOVA, $p < 0,05$). Esta diferencia en este parámetro en particular, puede deberse posiblemente, al mayor tiempo de calentamiento al que son sometidas las pinzas de *D. patagonicus*.

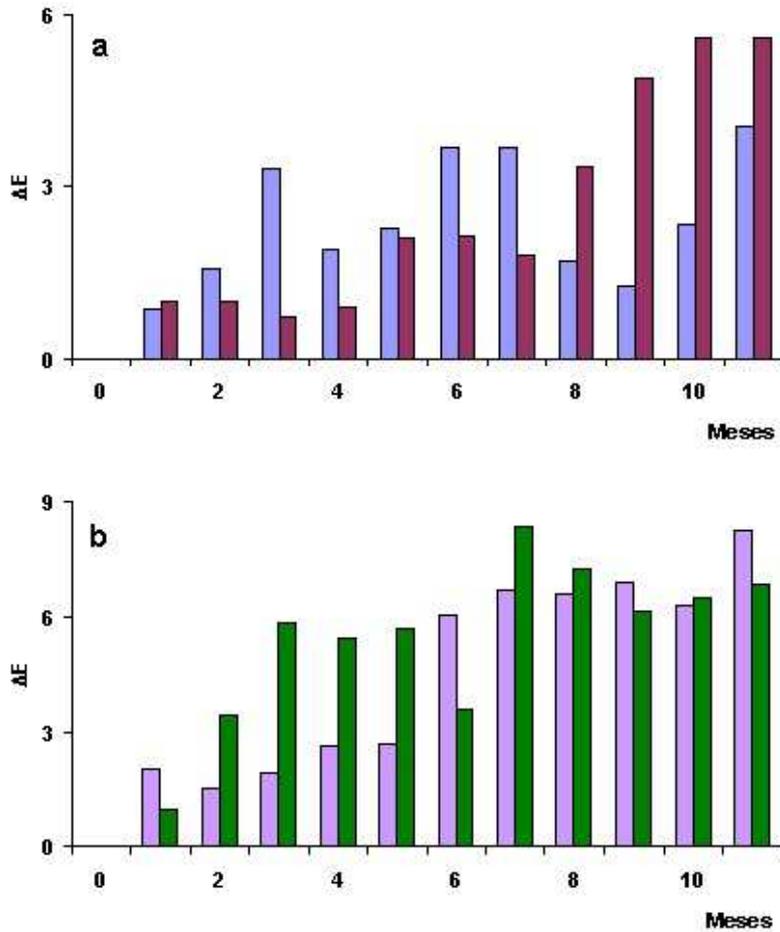


Figura 6.19 Valores de ΔE mensuales de muestras almacenadas a -22°C . a) Carne envasada al vacío (Azul); Control (Rojo). b) Pinzas de DP (Verde); Pinzas de OT (Violeta).

En la Tabla 6.3 se muestra la variación de los parámetros triestimulo, L^* (Luminosidad), a^* (+ rojo, -verde), b^* (+ amarillo, -azul). Como se puede observar en los últimos meses los valores de L^* disminuyen y los valores de b^* aumentan, por lo cual la carne se torna mas opaca y amarillenta.



Tabla 6.3 Valores mensuales de L*, a* y b* para los diferentes productos a base de carne de cangrejo, almacenados a -22°C.

Carne de cangrejo envasada pasteurizada y congelada

Meses	Vacío			Control		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	73,71	-7,41	8,43	72,04	-6,98	8,93
1	73,18	-7,18	7,78	73,48	-7,54	7,45
2	73,57	-7,85	6,93	72,83	-6,85	9,54
3	75,67	-8,19	5,88	72,18	-6,87	9,63
4	73,24	-6,36	9,96	71,90	-7,77	8,56
5	75,98	-7,45	8,34	72,77	-7,84	7,18
6	71,26	-6,68	8,24	72,08	-7,86	8,45
7	71,26	-6,68	7,67	71,94	-7,71	7,31
8	72,07	-7,10	7,95	69,53	-6,32	7,53
9	72,71	-7,40	7,53	67,99	-6,32	7,53
10	71,89	-6,03	8,06	66,63	-6,48	11,01
11	67,80	-6,48	10,56	66,63	-6,48	11,56

Pinzas de cangrejo cocidas y congeladas

Meses	Pinzas (OT)			Pinzas (DP)		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
0	72,11	-7,28	4,49	70,85	-6,54	7,39
1	71,62	-7,56	2,57	69,86	-6,48	7,31
2	70,78	-7,38	3,76	68,04	-8,27	6,47
3	71,55	-7,13	2,67	65,35	-6,31	9,05
4	70,36	-7,69	2,59	65,80	-5,56	9,23
5	70,36	-7,80	2,52	65,50	-6,09	9,30
6	67,60	-7,72	2,50	64,96	-6,58	7,37
7	67,01	-7,60	3,21	67,60	-7,92	6,70
8	67,23	-7,60	3,07	64,03	-6,21	5,22
9	66,26	-6,87	3,80	65,19	-6,89	5,56
10	65,95	-8,02	3,44	64,58	-7,83	8,50
11	65,80	-8,01	4,17	64,19	-7,28	8,98



6.8.8. Evaluación de parámetros sensoriales

6.8.8.1. Materiales y métodos

El análisis sensorial se realizó en el laboratorio de bioquímica de Centro Nacional Patagónico (CENPAT-CONICET) sobre un total de 31 personas mayores de 25 años y consumidoras de pescados y mariscos. Cada persona debía evaluar la aceptabilidad de diferentes parámetros sensoriales para una muestra envasada al vacío contra una muestra control (sin vacío). El puntaje se realizó utilizando una escala hedónica del 1 al 9 correspondiente a: me gusta extremadamente, me gusta mucho, me gusta moderadamente, me gusta ligeramente, no me gusta ni me disgusta, me gusta ligeramente, me disgusta moderadamente, me disgusta mucho, me disgusta extremadamente; la escala utilizada se observa en la Figura 6.20. Dicha escala es ampliamente utilizada para ensayos de aceptabilidad de consumidores debido a su simplicidad (Hough, 2010). Las muestras fueron codificadas con un número y colocadas sobre la mesada al azar. Cada panelista contó con un amplio espacio de manera de estar cómodo durante la degustación. La degustación fue individual. Para dicha evaluación cada persona contaba con: dos recipientes de vidrio numerados donde uno poseía la muestra control y el otro la muestra envasada al vacío, un vaso con agua, una cuchara y un cuchillo descartable. Los ensayos se realizaron cada dos meses, con el fin de observar si había diferencias significativas entre los métodos de envasado y si estas diferencias variaban con el tiempo. Para evaluar la significación de la aceptabilidad del producto se realizó un Test de Student por cada atributo evaluado por los consumidores. El ensayo fue a dos colas dado que se desconoce la inclinación del consumidor. En este caso, como se evaluaron 4 atributos, se realizaron 4 Test de Student en forma independiente. El nivel de significación utilizado fue de 0,05. Los cálculos se realizaron en el programa Excel 2007.



Consumidor N°....									
Nombre.....					Edad.....				
Utilizando la siguiente escala, por favor evalúe la aceptabilidad de cada atributo.									
	Disgusta								Gusta
Color	<input type="checkbox"/>								
Olor	<input type="checkbox"/>								
Sabor	<input type="checkbox"/>								
Textura	<input type="checkbox"/>								

Figura 6.20 Escala hedónica utilizada por los consumidores para evaluar la aceptabilidad de cada atributo sensorial de la carne envasada de cangrejo y de la muestra control.

6.8.8.2. Resultados de la evaluación de parámetros sensoriales

La Figura 6.21 muestra los valores promedio obtenidos para cada atributo de calidad evaluado. Para todos ellos, en ambas muestras (control y vacío), los valores se mantuvieron por encima de los seis puntos sobre una escala de nueve, siendo valores aceptables de calidad. No se encontraron diferencias significativas entre métodos de envasado hasta el noveno mes de almacenamiento inclusive ($T_{exp} < T_{critico}$); sin embargo, en el último mes, las diferencias sí fueron significativas ($T_{exp} > T_{critico}$) para los 4 atributos de calidad evaluados.

En las muestras control se observó una disminución del puntaje en todos los parámetros analizados, mientras que para las muestras envasadas al vacío los valores se mantuvieron relativamente estables a lo largo de los meses. El olor y el sabor fueron los parámetros que presentaron un menor puntaje a lo largo del almacenamiento congelado. Debe tenerse en cuenta que el olor de la carne del cangrejo es mucho más intensa que en los demás productos de la pesca (Cifuentes y Quiñinao, 2000), debido a la presencia de mayor concentración de compuestos amoniacales y sulfurados que le otorgan un olor característico a la carne, la cual es



desconocida por el consumidor de nuestra región. El olor y la percepción del sabor están íntimamente relacionados, por lo que la evaluación de uno pudo incidir sobre el puntaje del otro.

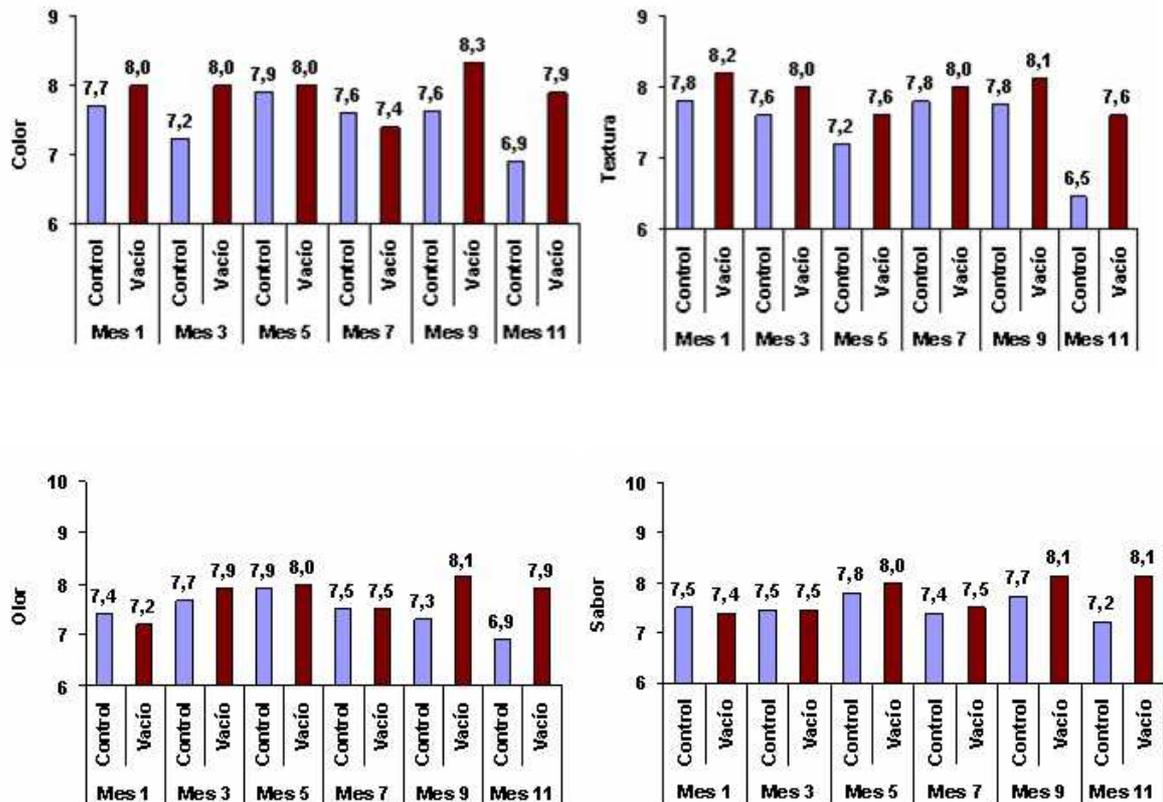


Figura 6.21 Valores de los puntajes promedios bimensuales obtenidos para cada atributo evaluado.

En la Figura 6.22 se puede observar la variación mensual del puntaje promedio de todos los atributos. La carne envasada al vacío (línea llena) se mantuvo constante a lo largo de los meses, mientras que el control (línea punteada) presentó un descenso significativo con respecto a las muestras envasadas al vacío, a partir de noveno mes (ANOVA, $P < 0,05$); esto es atribuido, como se mencionó anteriormente, a la disminución de los 4 parámetros de calidad sensorial analizados. Las muestras congeladas envasadas al vacío se mantuvieron en valores aproximados de 8 puntos (me gusta mucho), mientras que el control presentó valores aproximados de 7 puntos (me gusta moderadamente) disminuyendo a valores de 6 puntos (me gusta



ligeramente). En función de los parámetros sensoriales analizados, se puede inferir que la carne congelada envasada al vacío posee una mejor aceptación que el control (sin aplicación de vacío) a lo largo de los meses estudiados. Estos resultados se han reforzado con parámetros físicos y químicos como el exudado, la capacidad de retención de agua y el color instrumental, donde el control presentó valores desfavorables con respecto a la carne envasada al vacío.

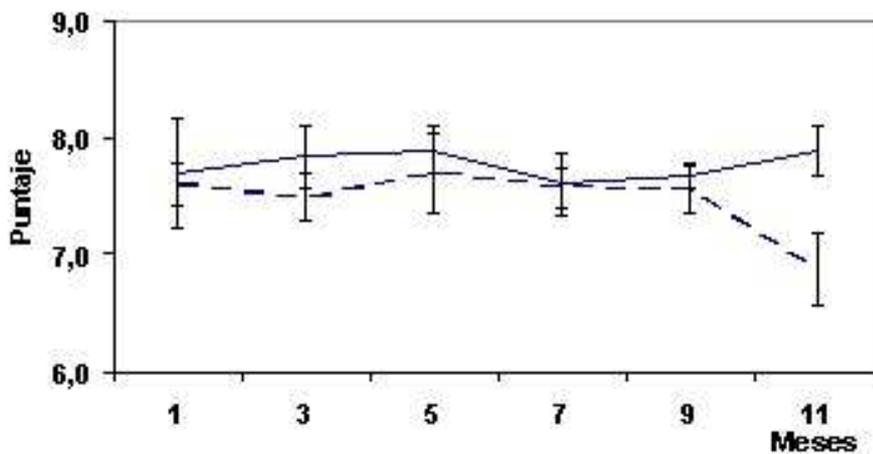


Figura 6.22 Variación mensual del puntaje promedio de todos los atributos. Carne congelada envasada al vacío (línea llena), control (línea punteada).

6.9. Síntesis del Capítulo

En la primer parte del capítulo, se utilizó un programa en elementos finitos utilizando el lenguaje Matlab, el cual permitió conocer la temperatura en función del tiempo para el proceso de congelación de carne de cangrejo envasada en películas plásticas (“pouches”). Asimismo, se modeló numéricamente mediante el simulador COMSOL el proceso de congelación de pinzas de cangrejo, considerando las distintas propiedades termofísicas de los componentes del alimento: capa calcárea y carne, y los valores de coeficiente de transferencia h . Para el modelado matemático de la carne envasada se tuvieron en cuenta los coeficientes de transferencia calórica del producto en contacto con el aire y con la placa metálica. Las predicciones numéricas concordaron



satisfactoriamente con los resultados experimentales, permitiendo determinar los tiempos de congelación de los productos a base de carne de cangrejo. Por otro lado, se analizó el efecto de la velocidad del aire en el túnel y de la temperatura externa del aire refrigerante sobre los tiempos de congelación de los productos, los mismos se determinaron mediante el modelo numérico y finalmente fueron representados por ecuaciones polinómicas simples, que pueden ser fácilmente utilizadas por la industria. Paralelamente, se analizó el tamaño y la localización de los cristales de hielo en los productos congelados bajo diferentes condiciones operativas, lo cual permite determinar una velocidad y temperatura óptima de congelación, en función de lograr la formación de pequeños cristales de hielo que no dañen el tejido.

En la segunda parte del Capítulo, se estudió la vida útil durante el almacenamiento congelado de ambos productos, pinzas y carne envasada (“pouches” con aplicación de vacío y sin vacío). Los parámetros de calidad durante el almacenamiento congelado se mantuvieron estables durante los primeros 9 meses, disminuyendo gradualmente a partir del décimo mes. Los análisis físicos, químicos y sensoriales mostraron diferencias entre las formas de envasado del producto congelado hacia los últimos meses de almacenamiento. El exudado, la capacidad de retención de agua y el color instrumental fueron los parámetros que más difirieron entre métodos. Las diferencias mas importantes fueron encontradas en el análisis sensorial, observándose una mejor puntuación para la carne envasada al vacío que para el control (congelado y almacenado en películas permeables al oxígeno). Este estudio comparativo resulta de importancia ya que permite seleccionar la forma de almacenar y distribuir el producto congelado, dado que el envase representa una variable importante en cualquier proceso industrial y la decisión dependerá de la estrategia y disponibilidad económica de cada planta.



Capítulo

7

Reutilización de los Residuos Industriales



Capítulo 7

Reutilización de los Residuos Industriales

7. Introducción

Un proceso productivo no solamente es reconocido por la calidad de sus productos, sino también por su calidad total, desde el ingreso de la materia prima hasta la salida y tratamiento de sus desechos. En el procesamiento de cangrejos, para el aprovechamiento del músculo comestible, se generan residuos sólidos de difícil disposición. En la industrialización de la carne de cangrejo, el exoesqueleto restante de la remoción de carne y vísceras, representa entre el 45% y 55% de su peso total. Estos desechos constituyen un contaminante rico en carbonato de calcio, pigmentos (carotenoides) y quitina, que pueden ser valorizados si se diseña y aplica un método de extracción adecuado. La quitina que posee el exoesqueleto de dichos crustáceos es un componente clave debido a su amplio espectro de aplicaciones industriales. Las técnicas de extracción de quitina reportadas son muy variadas, pues dependen en gran medida de las características de la fuente. La composición del material de partida varía notablemente de una especie de crustáceo a otra, o bien dentro de la misma especie, encontrándose caparazones gruesos y carbonatados, en contraposición a otros de láminas calcáreas delgadas (Tsaih y Chen, 2003; Cho y col. 1998; Del Blanco y col. 1999). La mayor parte de las técnicas desarrolladas para la extracción de quitina se basan en procesos químicos de hidrólisis de la proteína y remoción de la materia inorgánica (parte calcárea). Algunos incluyen una decoloración de la quitina extraída, mediante una extracción con solvente o la oxidación de los pigmentos remanentes. El rendimiento en quitina por gramo de caparazón triturado de cangrejo varía entre un 7 y 25% dependiendo de la fuente y del proceso empleado para su obtención (Tsong Yen, 2009; Covas, 2006). La quitina es una sustancia muy clara, blanquizca o amarillenta, y se puede presentar tanto en polvo como en escamas. Se la puede procesar para



obtener derivados, de los cuales el más conocido y de mayor aplicación es el quitosano. El quitosano es un polisacárido lineal que se obtiene por desacetilación parcial de la quitina. El mismo está compuesto por dos tipos de unidades estructurales distribuidas de manera aleatoria a lo largo de la cadena, la N-acetil-D-glucosamina y la D-glucosamina, las cuales se encuentran unidas entre sí por enlaces del tipo $\beta(1\rightarrow4)$ glicosídicos (Parada y col. 2004). El quitosano se caracteriza biológicamente por su biocompatibilidad (polímero natural no tóxico, biodegradable a los componentes normales del cuerpo) y por su bioactividad. Debido a sus propiedades funcionales y fisicoquímicas, se le ha podido identificar una enorme cantidad de aplicaciones que abarcan áreas tan variadas como: alimentación, medicina, agricultura, cosmética, farmacia, entre otras múltiples funciones, todas ellas beneficiosas (Covas, 2006). La desacetilación de la quitina para la obtención de quitosano, se lleva a cabo por hidrólisis de los grupos acetamida en medio fuertemente alcalino a altas temperaturas, preferentemente en atmósfera inerte o en presencia de sustancias que eviten la despolimerización de la misma (Fig 7.1).

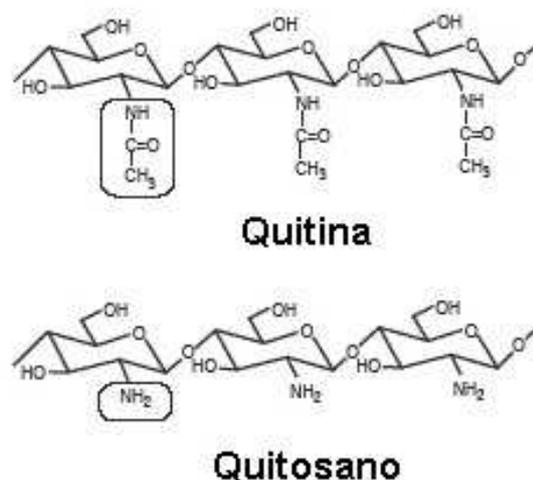


Figura 7.1 Fórmulas de la quitina y el quitosano.

Las condiciones específicas de la reacción dependerán de diversos factores, tales como el material de partida, el tratamiento previo, y el grado de desacetilación



deseado. No obstante, con un solo tratamiento alcalino, el máximo grado de desacetilación alcanzado no suele sobrepasar el 85%. Tratamientos prolongados suelen provocar la degradación del polímero sin traducirse en un aumento sensible del grado de desacetilación (Alvarado y col 2005; Covas, 2006). Un estudio realizado por Tsung Yen y col. (2008) determinó que el quitosano de cangrejo contiene buena actividad antioxidante, tiene la capacidad de eliminar los radicales hidroxilos y son fuertes quelantes de iones ferrosos.

Es importante como parte total del proceso de obtención de carne de cangrejo, el estudio del aprovechamiento de los residuos de dicha industria alimentaria.

El presente capítulo tiene como objetivos: a) Realizar la extracción de quitina de los exoesqueletos de los cangrejos *O. trimaculatus* y *D. patagonicus* y determinar el rendimiento de quitina y quitosano de los mismos; b) Determinar el grado de desacetilación del quitosano a partir de la quitina obtenida; c) Caracterizar la quitina y el quitosano obtenidos por espectroscopía infrarroja (FTIR).

7.1. Generación de residuos de cangrejos

El exoesqueleto restante del proceso industrial de los cangrejos *O. trimaculatus* y *D. patagonicus*, resulta de la remoción de la carne y las vísceras (gónada, branquias y hepatopancreas) de los mismos. La cantidad de exoesqueleto generado como residuo depende de cada una de las especies. Para *O. trimaculatus*, como se estudió en el Capítulo 4, el rendimiento en carne alcanza el 30%, es decir, que del peso total del individuo el 30% es carne; las vísceras, destinadas en general a las plantas de elaboración de harina, también representan un porcentaje importante del peso total del individuo, siendo para OT entre el 10% y 15% del peso del ejemplar. Este valor depende del grado de desarrollo gonadal, época del año y otros factores ecológicos. Si tomamos los máximos porcentajes de carne y masa visceral que se extrae del individuo, se puede estimar que la cantidad de exoesqueleto restante de la remoción representa, en promedio, el 55% del ejemplar. Para el caso de *D. patagonicus*, la



cantidad de carne representa como máximo el 22% del individuo, mientras que la masa visceral llega a valores del 25%, por lo que la cantidad de exoesqueleto generado representa, en promedio, el 53% del peso total del individuo.

Los exosqueletos remanentes de la extracción de carne y vísceras se rompieron en trozos grandes, se lavaron con abundante agua dulce y se secaron en estufa a 65°C durante 24h. Una vez secos se molieron en una picadora (Mulinex-Philips) hasta obtener un tamaño equivalente de partícula menor a 1mm y mayor a 0,5mm, este tamaño se determinó a través del uso de tamices.

7.2. Obtención de quitina del exoesqueleto de cangrejos

7.2.1. Materiales y métodos

Los pasos a seguir para la obtención de quitina del exoesqueleto de ambas especies se detallan en la Figura 7.2.

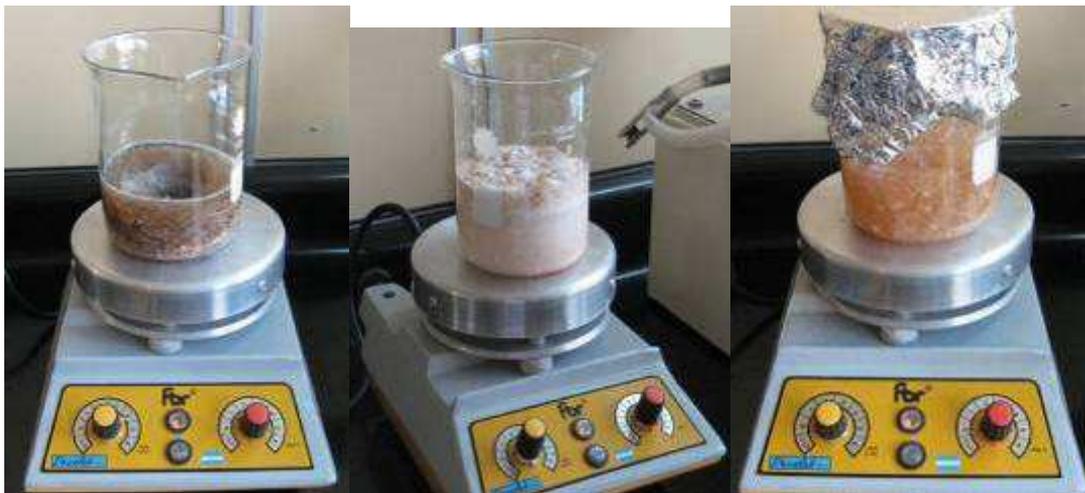


Figura 7.2 Diagrama general para la obtención de Quitina.

La técnica de obtención de quitina se ajustó a partir de la metodología descrita por Tsung Yenpor y col. (2009) para exoesqueletos de cangrejos. Para la obtención del rendimiento en quitina se partió de 20g de caparazón triturado. Para la eliminación de minerales, la muestra se trató con solución de ácido clorhídrico (HCl) 1N a temperatura



ambiente durante 6h, luego se filtró y se lavó con abundante agua destilada. Para la eliminación de las proteínas, la muestra se trató con solución acuosa de hidróxido de sodio (NaOH) al 3% en proporción 1:10 a 100°C durante 3h. La mezcla se filtró y se lavó nuevamente con abundante agua destilada. Por último, la muestra se decoloró con hipoclorito de sodio al 0,32% durante 15 minutos y luego se trató con una solución de acetona y agua (75/25) durante 1h. Finalizada la decoloración, se filtró y se realizó sucesivos lavados con abundante agua destilada para eliminar cualquier residuo que pudiera haber quedado. El precipitado obtenido se secó a estufa durante 24h. El producto obtenido corresponde a Quitina. En la Figura 7.3 se puede observar cada una de las etapas del proceso de la obtención de la quitina.



Desproteinización

Descarbonatación

Decoloración

Figura 7.3 Etapas del proceso de obtención de quitina a partir de exoesqueletos de cangrejos.

7.2.2. Rendimiento en la obtención de quitina

El rendimiento en quitina en función del peso de caparazón de cangrejo triturado (20g), fue de 17,5% para *O. trimaculatus* y 13,86% para *D. patagonicus*. Ambos rendimientos estuvieron dentro del rango reportado por Covas (2006) para exoesqueletos de cangrejos de distintas especies: 7,6% para *Callinectes sapidus*, 15,5% para *Paralithodes camtschaticus* y 26,6% para *Chionectes opilio*. El rendimiento en quitina



de exosqueletos de crustáceos depende de la materia prima de partida y del ajuste de las variables de la técnica implementada; sugiriéndose para cada etapa, diferentes tiempos y temperaturas de digestión de la muestra (Cocoletzi y col. 2009; Covas, 2006; Marmol y col 2004). En la Figura 7.4 se puede observar el polvillo de quitina obtenido.



Figura 7.4 Quitina obtenida del exoesqueleto de *O. trimaculatus*.

7.3. Obtención de quitosano a partir de la quitina del exoesqueleto *O. trimaculatus*

7.3.1. Materiales y métodos

La quitina obtenida se sometió a un proceso de desacetilación mediante el cual es convertida en quitosano; para ello se pesaron 10g de quitina, la cual se trató con: 1) solución de NaOH al 40% y 2) solución NaOH al 50%, ambas en una relación 1:4 p/v; las mismas se sometieron a agitación constante durante 3h a 105°C. Posteriormente, la mezcla se filtró, se lavó sucesivas veces con agua destilada y se secó a estufa a 35°C durante 48h. El polvillo obtenido corresponde a quitosano (Fig 7.5).



7.3.2. Porcentaje de quitosano obtenido partir de la quitina del exoesqueleto de *O. trimaculatus*

El quitosano obtenido a partir de la desacetilación termoalcalina de la quitina de cangrejo representó el 73,48% de la quitina inicial. Este valor de rendimiento resulta muy satisfactorio y se encuentra dentro de los valores reportados para cefalotórax de langosta (76,92%) (Covas, 2006) y para exosqueleto de camarón (76,56%) (Mármol y col. 2005).



Figura 7.5 Quitosano obtenido a partir de la quitina del exoesqueleto de *O. trimaculatus* tratada con NaOH al 40%.

7.4. Valoración potenciométrica del quitosano

7.4.1. Materiales y métodos

El grado de desacetilación, representado como DD(%), es una de propiedades más importantes en la caracterización del quitosano, pues dependiendo de su valor el polímero tendrá diferentes aplicaciones (Parada y col. 2004; Covas, 2006; Cocolletzi y col. 2009). La reacción de desacetilación de la quitina produce la eliminación de grupos acetilo ($C=O-CH_3$) de la cadena polimérica, dando lugar a la formación de grupos reactivos aminos (NH_2), y una sustitución parcial o total de los grupos acetilo. El grado de acetilación DA(%), se define como el porcentaje de grupos acetilos aún presentes en la cadena de quitina parcial o totalmente desacetilada. El contenido de grupos acetilo ($-COCH_3$) residuales (grado de acetilación), o presencia de grupos



aminos (NH_2) (grado de desacetilación), pueden ser determinados por varios métodos; entre los más utilizados se encuentran el método potenciométrico y determinación por espectroscopía infrarroja (FTIR).

La titulación potenciométrica es uno de los métodos más simples utilizado por la industria del quitosano debido a su bajo costo en reactivos y equipamiento (Hernández, 2004). Para la determinación del grado de desacetilación de las muestras de quitosano obtenidas, se utilizó la técnica original descrita por Broussignac (1968) y ampliamente utilizada en la actualidad. Para la determinación del contenido de grupos amino de las distintas muestras de quitosano (tratadas al 40% y 50% de hidróxido de sodio) se procedió a la disolución de 0,5g de cada uno de ellos, en 20ml de HCl 0,3M. A continuación, se tituló con una solución de NaOH 0,1M la cual había sido valorada previamente con biftalato de potasio como patrón primario. La valoración potenciométrica se llevó a cabo midiendo el cambio de pH cada 2ml de base añadida; la adición se realizó de forma lenta y con agitación continua para homogenizar la solución y evitar errores debidos a la posible precipitación del biopolímero. Las mediciones se llevaron a cabo con un pHmetro Hanna Instrument, el cual se calibró a pH 4, 7 y 9. Las medidas se realizaron dos veces por cada muestra. El procedimiento resultó en una curva de titulación de pH versus el volumen de NaOH añadido, con dos puntos de inflexión: el primero corresponde al exceso de HCl, mientras que el segundo corresponde a la protonación del quitosano. La diferencia entre los dos puntos de inflexión representa los moles de H^+ necesarios para la protonación de los grupos amino libres (unidades desacetiladas), dando como resultado la cantidad de D-glucosamina (D-GlcN) en la solución valorante. Suponiendo que el resto de la muestra es D-GlcNAc (N-acetil-D-glucosamina), el valor de DD% de la muestra se puede obtener fácilmente a través de la ecuación propuesta por Broussignac (1968) donde:



$$DD(\%) = \left(\frac{203M_{eq}}{1 + 42M_{eq}} \right) \quad (7.1)$$

siendo $M_{eq} = \frac{N\Delta V}{w}$ donde ΔV es la diferencia entre los dos puntos de inflexión del gráfico obtenido, N es la molaridad de la solución de NaOH, w el peso en gramos de la muestra seca de quitosano utilizada.

El porcentaje de desacetilación DD(%) del quitosano se obtiene mediante la Ecuación 7.1, donde 203 es la masa molar de la glucosamina y 42 es la masa molar del grupo acetilo.

7.4.2. Resultados de la determinación del grado de desacetilación por titulación potenciométrica

El contenido de grupos amino en las muestras de quitosano se determinó por titulación potenciométrica (Broussignac, 1968; Gupta y Jabrail, 2006; Parada y col. 2004; Cocolletzi y col. 2009). Se disolvió el polímero en una concentración conocida de ácido clorhídrico y se valoró la mezcla con hidróxido de sodio, tal como se describió anteriormente. El grado de desacetilación DD% alcanzado se determinó según la Ecuación 7.1 propuesta por Broussignac, (1968). Los resultados de las titulaciones para las muestras tratadas con NaOH al 40% y al 50% respectivamente, se muestran en las Figuras 7.6a,b. En ambos casos se produce una curva de titulación con dos puntos de inflexión cuyos valores se determinaron según el criterio de la primera derivada. Como se mencionó, la diferencia entre los dos puntos de inflexión en la curva de titulación corresponden a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano (ver Fig 7.1). Los resultados de la determinación del grado de desacetilación obtenidos fueron del 50,3% para el quitosano tratado con hidróxido de sodio al 40% y 74,8% para el quitosano tratado con hidróxido de sodio al 50%. En este último caso, la proporción de grupos amino fue mayor, lo que es indicativo de que



este método de síntesis utilizado permite la obtención de un producto altamente desacetilado. Dicho valor se encuentra dentro del rango de los valores del quitosano comercial (Hernández, 2004; Parada y col. 2004; Covas, 2006). La quitina con más de un 50% de desacetilación es considerada quitosano, por otro lado, algunos autores, lo definen como tal ante un grado de desacetilación superior al 60%. Usualmente, en el caso del quitosano de uso comercial, se establece que el grado de desacetilación se encuentre comprendido entre el 60 y 95% (Hernandez, 2004; Parada y col. 2004; Covas, 2006).

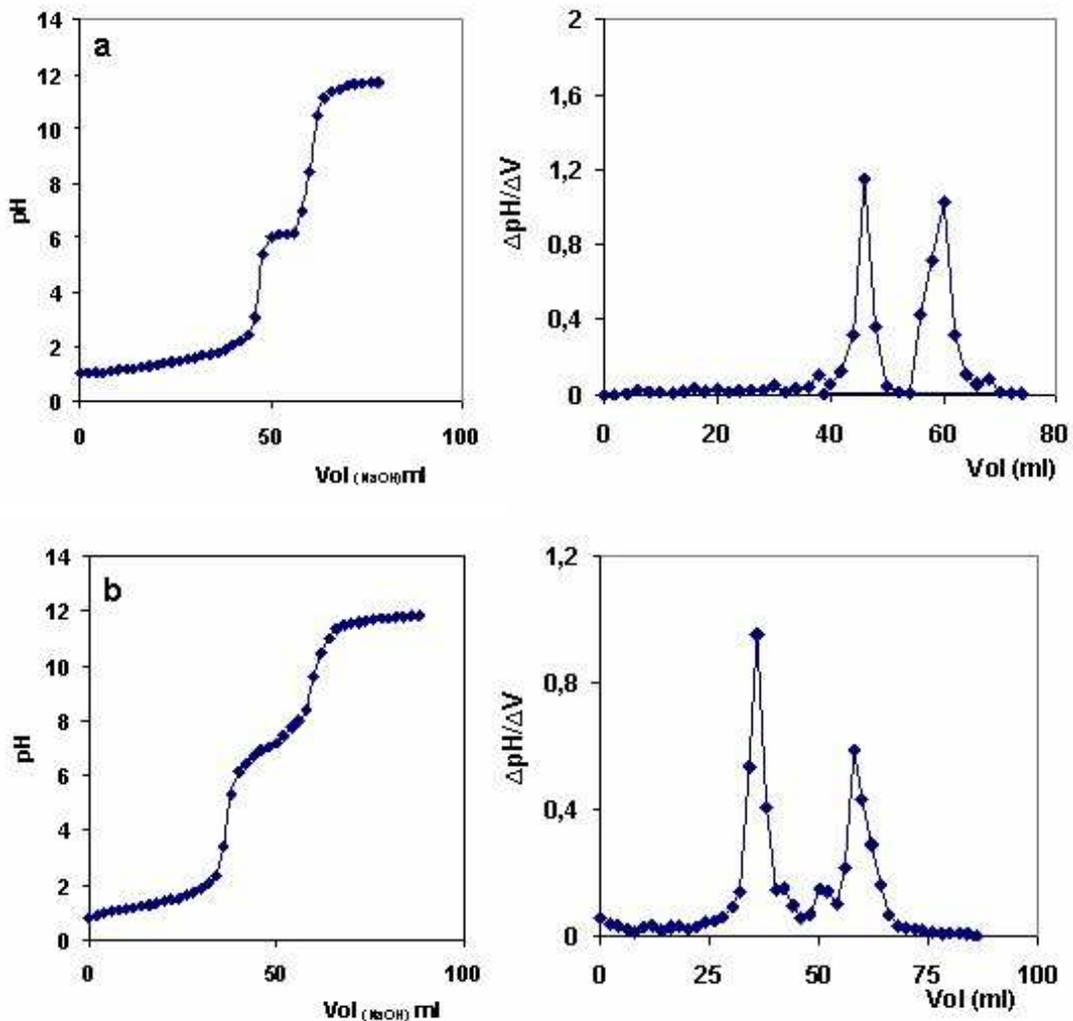


Figura 7.6 Curva de titulación del quitosano obtenido con NaOH al: a) 40% y b) 50%. En las gráficas de la derecha se muestran los picos máximos que corresponden a los puntos de inflexión de la curva de titulación.



El grado de desacetilación de quitosano obtenido con NaOH al 40% es bajo en relación a los reportados en diversas literaturas (Cocoletzi y col. 2009; Mejía y Hernández, 2007; Mármol y col. 2007), donde los valores de desacetilación superan el 65%, el cual es un valor óptimo para el quitosano comercial. Por otro lado, el quitosano de baja desacetilación (40%-50%) es usado para aplicaciones en soluciones de pH ligeramente básico. Por lo tanto, puede observarse que variando la concentración de hidróxido de sodio se puede obtener quitosano con un grado de desacetilación preseleccionado.

7.5. Caracterización de quitina y quitosano por espectroscopía infrarroja (FTIR)

7.5.1. Materiales y métodos

Para la caracterización de la quitina y el quitosano obtenidos se utilizó espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Por su sencillez, la espectroscopía infrarroja es quizás el método más empleado en la determinación cuantitativa del DD% de quitosano. Esta técnica considera la variación de absorbancia en la banda que corresponde al grupo carbonilo $-C=O$, a 1655cm^{-1} , característica de la quitina, como una medida de la disminución de los acetilos. Esta banda conforme se produce la reacción va disminuyendo en su intensidad, es decir, que el grupo acetilo va desapareciendo en la quitina, mientras que se va formando el quitosano (Hernandez, 2004; Cocoletzi y col. 2009).

Los análisis de caracterización de quitina y quitosano por espectroscopía infrarroja, fueron realizados en el Centro de Investigación y Desarrollo en Procesos Catalíticos (CINDECA), utilizando un Espectrómetro Infrarrojo por Transformada de Fourier (Bruker IFS 66). En este estudio se presentan los resultados de las muestras tratadas con hidróxido de sodio al 40%. Las muestras se prepararon para su análisis en forma de pastillas con bromuro de potasio (KBr). Las mismas se preparan moliendo una pequeña cantidad del polímero finamente dividido (2mg) conjuntamente con 100mg de bromuro de potasio (KBr), la mezcla se prensa para obtener una pastilla, la cual se



seca al vacío durante toda la noche. El método consiste en correlacionar la relación de absorbancias entre dos bandas de absorción determinadas, con el porcentaje de N-acetilación del quitosano.

Para este trabajo se usó el método de correlación de Baxter y col. (1992) ya que ha sido utilizado con frecuencia en la literatura (Hernández, 2004; Covas, 2006). Según este método el grado de desacetilación DD(%) se calcula por la siguiente ecuación:

$$DD(\%) = 100 - [(A(1655\text{cm}^{-1})/A(3450\text{cm}^{-1})) \times 115] \quad (7.2)$$

donde $A(1655\text{cm}^{-1})$ y $A(3450\text{cm}^{-1})$ son las absorbancias de los picos del espectro IR del quitosano, correspondientes a las bandas de grupo de amida primaria (1655cm^{-1}) y los enlaces del grupo funcional $-\text{OH}$ (3450cm^{-1}) respectivamente. Mediante este procedimiento se obtienen buenos resultados para muestras con un grado de acetilación entre 0 y 55% (Hernández, 2004).

7.5.2. Resultados de la caracterización por espectroscopía infrarroja (FTIR) de la quitina y quitosano

La Figura 7.7a,b muestra los espectros infrarrojos de la quitina y quitosano obtenidos para exosqueleto de cangrejo. Dado que los espectros están expresados en función de la transmitancia se hizo su correspondiente conversión a absorbancia.

Los valores se obtuvieron directamente de la gráfica de quitosano (Fig 7.7b) siendo el valor $T\%(1650) = \sim 54\%$ y el valor $T\%(3450) = \sim 29\%$.

Transformando los valores a absorbancia y aplicando la Ecuación 7.2 se pudo obtener el grado de desacetilación del quitosano tratado con hidróxido de sodio al 40%:

$$DD\% = 100 - [(0.26/0.59) \times 115] = 100 - 50.67 = \boxed{49,32\%}$$

El grado de desacetilación obtenido fue del 49,3% aproximadamente; dicho resultado es congruente con el obtenido previamente por titulación potenciométrica. Por lo tanto, ambos métodos representan una buena estimación del grado de desacetilación del quitosano obtenido.



En la Figura 7.7b se muestra el espectro IR del quitosano con un 49,3% de desacetilación. En el mismo se pueden apreciar las bandas características a 3450cm^{-1} (tensión del grupo -OH), 3292cm^{-1} (tensión del grupo N-H), 2919 y 2862cm^{-1} (tensión del grupo C-H), 1655cm^{-1} (Amida I), 1580cm^{-1} (doblaje del grupo -NH₂), 1313cm^{-1} (Amida III), 1154cm^{-1} (tensión del puente C-O-C), 1082cm^{-1} y 1032cm^{-1} (vibraciones del esqueleto propias de su estructura piranósica).

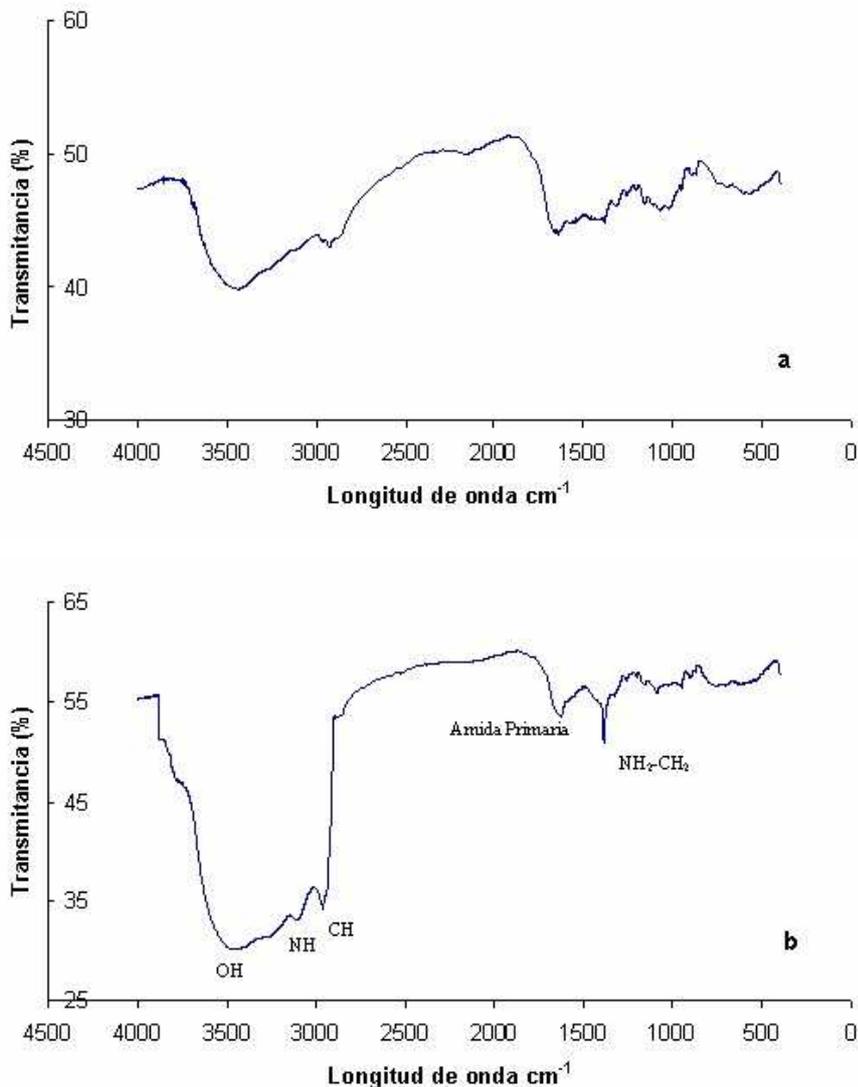


Figura 7.7 Espectro infrarrojo (IR) para: a) Quitina y b) Quitosano de exosqueleto de *O. trimaculatus*.



En la Figura 7.7b se hace evidente la aparición de la banda del grupo amino a 1621cm^{-1} y se observa una mejor definición en las bandas de los grupos $-\text{OH}$ a 3450cm^{-1} y $-\text{NH}$ a 3254cm^{-1} , respecto al espectro de la quitina (Fig 7.7a), esto es debido precisamente al proceso de desacetilación a la que fue sometida la muestra.

7.6. Síntesis de Capítulo

Se analizó el contenido en quitina y quitosano de los residuos generados durante el procesamiento de las especies de cangrejos *O. trimaculatus* y *D. patagonicus*. En la industrialización de la carne de dichos cangrejos, el exoesqueleto restante de la remoción de carne y vísceras representó más del 50%. El rendimiento en quitina obtenido para ambas especies fue de 17,5% y 13,8% para *O. trimaculatus* y *D. patagonicus* respectivamente. El proceso de obtención de quitosano se realizó utilizando hidróxido de sodio al 40% y al 50%. El grado de desacetilación del mismo se determinó por valoración potenciométrica y se comparó con el método de espectroscopía infrarroja (FTIR). Ambos métodos resultaron satisfactorios para la determinación del grado de desacetilación del quitosano. El quitosano tratado con hidróxido de sodio al 40% resultó en un grado de desacetilación menor, por el contrario, el quitosano tratado con hidróxido de sodio al 50% presentó un grado de desacetilación mayor al 70%, encontrándose dentro de los valores comerciales de quitosano. Los exoesqueletos de cangrejo desechados constituyen un contaminante rico en quitina y quitosano, que puede ser valorizado si se diseña y aplica un método de extracción adecuado.



Conclusiones Finales



Conclusiones Finales

♦ Se estudió el proceso tecnológico para la industrialización de los cangrejos marinos *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus patagonicus* capturados en las costas del Golfo Nuevo, Chubut (Patagonia-Argentina), con el fin de proporcionar al sector productivo la información científico-técnica necesaria para lograr un óptimo aprovechamiento de este recurso, proveyéndolo de valor agregado y evitando su sobreexplotación y comercialización a bajo costo. El estudio abarcó desde el análisis de las características físicas, químicas y microbiológicas de la materia prima de partida hasta la reutilización de los desechos generados durante la industrialización de dichas especies.

♦ Se obtuvieron cangrejos de las especies *D. patagonicus* y *O.trimaculatus* por medio del uso de trampas plegables y buceo en las aguas del golfo Nuevo, Puerto Madryn-Chubut. Como primer paso para comprender el comportamiento del músculo durante el proceso de transformación de la carne de cangrejo, se realizó una caracterización física, química e histológica de los músculos frescos de ambas especies. Con el mismo fin se realizó la separación en grupos de proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas según la técnica (Wagner y Añon, 1985). La caracterización proteica se realizó por electroforesis desnaturalizante SDS-PAGE utilizando el método de Lammeli (1971).

Las tallas de los cangrejos para la captura, en principio, no deben ser menores a 70mm de ancho de caparazón para asegurar la madurez y reproducción de la especie.

Los valores de la composición proximal determinados han sido los característicos para dichas especies marinas, siendo ricas en proteínas y bajas en grasas. Los valores de nitrógeno básico volátil (NBV) y pH son elevados en comparación a otros recursos pesqueros, por lo que se deben mantener condiciones de procesamiento adecuadas



para evitar su incremento durante su proceso, esto implica, evitar aumentos de temperatura y tiempos muertos de exposición del músculo al aire. Los ejemplares estudiados han mostrado poseer una buena capacidad de retener agua debido a las características de las proteínas miofibrilares, principalmente. El recuento microbiano resultó bajo ya que se capturaron y procesaron ejemplares sanos de aguas no contaminadas y se mantuvieron vivos hasta el momento del procesamiento.

◆ Se optimizó el proceso de calentamiento primario del cuerpo y pinzas de *Ovalipes trimaculatus* y *Danielethus patagonicus*, determinando la mejor relación tiempo/temperatura sobre la base de la desnaturalización de las proteínas miofibrilares, con el fin de lograr un desprendimiento adecuado de la carne del exosqueleto de los cangrejos, manteniendo los parámetros organolépticos característicos de cada especie.

La simulación computacional de la transferencia térmica tridimensional se realizó resolviendo la ecuación diferencial a derivadas parciales de conducción de calor en estado no estacionario con condiciones de contorno convectivas utilizando el método de elementos finitos con el programa Comsol Multiphysics. Se consideró en todos los casos (pinzas y cuerpo) la presencia de una capa calcárea externa al músculo. Paralelamente, empleando Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) se observaron dos picos cuyas temperaturas máximas y entalpías fueron: $T_{max1}=49,02^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_1=0,12\text{J/g}$ (miosina) y $T_{max2}=77,47^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_2=0,22\text{J/g}$ (actina); de igual manera se determinaron y analizaron los termogramas para las distintas condiciones ensayadas. Las energías de activación resultaron $145,70\text{kJ/mol}$ para la miosina y $156,42\text{kJ/mol}$ para la actina. Acoplando la cinética de desnaturalización proteica, las energías de activación y las curvas de penetración térmica, se pudo correlacionar el grado de desnaturalización alcanzado por las proteínas miofibrilares en el proceso de calentamiento primario, con las condiciones que permitieron separar el músculo del exoesqueleto. Un ejemplo práctico de aplicación industrial se derivó de los resultados



obtenidos y se presentó en un diagrama donde fueron recomendados tiempos y temperaturas de calentamiento adecuadas para la separación de la carne de la capa calcárea en las pinzas del cangrejo *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*.

◆ Se determinó la composición química y se midieron los parámetros físicos y químicos de la carne de cangrejo cocida en agua a ebullición y por calentamiento con vapor. Los parámetros físicos y químicos de la carne variaron según el método de cocción empleado. Las muestras cocidas con vapor, presentaron altos valores de bases nitrogenadas, pH y pérdida de agua, alcanzando valores no permitidos por la legislación vigente. El color también varió significativamente durante la cocción pasando de un color grisáceo a un blanco amarillento.

◆ Se estudió el rendimiento en carne de ambas especies de cangrejo en función del sexo del individuo, del método de cocción utilizado para el desprendimiento de la carne y en función de las diversas secciones del cuerpo de los individuos. Las hembras presentaron rendimientos mucho menores que los machos, lo cual sustenta la estrategia pesquera de dirigir la captura sólo a ejemplares machos. El rendimiento por calentamiento con vapor se vio desfavorecido en relación al calentamiento en agua a ebullición, posiblemente debido a la mayor deshidratación de la carne por las altas temperaturas. Para *D. patagonicus* la mayor cantidad de carne se extrajo de las quelas, siendo muy poca y dificultosa la extracción de carne del cuerpo. Contrariamente fue lo sucedido para *O. trimaculatus* donde la mayor cantidad de carne se extrajo del cefalotórax (cuerpo). Estos rendimientos sientan una base para el desarrollo de una estrategia pesquera y productiva que debe ser discriminada por especie.

◆ Dado que la extracción de la carne se realiza manualmente, se procedió a optimizar el segundo proceso de tratamiento térmico (Pasteurización) de la carne. El mismo se realizó en base a la eliminación de patógenos característicos, tomando



como referencia *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Se ensayaron distintas combinaciones de temperatura y tiempo de pasteurización (60°C, 72°C y 82°C), donde se registraron las historias térmicas del producto: pulpa de cangrejo cocida envasada al vacío por 250g en envase flexibles Cryovac (“pouches”). Paralelamente se realizó el modelado matemático de la transferencia térmica durante la pasteurización de la carne cocida envasada al vacío en envases de polietileno de 90µm de espesor, 11,5cm de ancho y 19,2cm de largo. Para la simulación numérica se utilizó el método de elementos finitos con el programa Comsol Multiphysics, dadas las dimensiones del envase se despreció la transferencia axial y se resolvió el problema como un sistema bidimensional donde la transferencia de energía se producía a través de la sección transversal elíptica del envase. Se alimentaron las propiedades termofísicas de la carne cocida y se tuvieron en cuenta los coeficientes de transferencia de calor en interfase y las propiedades de la película del envase.

Para cada patógeno se midió la cinética de letalidad térmica y se determinó el tiempo de reducción decimal (valor D) y el valor z (°C) resultando: $z=16,6^{\circ}\text{C}$ para *Staphylococcus aureus* y $z= 17,5^{\circ}\text{C}$ para *Listeria monocytogenes*. Acoplado la cinética de destrucción de microorganismos a las curvas de penetración térmica se pudo determinar el valor del tiempo del proceso para el producto final, resultando: $F_{p_{60}}=32\text{min}$ para *S. aureus* y $F_{p_{60}}=26\text{min}$ para *L. monocytogenes*.

◆ Con el fin de optimizar el proceso de congelación de los productos, carne envasada al vacío y pinzas de cangrejos, se determinaron las curvas de congelación de cada producto utilizando un túnel de congelación horizontal continuo de 6 metros de largo por un área transversal de $3,6\text{m}^2$, diseñado por la empresa Refmar S.R.L. Una de las características más importantes del túnel es que el producto a congelar se coloca sobre una base metálica conductora la cual se encuentra a la temperatura del equipo. Dada esta característica, la congelación se realizó por convección (aire) y por conducción (placa de apoyo).



Se utilizó un programa en elementos finitos utilizando el lenguaje Matlab, el cual permitió conocer la temperatura en función del tiempo para el proceso de congelación de “pouches” a base de carne de cangrejo. Se modeló numéricamente mediante el simulador COMSOL el proceso de congelación de pinzas de cangrejo considerando las distintas propiedades termofísicas de los componentes del alimento: capa calcárea y carne. Los valores del coeficiente de transferencia h se obtuvieron a partir de experimentos independientes con prototipos de aluminio (esferas y prismas).

Las propiedades termofísicas, tales como el calor específico aparente y el calor latente de fusión, se midieron utilizando Calorimetría Diferencial de Barrido. La conductividad térmica (k) y la densidad (ρ) de la carne fueron calculadas utilizando las ecuaciones de Choi y Okos (1986), que tienen en cuenta la fracción de hielo como una función de la temperatura. Las propiedades termofísicas calculadas se alimentaron al modelo propuesto. El modelo numérico fue validado mediante mediciones experimentales y se utilizó para predecir tiempos de congelación en otras condiciones operativas del equipo.

A partir de estos resultados, se obtuvieron ecuaciones polinómicas sencillas que permitieron predecir el efecto de la temperatura del fluido externo y del coeficiente de transferencia h en función de los tiempos de congelación. Para las pinzas de cangrejo, se analizó también la evolución de la posición del punto más caliente del sistema. Las predicciones numéricas concordaron satisfactoriamente con los resultados experimentales permitiendo determinar de manera rápida y precisa los tiempos de congelación del producto cárnico a base de cangrejo lo que conduce a la optimización del proceso.

Se analizó el tamaño y la localización de los cristales de hielo en los productos congelados bajo diferentes condiciones operativas, permitiendo determinar una velocidad y temperatura óptima de congelación para lograr la formación de pequeños cristales de hielo que no dañen el tejido.



◆ Se evaluó la variación de la calidad de la carne de cangrejo cocida-pasteurizada y congelada durante el almacenamiento a bajas temperaturas. Se realizó el seguimiento de parámetros físicos, químicos y sensoriales durante el almacenamiento en cámara de congelado a -22°C de: i) pulpa de cangrejo envasada al vacío pasteurizada-congelada; ii) pinzas cocidas y congeladas de cangrejos de las especies *O.trimaculatus* y *D. patagonicus*; iii) pulpa de cangrejo envasada, sin vacío, pasteurizada y congelada. Los parámetros de calidad analizados fueron: oxidación lipídica (TBA), capacidad de retención de agua (CRA), pH (método potenciométrico), cálculo de color instrumental (Y, xy), exudado, porcentaje de humedad y parámetros sensoriales (color, olor sabor y textura). Dichos ensayos se realizaron mensualmente, durante 11 meses. Los parámetros se mantuvieron estables durante los primeros 9 meses de almacenamiento, disminuyendo gradualmente su calidad a partir del décimo mes. Los análisis físicos y químicos mostraron en los últimos meses de almacenamiento, diferencias significativas entre las distintas formas de envasado, principalmente en el exudado, la capacidad de retención de agua y diferencias importantes en el análisis sensorial. Este análisis resulta relevante dado que el envase resulta importante en cualquier proceso industrial.

◆ Por último, como parte integral del estudio del desarrollo de una línea de procesamiento de cangrejos y debido a la cantidad de exoesqueleto resultante del proceso industrial para la obtención de su carne, se estableció una metodología aplicable a nivel industrial para obtener quitina y quitosano de los desperdicios generados durante el procesamiento de las especies de cangrejos *O. trimaculatus* y *D. patagonicus*. El rendimiento en quitina fue satisfactorio, siendo del 13,8% y 17,5% para *D. patagonicus* y *O. trimaculatus*, respectivamente, encontrándose dichos valores dentro de los reportados para otros crustáceos. Asimismo, se puso a punto el proceso de obtención de quitosano, combinando diferentes concentraciones de hidróxido de sodio, tiempos y temperaturas de digestión. Se realizó asimismo la caracterización de



la quitina y el quitosano obtenidos por espectroscopía infrarroja (FTIR). Para la determinación del grado de desacetilación del quitosano, se utilizó valoración potenciométrica y espectroscopía infrarroja. El proceso de desacetilación para la obtención del quitosano fue del 49% para quitosano tratado con hidróxido de sodio al 40% y del 74% para el tratado con hidróxido de sodio al 50%. Este último valor se encuentra dentro del grado de desacetilación del quitosano de valor comercial.

Como resultado del presente trabajo de Tesis se espera que a partir de su implementación en la industria, un número sustancial de pequeñas y medianas empresas pesqueras de la región adopten la tecnología desarrollada, generando nuevos puestos laborales. Tomando en cuenta que las especies propuestas como materia prima poseen una amplia distribución en la costa chubutense, se prevé la transferencia a todas las localidades litorales de la provincia. Asimismo, se espera que la demanda de materia prima promueva la extracción del recurso por parte de las flotas artesanal y costera, generando una nueva actividad pesquera en la provincia. Por último, se espera que los datos proporcionados en el presente trabajo de Tesis permitan el desarrollo sustentable de dicha actividad económica.



Bibliografía

- Abdullin, V. F., Artemenko, S. E., Ovchinnikova G. P. & Arzamastsev, O. S., 2009. Extraction processes in extraction of the biopolymer chitin from crab shells. *Fibre Chemistry*, 40(6), pp. 513-516.
- Abugoch, L., Barrios, F. y Guarda, A., 1996. Determinación de la composición química proximal y de las propiedades funcionales de carne de pinzas de jaiba (*Homalaspis plana*) recién extraída. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 46: pp. 25-28.
- Abugoch, L., Guarda, A. y Pérez L.M., 2000. Caracterización funcional y bioquímica de la carne del manto de jibia (*Dosidicus gigas*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(4): pp. 380-386.
- Alvarado, J., Arancibia, M., Almeida, A., 2005. Desarrollo y Caracterización de Películas de Quitosano. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 4(2): pp. 39-47.
- Alvarez, I. & Briquets, V., 1983. Resultados de los estudios de morfometría y regeneración del cangrejo moro (*Menippe mercenaria*) en el golfo de Batabanó, Cuba. *Rev. Cub. Inv. Pesq.* 8: pp. 64-77
- Ampuero, Y., & López Salinas, X., 2005. Estudios de la estabilidad del color, propiedades químicas y físicas del salmón Coho (*Oncorhynchus Kisutch*) almacenado a -20°C durante un año. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Universidad de Chile.
- AOAC, 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed., vol. 2. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington.
- ASTM Standard E1269-05 (2003). Standard Test Method for Determining Specific Heat Capacity by Differential Scanning Calorimetry. ASTM International, West Conshohocken, PA. doi: 10.1520/E1269-05. <www.astm.org>.
- Ávila, A., Bierbrauer, K., Pucci, G., López-González, M. & Strumia, M., 2012. Study of optimization of the synthesis and properties of biocomposite films based on



grafted chitosan. *Journal of Food Engineering* 109(4): pp. 752-761

- Babbitt, J.K., Law, D.K., & Crawford, D.L., 1973. Phenolases and blue discoloration in whole cooked Dungeness crab (*Cancer magister*). *Journal of Food Science* 38: pp. 1089-1094.
- Barón, P.J., Real, L.E., Ciocco, N.F., & Ré, M.E., 2004. Morphometry, growth and reproduction of an Atlantic population of the razor clam *Ensis macha* (Molina, 1782). *Scientia Marina*, 68(2): pp. 211-217.
- Barrento, S., Marques, A., Teixeira, B., Anacleto, P., Vaz-Pires, P., & Nunes, M.L., 2009. Effects of season on the chemical composition and nutritional quality of the edible crab *Cancer pagurus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(22): pp. 10814-10824.
- Baxter, A., Dillon, M., Taylor, K.D.A., & Roberts, G.A.F., 1992. Improved method for infrared determination of the degree of N-acetylation of chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.*, 14: pp. 166-169.
- Baxter, S., & Skonberg, D.I., 2007. Previously Cooked Minced Meat from Jonah Crab (*Cancer borealis*). *Journal of Food Science* 71(8): pp. 499-503.
- Baxter, S., & Skonberg, D.I., 2008. Gelation properties of previously cooked minced meat from Jonah crab (*Cancer borealis*) as affected by washing treatment and salt concentration. *Food Chemistry* 109: pp. 332-339.
- Benjakul, S., & Bauer, F., 2001. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis Linne*) muscle as influenced by different freeze–thaw cycles. *Food Chemistry*, 72: pp. 207-217.
- Benjakul, S., & Sutthipan, N., 2009. Comparative study on chemical composition, thermal properties and microstructure between the muscle of hard shell and soft shell mud crabs. *Food Chemistry*, 112(3): pp. 627-633.
- Benjakul, S., & Sutthipan, N., 2009. Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage. *Food Science and Technology* 42: pp. 723-729.



- Bertola, N.C., Bevilacqua, A.E., & Zaritzky, N.E., 1994. Heat treatment on texture changes and thermal denaturation of proteins in beef muscle. *Journal of food processing and preservation* 18: pp. 31-46.
- Bevilacqua, A.E., & Zaritzky, N.E., 1980. Ice morphology in frozen beef. *Journal of Food Technology*, 15: pp. 589-597. ISSN 0022-1163
- Bevilacqua, A.E., Zaritzky, N.E., & Calvelo, A., 1979. Histological measurements of ice in frozen beef. *Journal of Food Technology*, 14: pp. 237-251.
- Boon, D.D., 1975. Discoloration in processed crabmeat: A review. *Journal of Food Science*, 40: pp. 756-761.
- Boschi, E., 1964. Los crustáceos decápodos Brachyura del litoral bonaerense (R. Argentina). Instituto de Biología Marina. Mar del Plata, Argentina. Boletín 6, pp. 1-76.
- Boschi, E., Iorio, M.I., & Fischbach, K., 1992. Catálogo ilustrado de los crustáceos estomatópodos y decápodos marinos de Argentina. *Frente Marít.*, 10: pp. 7-94.
- Branco, J.O., & Masunari, S., 2000. Reproductive ecology of the blue crab, *Callinectes danae* Smith 1869 in the Conceição Lagoon system, Santa Catarina Isle, Brazil. *Rev. Brasil. Biol.*, 60(1): pp. 17-27.
- Broussignac, P. 1968. Chitosan: a natural polymer not well known by the industry. *Chim. Ind., Genie Chim*, 99: pp. 1241-1247.
- Burton, L.T., & Robert, J., 1972. An Improved Precook Process for Blue Crab (*Callinectes sapidus*). *Chesapeake Science* 13(4): pp. 331-333.
- Carsen, A., Kleinman, S., & Scelzo, M., 1996. Fecundity and relative growth of the crab *Platyxanthus patagonicus* (Brachyura: Platyxanthidae) in Patagonia, Argentina. *J. Crust. Biol.*, 16: pp. 748-753.
- Carslaw, H. S., & Jaeger, J.C., 1959. Conduction of heat in solids. Oxford: University Press.



- Carver, A.M., Wolcott, T.W., Wolcott, D.L., Hines, A.H., 2005. Unnatural selection: Effects of a male-focused size-selective fishery on reproductive potential of a blue crab population. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 319(1-2): pp. 29-41.
- Casas, G.N., & Piriz, M. L., 1996. Survey of *Undaria pinnatifida* (*Laminariales*, *Phaeophyta*) in Golfo Nuevo, Argentina. *Hidrobiología*, 326/327: pp. 213-215.
- Chaiyawat, M., Eungrasamee, I., & Raksakulthai, N., 2008. Quality Characteristics of Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus*, Linnaeus 1758) Meat Fed *Gracilaria edulis* (Gmelin) Silva Kasetsart. *Journal Natural Science*, 42: pp. 522-530.
- Cho, Y.I., No, H.K., & Meyers, S.P., 1998. Physicochemical Characteristics and Functional Properties of various Commercial Chitin and Chitosan Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9): pp. 3839-3843.
- Choi, Y., & Okos, M.R., 1986. Effects of temperature and composition on the thermal properties of foods. In M. Le Maguer, P. Jelen. *Food engineering and process applications*, 1: pp. 93 -103. Elsevier Applied Science, New York.
- Chung, H.Y., 1999. Volatile Components in Crabmeats of *Charybdis feriatus*. *J. Agric. Food Chem.*, 47: pp. 2280-2287.
- Cifuentes, A., & Quiñinao, J. F., 2000. Composición y vida útil de carne cocida de cangrejo dorado (*Chaceon chilensis*) proveniente del archipiélago de Juan Fernández, Chile *Invest. Mar.*, Valparaíso, 28, pp. 195-202.
- Cleland D.J., Cleland A.C, Earle R.L., & Byrne S.J., 1984. Prediction of Rates of Freezing, Thawing or Cooling in Solids of Arbitrary Shape Using the Finite Element Method. *International Journal of Refrigeration*, 7(1): pp. 6-13.
- Codex Alimentarius Commission, 1983. CAC/RCP 28, Vol. 9. Recommended International Code of Practice for crabs, Rome. www.codexalimentarius.org.
- Codex Alimentarius Comisión, 2003. Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros. CAC/RCP52. ISBN: 978-92-5-305914-0. www.codexalimentarius.org.



- Código Alimentario Argentino, 1969. Capítulo 6, Alimentos Cárneos y Afines. Ley 18.284, reglamentada por el Decreto 2126/71. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Buenos Aires. Argentina. www.minagri.gov.ar
- Código Alimentario de Chile 1998. Ministerio de Salud. Reglamento Sanitario de los Alimentos. Santiago, Chile. www.minsal.cl.
- Collins, P.A., & Petriella, A., 1999. Growth Pattern of isolated prawns of *Macrobrachium borellii* (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Invertebrate. Reproduction and Development*, 36: pp. 1-3.
- Collins, P.A., 2001. Relative growth of the freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Nobili, 1896) (Decapoda: Palaemonidae). *Nauplius* 9(1): pp. 53-60.
- Collins, P.A., Williner, V., & Giri, F., 2004. Crustáceos Decápodos del Litoral Fluvial Argentino. *INSUGEO, Miscelánea*, 12: pp. 253 - 264. ISSN 1514-4836.
- Comini, G., Del Giudice, S., & Saro, O., 1989. Conservative equivalent heatcapacity methods for non-linear heat conduction. In: RW Lewis, K Morgan, Eds., *Numerical Methods in Thermal Problems, Vol 6 Part 1*. Swansea: Pineridge Press, pp. 5-15.
- Comini, G., Del Giudice, S., Lewis, R.W., & Zienkiewicz, O.C., 1974. Finite Element Solution of Non-Linear Heat Conduction Problems with Special Reference to Phase Change. *International Journal for Numerical Methods in Engineering* 8, pp 613-624.
- COMSOL Multiphysics™ documentation, www.comsol.com.
- Covas, C.A., 2006. Estudios sobre quitina y quitosano. Trabajo presentado para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias. Universidad de La Habana- Cuba.
- Datta, A. K., 2006. Physics-based models in food processing: Heat transfer. In *Handbook of Food and Bioprocess Modeling Techniques*. Edited by S. S. Sablani, A. K. Datta, M. S. Rahman and A. S. Mujumdar. Taylor & Francis, Boca Raton, Florida.



- Defeo, O., & Masello, A., 2000. La pesquería de cangrejo rojo *Chaceon notialis* en el Uruguay: un enfoque de manejo precautorio (1995 y 1996): pp. 7-22. In: Rey, M. (Ed.). Recursos pesqueros no tradicionales: moluscos, crustáceos y peces bentónicos marinos. Proyecto URU/92/003. INAPE-PNUD.
- Del Blanco, L.F., Rodríguez, M.S., Schulz, P.C., & Agullo, E., 1999. Influence of the deacetylation degree on chitosan emulsification properties. *Colloid Polymer Science*, 277: pp. 1087-1092.
- De-Wei, C., Zhang, M., & Shrestha, S., 2007. Compositional characteristics and nutritional quality of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Food Chemistry*, 103(4): pp. 1343-1349.
- Dima, J.B., Barón P, J., Zaritzky, N. E., 2012. Mathematical modeling of the heat transfer process and protein denaturation during the thermal treatment of Patagonian marine crabs. *Journal of Food Engineering*, 113(4): pp. 623-634.
- Dima, J.B., De Vido, N.A., Leal, G.A., & Barón, P.J., 2009. Fluctuations in the biochemical composition of the Patagonian stone crab *Platyxanthus patagonicus* A. Milne Edwards, 1879 (Platyxanthidae: Brachyura) throughout its reproductive cycle. *Scientia Marina*, 73(3): pp. 423-430.
- Edwards, E., & Early, J.C., 1976. Catching, handling and Processing Crabs. FAO.Torry Research Station. Torry Advisory Notes 26: pp. 3-17.
- Einen, O., Guerin, T., & Skjervold, P.O., 2002. Freezing of pre-rigor fillets of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 212: pp. 129-140.
- Embarek, P. K., 1994. Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 23(1): pp. 17-34.
- Erdoğan F. and Balaban M. Ö., 2010. Mathematical Modelling of Shrimp Cooking, Chapter 21 in *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications* (eds C. Alasalvar, F. Shahidi, K. Miyashita and U. Wanasundara), Wiley-Blackwell, Oxford, UK.



- Erdoğan F., 2010. Fundamental of Heat transfer in Food Processing. Chapter 3 in Farid M. Mathematical Modeling of Food Processing. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton FL. pp. 69-88.
- European Commission, 2005. Commission Regulation No 2074/2005 of 5 December 2005 laying down implementing measures for certain products under Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament. Official Journal of the European Commission. Annexe II, Section II, Chapter III. L338/36.
- FAO, 1994. Estadísticas de pesca: capturas y desembarques, 1994. Vol. 74: pp 678.
- FAO, 2003. Capture-Production 1950-2003. Fisheries Department, Fisheries Information, Data and statistic unit. Fishstat Plus. Universal Software for fisheries. (V 2.3).
- FAO, 2008. Capture-Production 1950-2008. Fisheries Department, Fisheries Information, Data and statistic unit. Fishstat Plus. Universal Software for fisheries (V 2.3).
- FDA, Food and Drug Administration, 2009. Food Code. US Department of Health and Human Services. -Management of Food Safety Practices. -Achieving Active Managerial Control of Foodborne Illness Riskactors <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/RetailFoodProtection>.
- Fennema, O., 1973. Nature of the freezing process. Chapter 4. In: O. Fennema, W.D. Powrie, and E.H. Marth (eds.), Low-temperature preservation of foods and living matter. Marcel Dekker, New York.
- Fenucci, J.L., & Boschi, E.E., 1975. Contribución al conocimiento biológico del cangrejo comercial de las aguas costeras de la provincia de Buenos Aires *Ovalipes trimaculatus* (De Haan) (Crustacea, Decapoda, Portunidae). Physis, secc. A, 34(89). pp 291-308, Buenos Aires.



- Fikiin, K.A., 1996. Generalized numerical modeling of unsteady heat transfer during cooling and freezing using an improved enthalpy method and quasi-one-dimensional formulation. *International Journal of Refrigeration*, 19 (2): pp. 132-140.
- Fikiin, K.A., 1998. Some general principles in modeling of unsteady heat transfer in two-phase multi-component aqueous food systems for product quality improvement. In B. M. Nicolai, J. De Baerdemaeker (Eds.) *Food quality modelling*. Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- Fox, D. L., 1976. *Animal Biochromes and Structural Colours*. 2nd edition. Univ of California Press.
- Galetti, J.A., 2010. Mechanical processing of European green crab (*Carcinus maenas*), the development of a value-added product and the use of restructuring additives to increase the functional properties of green crab patties. Thesis for the Degree of Master of Science in Food Science and Human Nutrition at the University of Marine, Orono.
- Gallardo, J., & Montemayor, M., 1982. Métodos generales de análisis utilizados en el examen del pescado y productos pesqueros con referencia a su alteración. *Inf. Tecn. Inst Inv Pesq.*, 65: pp. 3-15.
- Gallardo, J.M., Perez-Martin, R., Franco, J.M., Aubourg, S., & Sotelo, C.G., 1990. Changes in volatile bases and trimethylamin oxide during the canning of albacore (*Thunnus alalunga*). *Int. J. Food Sci. and Technol.*, 25: pp. 78-81.
- Garthwaite, G.A., 1997. Chilling and freezing of fish. Chapter 4. In: G.M. Hall (ed.), *Fish processing technology*. 2nd edn. Blackie Academic and Professional, London.
- Gates, K., & Parker, A., 1992. Characterization of minced meat extracted from blue crab picking plant by-products. *Journal of Food Science*, 57: pp. 267-270.
- Gates, K., Parker, A.H., Bauer, D.L., & Wen Huang, Y., 1993. Storage Changes of Fresh and Pasteurized Blue Crab Meat in Different Types of Packaging. *Journal of Food Science* 58(2): pp. 314-317.



- Gillman, B.L., 2001. Development and characterization of pastas containing underutilized crab mince. Thesis for the Degree of Master of Science in Food Science and Human Nutrition at the University of marine, Orono.
- Gökođlu, N., & Yerlikaya, P., 2003. Determinaton of proximate composition and mineral contents of blue crab (*Callinectes sapidus*) and swim crab (*Portunus pelagicus*) caught off the Gulf of Antalya. Food Chemistry, 80(4): pp. 495-498.
- Gornik, S.G., Albalat, A., Atkinson, R.J.A., & Neil, D.M., 2009. Biochemical investigations into the absence of rigor mortis in the Norway lobster *Nephrops norvegicus*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 373: pp. 58-65.
- Goshima, S., Kanazawa, M., Yoshino, K., Wada, S., 2000. Maturity in male stone crab *Hapalogaster dentata* (Anomura: Lithodidae) and its application for fishery management. Journal of Crustacean Biology, 20(4): pp. 641-646.
- Groninger, H.S., & Dasow, J.A., 1964. Observations of the blueing of king crab, *Paralithodes camtschatica*. Fisheries Ind. Res. 2(3): pp. 47.
- Gruda, Z., & Postolski, J., 1986. "Tecnología de la congelación de los alimentos". Ed Acribia. España. Pag. 631.
- Gupta, K.C. & Jabrail, F.H., 2006. Glutaraldehyde and glyoxal cross-linked chitosan microspheres for controlled delivery of centchroman. Carbohydrate Research, 341(6): pp 744-756.
- Hackett, S.C., Krachey, M.J., Dewees, C.M., Hankin, D.G., & Sortais, K., 2003. Economic Overview of Dungeness crab Processing in California. CalCOFI Report, Vol. 44.
- Harrison, M.A. & Huang, Y.W., 1990. Thermal death times for *Listeria monocytogenes* (Scott A) in Crabmeat. Journal of Food Protection, 53: pp. 878-880.
- Hastings, R. J., Rodger, G. W., Park, R., Matthews, A. D., & Anderson, E. M., 1985. Differential scanning calorimetry of fish muscle – the effect of processing and species variation. Journal of Food Science, 50(2): pp. 503–504.



- Heldman, D.R., & Singh, R.P., 1981. Food process engineering. AVI Publishing Co., Westport, Connecticut.
- Hernández, I., 2004. Revisión bibliográfica: La Quitosana: Un Producto Bioactivo de Diversas Aplicaciones. Cultivos Tropicales, 25(3): pp. 97-110.
- Herrera-Andrade, M. H., Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Núñez-Gastélum, J. A., & Moreno-Ramos, O. H., 2011. Extracción de la astaxantina y su estabilidad. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales, 7(1): pp. 21-27
- Himelbloom, B.H., Rutledge, J.E., & Biede, S.L., 1983. Color changes in blue crab (*Callinectes sapidus*) during cooking. Journal of Food Science, 48: pp. 652-653.
- Hough, G., 2010. Cuadernillo del Curso-Taller de análisis sensorial de los alimentos. Capítulo: Análisis del consumidor. Dictado y otorgado en la Universidad Nacional de La Plata.
- Huss, H. H., 1997. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros. Rome: FAO. 274 Pag. Technical Paper-N° 334, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome.
- Huss, H. H., 1998. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Rome: FAO. 202 Pag. Technical Paper-N° 348, Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome.
- INFOPECA, 2006. Quitina y Quitosano. Revista Infopesca internacional. Vol. N°44.
- IRAM 15025. Sección 1:77. Productos de la industria pesquera. Método de determinación de las bases volátiles, por la técnica de Antonacopoulos.
- Jay, J., 2000. Food poisoning caused by gram-positive sporeforming bacteria. In Chapt. 24. Modern Food Microbiology, 6th edition, pp. 461 -484. Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- Jivoff, P., 1997. Sexual competition among male blue crab, *Callinectes sapidus*. Biol. Bull., 193: pp. 368-380.



- Jul, M. 1984. The quality of frozen foods. Academic Press, Orlando, Florida. 292p.
- Kaushik, S.J., 2000. Factores que afectan la excreción nitrogenada en teleósteos y crustáceos. Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18. La Paz, B.C.S., México, pp. 237-250.
- Kivançli Jimenez Martinez, M. R., 2007. Efecto de la atmósfera modificada y del vacío parcial en la calidad de langostinos pasteurizados. Tesis Master en Alimentos. Universidad Politécnica de Cataluña.
- Kolbe & Kramer, 2007. Planning for Seafood Freezing. Alaska Sea Grant College. Program. University of Alaska, Fairbanks. ISBN 1-56612-119-1
- Küçükgülmez, A., Çelik, M., Yanar, Y., Ersoy, B., & Çikrikçi, M., 2006. Proximate composition and mineral contents of the blue crab (*Callinectes sapidus*) breast meat, claw meat and hepatopancreas. International Journal of Food Science & Technology, 41(9): pp. 1023-1026.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: pp. 680-685.
- Lasta, M., Ciocco, N.F., Bremec, C., & Roux, A., 1998. Moluscos bivalvos y gasterópodos. En: "El Mar Argentino y sus recursos Pesqueros" 2: pp. 115-142, (Boschi, Ed.), INIDEP, Mar del Plata.
- Leal, G., Berzón J.P., & Barón P.J., 2003. Análisis del rendimiento en carne del cangrejo volador *Ovalipes trmaculatus*. XXIII Congreso de Ciencias del Mar. Punta Arenas (Chile), 5/2003.
- Leal, G.A., Dima, J.B., Dellatorre, F.G., & Barón, P.J., 2008. Schedule of the reproductive events and maturity at size of the Patagonian stone crab *Platyxanthus patagonicus* (Brachyura, Platyxanthidae). Journal of Crustacean Biology 28(2): pp. 262-269.
- Li, C.-T., 2006. Myofibrillar protein extracts from spent hen meat to improve whole muscle processed meats. Meat Science, 72 (3): pp. 581–583.



- Lovrich, G.A., 1997. La pesquería mixta de las centollas *Lithodes santolla* y *Paralomis granulosa* (Anomura: Lithodidae) en Tierra del Fuego, Argentina. Invest. Mar., Valparaíso, 25: pp. 41-57.
- Mannapperuma, J.D., & Singh, R.P., 1988. Prediction o freezing and thawing times of foods using a numerical method based on enthalpy formulation. *Journal of Food Science*, 53: pp. 626-630.
- Mannapperuma, J.D., & Singh, R.P., 1989. A computer–aided method for prediction of properties and freezing/ thawing times of foods. *Journal of Food Engineering*, 9: pp. 275-304.
- Mármol, Z., Gutiérrez, E., Páez, G., Ferrer, J., & Rincón., M., 2004. Desacetilación termoalcalina de quitina de conchas de camarón. *Multiciencias*, 4(2): pp. 91-95.
- Martens, H., Wood, L., & Martens, M., 1982. Texture and color changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. *Journal of Texture Studies*, 13: pp. 341-345.
- McNaughton, J. L., Mortimer, C.T., 1975. *Differential Scanning Calorimetry*, Perkin Elmer Corporation, Connecticut, USA.
- Miles, C. A., Van Beek, G., & Veerkamp, C. H., 1983. Calculation of the Thermophysical Properties of Foods. In R. Jowitt et al. *Physical Properties of Foods* (Eds.), pp. 269-312. London: Appl. Sci. Publ.
- Miller, R.J., 1976. North American crab fisheries: regulations and their rationales. *Fishery Bulletin*, Vol: 74(3).
- Mizuta, S., Kobayashi, Y., & Yoshinaka, R., 2001. Chemical and Histological Characterization of Raw Muscle from Soft and Hard Crabs of Snow Crab *Chionoecetes opilio*. *Journal of Food Science*, 66(2): pp. 238-241.
- Mohan, C.O., Ravishankar, C.N., Bindu, J., Geethalakshimi, V., & Srinivasa Gopal, T.K., 2006. Effect of Thermal Process Time on Quality of “Shrimp Kuruma” in retortable Pouches and Aliminum Cans. *J.Food Sci.*, 71(6): pp. 496-500.



- Mohsenin, N.M., 1980. Thermal properties of food and agricultural materials. Gordon and Breach science Publishers, New Cork.
- Mokhtar, A.S., Abbas, K.A., Megat Ahmad, M.M.H., 2004. Explicit finite difference solution of heat transfer problems of fish packages in precooling. American Journal of Applied Sciences, 1: pp. 115-120.
- Moody, M.W., 1982. Zoonotic diseases. Proceedings of the blue crab colloquium, 16-19 October, Biloxi, Mississippi. Gulf States. Pages 65-69.
- Morillo, N., Rondon, I., Valero, K., & Uzcátegui, S., 2007. Bacterias patógenas en carne de cangrejo comercializado fresco y pasteurizado. Maracaibo, Venezuela. Rev. Cient. FCV-LUZ XVII (3): pp. 288-293.
- Morrison, G.S., & Veitch. F.P., 1957. An investigation of the chemistry of texture changes of frozen blue crab meat. Commer. Fish. Rev., 19(10): pp. 1-5.
- Mossell, D.A., & Moreno Garcia, B., 1982. Microbiología de los alimentos. Primera edición española. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Motohiro, T., 1982. The effect of heat processing on color characteristics in crustacean blood. Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products, pp. 405-413.
- Murakami, E.G., 1994. Thermal Processing Affects Properties of Commercial Shrimp and Scallops. Journal of Food Science, 59(2): pp. 237.
- Murphy, R.Y., Marks, B.P., & Marcy J.A., 1998. Apparent specific heat of chicken breast patties and their constituent proteins by Differential Scanning Calorimetry. Journal of Food Science, 63: pp 88-91.
- Naczk, M., Williams, J., Brennan, K., Liyanapathirana, C., & Shahidi. F., 2004. Compositional characteristics of green crab (*Carcinus maenas*). Food Chemistry, 88: pp. 429-434.
- Neeper, D. A., 2000. Thermal dynamics of wallboard with latent heat storage. Solar Energy, 68(5): pp. 393-403.



- Nesvadba, P., 2004. Data base of physical properties of agro-food materials. J. of Food Engineering, 61: pp. 497-503.
- No, H., & Storebakken, T., 1991. "Color stability of Rainbow Trout fillets during frozen storage". J. Food Science, 56(4): pp. 969-984.
- Normas COVENIN de Venezuela. www.sencamer.gob.ve.
- Ogawa, M., Alves, T.T., Caland-Noronha, M.C., Araripe, C.A.E., & Maia, E.L., 1973. Industrialização do caranguejo Uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus). I. Técnicas para o processamento da carne. Arq. Ciên. do Mar, 13: pp. 31-37.
- Olivier, S. R., Kreibhon de Paternóster, I., & Bastida, R., 1966. Estudios biocenóticos en las costas de Chubut (Argentina) I. Zonación biocenológica de Puerto Pardelas (Golfo Nuevo). Boletín del Instituto de Biología Marina (Mar del Plata) N°10: 74p.
- Oshiro, L. M. Y., 1999. Aspectos reproductivos do caranguejo guaia, *Menippe nodifrons* Stimpson (Crustacea: Decapoda: Xanthidae) da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, Brasil. Revista Brasileira de Zoología, 16: pp. 827–834.
- Oshiro, L.M.Y., Silva, R., & Silveira, C.M., 1999. Rendimento de carne nos caranguejos Guaiá, *Menippe nodifrons* Stimpson, 1859 e Guaiamum, *Cardisoma guanhuimi* Latreille, 1825 (Crustacea, Decapoda, Brachyura) da Baía de Sepetiba/RJ. Acta Biol. Leopoldensia, 21(1): pp. 83-88.
- Osterling, M., 2000. Biology of certain commercial crustaceans: crabs. In Chapt. 2 "Marine and freshwater products handbook": pp. 167-177. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.
- Parada, L. G., Crespín G. D, Miranda R. e Issa Katime. 2004. Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica. Revista Iberoamericana de Polímeros, 5(1). ISSN-e 0121-6651.
- Paredi, M.E., Tomas, M., De Vido de Mattio, N., Crupkin, M., & Añón, M.C., 1994. Thermal Denaturation of *Aulacomya ater ater* (Molina) Myofibrillar Proteins: A



Differential Scanning Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(4): pp. 873-877.

- Paredi, M.E., Tomas, M.C., Añon, M.C., & Crupkin, M., 1998. Thermal Stability of Myofibrillar Proteins from Smooth and Striated Muscles of Scallop (*Chlamys tehuelchus*): A Differential Scanning Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: pp. 3971-3976.
- Parisenti, J., Beirao, L.H., Mourino, J.L., Vieira, F., Buglione, C.C., & Maraschim, M., 2011. Effect of background color on shrimp pigmentation. *Bol. Inst. Pesca*, 37(2): pp. 177-182.
- Park, J.W., & Lanier, T.C., 1989. Scanning calorimetric behaviour of tilapia myosin and actin due to processing of muscle and protein purification. *Journal of Food Science*, 54: pp. 49-51.
- Parry, R.T., 1995. *Envasado de los alimentos en atmósfera modificada*. Ed. A. Madrid Vicente.
- Pham Q.T., 2012. Mathematical Modeling of Freezing Processes Chapter 7, in Sun D.W. (ed) *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*, Second Edition, CRC Taylor and Francis Group, Boca Raton-London-New York, pp.147-186.
- Pham, Q.T., 1995. Comparison of general purpose finite element methods for the Stefan problem. *Numerical Heat Transfer Part B –Fundamentals* 27:pp. 417-435.
- Pham, Q.T., 2008. Modelling of freezing processes. In J. Evans, *Frozen Food Science and Technology*, Blackwell Publishing, Oxford.
- Procópio de Moura, A.F., Del Ben Mayer, M., Landgraf, M & Tenuta Filho, F., 2003. Qualidade química e microbiológica de camarão-rosa comercializado em São Paulo. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 39(2): pp. 204-208.
- Quitral-Robles, V., Abugoch, L.J., Vinagre, J.L., A., Guarda, M.A., Larraín, M.A., & Santana, G.R., 2003. Efecto de tratamientos térmicos sobre las características



químicas de jaiba mora (*Homalaspis plana*). Archivos Latinoamericana de Nutricion 53(1): pp. 90-95.

- Radhakrishnan, S., 1997. Measurement of thermal properties of seafood. Thesis submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University for the degree of Masters of Science in Biological Systems Engineering.
- Rahman, M.S., 1993. Specific heat of selected fresh seafood. Journal of Food Science. 58(3): pp. 522-524.
- Rattanasatheirn, N., Benjakul, S., Visessanguan, W., & Kijroongrojana, K., 2008. Properties, Translucence, and Microstructure of Pacific White Shrimp Treated with Mixed Phosphates as Affected by Freshness and Deveining. Journal of Food Science, 73(1): pp. 31-40.
- Rebach, S., Stribling, J., & Wilber, M., 1990. Frozen storage quality changes in whole Jonah crabs. Journal of Food Quality, 13(3): pp. 203–208.
- Renzulli, P., & Collins P., 2000. Influencia de la temperatura en el crecimiento del cangrejo *Trichodactylus borellianus*. FABICIB, 4: pp. 129-136.
- Requena, D.D., Hale, S.A., Green, D.P., Madure, W.S., & Farkas, B.E., 1999. Detection of discoloration in thermally processed blue crab meat. Journal Science of Food Agriculture, 79(5): pp. 786-791.
- Restrepo, V.P., 1992. A mortality model for a population in which harvested individuals do not necessary die: The stone crab. Fish Bull., 90(2): pp. 412-416.
- Reyes Canino, R., Siam, C., Jiménez Hurtado, E., 2003. La producción de jaiba suave y su incidencia en la sostenibilidad de la biodiversidad en la costa norte de Villa Clara. Presentado en el XIII Forum de Ciencia y Técnica, Cuba. <http://hdl.handle.net/1834/4183>.
- Rosas, C., Gaxiola, G., & Sánchez, A., 2000. El metabolismo del nitrógeno y su relación con los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos. Avances



en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18. La Paz, B.C.S., México, pp. 166-186.

- Rosenberg, M.S., 2001. The systematics and taxonomy of fiddler crabs: a phylogeny of the genus *Uca*. *Journal of Crustacean Biology*, 21(3): pp. 839-869.
- Rosenfield, A., 1998. Preface: The blue crab fisheries of North America. Research, conservation, and management. *J. Shellfish Res.* 17(2):367p.
- Ross, Y.H., 1986. Phase Transitions and Unfreezable Water Content of Carrots, Reindeer Meat and White Bread Studied using Differential Scanning Calorimetry. *Journal of Food Science* 51(3): pp 684-686.
- Sá M., Figueiredo A. M., Correa A., & Sereno A. M., 1994. Apparent heat capacities, initial melting points and heats of melting of frozen fruits measured by differential scanning calorimetry. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 34 (2): pp. 202-209.
- Sachindra, N.M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N.S., 2006. Recovery of carotenoids from shrimp waste in organic solvents. *Waste Management*, 26: pp. 1092-1098.
- Santos, M.V., & Lespinard, A., 2011. Numerical simulation of mushrooms during freezing using the FEM and an enthalpy: Kirchhoff formulation. *Heat and Mass Transfer*, 47: pp. 1671-1683.
- Santos, M.V., Vampa, V., Califano, A., & Zaritzky, N., 2010. Numerical simulations of chilling and freezing processes applied to bakery products in irregularly 3D geometries. *Journal of Food Engineering*, 100: pp. 32-42.
- Santos, M.V., Zaritzky, N., & Califano A., 2010a. Numerical simulations of chilling and freezing processes applied to bakery products in irregularly 3D geometries. *Journal of Food Engineering*, 100: pp. 32-42
- Santos, M.V., Zaritzky, N., & Califano A., 2010b. A control strategy to assure safety conditions in the thermal treatment of meat products using a numerical algorithm.



Food Control 21(2), pp. 191-197.

- Scheerlinck, N., Fikiin, K.A., Verboven, P., De Baerdemaeker, J., & Nicolai, B.M., 1997. Solution of phase change heat transfer problems with moving boundaries using an improved finite element enthalpy method. In R. Van Keer, C. A. Brebbia (Eds.) Moving boundaries IV: Computational modelling of free and moving boundary problems: pp. 75-85.
- Scheerlinck, N., Verboven, P., Fikiin, K.A., De Baerdemaeker, J., & Nicolai, B.M., 2001. Finite element computation of unsteady phase change heat transfer during freezing or thawing of food using a combined enthalpy and Kirchhoff transform method. Transactions of the ASAE, 44(2): pp. 429-438.
- Segerlind, L.J., 1984. Applied Finite Element Analysis, 2nd ed. John Wiley and Sons, New York.
- SEMARNAP, 1999. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Anuario Estadístico de Pesca. SEMARNAP. MÉXICO. www.semarnap.gov.mx.
- SENASA Argentina (Servicio Nacional de Sanidad Animal, dependiente de la Secretaría de Agricultura Ganadería y Pesca). Decreto N°4238/68. Capítulo XXIII. Productos de la Pesca. www.senasa.gov.ar.
- Senkel, A., Jolbitado, B., Butler, E., Rippen, T., 2005. A comparison of different processing methods for picked blue crab (*Callinectes sapidus*). Journal of Food Protection. 68(2): pp. 360-365.
- Shewan, J. M., 1962. Food poisoning caused by fish and fishery products. In: Borgstrom, G. Fish as food. New York: Academic Press. 2: pp. 443-460.
- Siam Lahera, C., 2011. Relación largo propodo-peso de quela de cangrejo moro *Menippe mercenaria* como un indicador para calcular la talla mínima de quela. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras, 28(1): pp. 7-11.



- Skipnes, D., Van Der Plancken, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M.E., 2008. Kinetics of heat denaturation of proteins from farmed Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Engineering*, 85: pp. 51-58.
- Skonberg, D.I., & Perkins, B.L., 2002. Nutrient composition of green crab (*Carcinus maenus*) leg meat and claw meat. *Food Chemistry*, 77(4): pp. 401-404.
- Smith, B.D., & Jamieson, J.S., 1991. Possible consequences of intensive fishing for males on the mating opportunities of Dungeness Crabs. *Transactions of the American Fisheries Society*, 140(5): pp. 650-653.
- Solano, F., 2006. Aspectos pesqueros biológicos y socioeconómicos de la captura de cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*) en los manglares de Ecuador. Instituto Nacional de Pesca. Guayaquil –Ecuador.
- Spivak, E., 1997. Cangrejos estuariales del Atlántico sudoccidental (25°-41°S) (Crustacea: Decapoda: Brachyura). *Invest. Mar. Valparaíso*, 25: pp. 105-120.
- Stephenson, W., & Rees, M., 1968. A revision of the genus *Ovalipes* Rathbun 1898 (Crustacea, Decapoda, Portunidae). *Records of the Australian Museum*, 27: pp. 213-255.
- Strasser, J.H., Lennon, J.S., & King, F.J., 1971. Blue crab meat-2: Effect of Chemical Treatments on Acceptability. United States Department of Commerce, National Marine Fisheries Service. Special Report, N°630.
- SUBPESCA, 2007. Subsecretaria de Pesca. Análisis de la pesquería de jaiba en los principales centros de desembarque a nivel regional. Informe Técnico N°3. Instituto de Fomento Pesquero. Chile. www.subpesca.cl.
- Sumpton, W., 1990. Biology of the Rock Crab *Charybdis Natator* (Herbst) (Brachyura: Portunidae). *Bulletin of Marine Science*, 46(2): pp. 425-431.
- Sweat, V.E., 1975. Modeling the thermal conductivity of meats. *Transactions of the ASAE*, 18(3): pp. 564-568.



- Sweat, V.E., 1986. Thermal properties of foods. Chapter 2 in engineering properties of foods. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Thoma, B. P. & Fólter, D. L., 2012. Review of the family Platyxanthidae Guinot, 1977 (Crustacea, Decapoda, Brachyura, Eriphioidea), with the description of a new genus and a key to genera and species. Zootaxa, 3498: pp 1-23.
- Tornberg, E., 2005. Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. Meat Science, 70(3): pp. 493-508.
- Trenholm, R., 1998. The development of a pasteurization process for ready to serve refrigerated rock crab (*Cancer irroratus*) meat. Thesis submitted to the Faculty of Graduate Studies in partial fulfillment of the requirements of the degree of Masters of Science. Department of Biochemistry. Memorial University of Newfoundland.
- Tsaih, M.L., & Chen, R.H., 2003. The effect of reaction time and temperature during heterogenous alkali deacetylation on degree of deacetylation and molecular weight of resulting chitosan. J. Appl. Polym. Sci., 88: pp. 2917-2923.
- Tsung Yen, M., Hwa Yang, J., & Leun Mau, J., 2008. Antioxidant properties of chitosan from crab shells. Carbohydrate Polymers, 74(4): pp. 840-844.
- Tsung Yen, M., Hwa Yang, J., Leun Mau, J., 2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells Carbohydrate Polymers, 75 (1): pp. 15-21.
- Velasquez, C., 2008. Some potentialities of chitin and chitosan for uses related to agriculture in Latin America. Revista UDO Agrícola, 8(1): pp. 1-22.
- Vilasoa-Martinez, M., Lopez-Hernandez, J., & Lage-Yusty, M.A., 2007. Protein and amino acid contents in the crab, *Chionoecetes opilio*. Food Chemistry, 103: pp. 1330-1336.
- Wagner, J.R., & Añon, M.C., 1985. Denaturation kinetics of myofibrillar proteins in bovine muscle. Journal of Food Science, 50: pp. 1547-1550.
- Ward, D.R., Nickelson, R., Finne, G., & Hopson, J., 1983. Processing



Technologies and Their Effects on Microbiological Properties, Thermal Processing Efficiency, and Yield of Blue Crab. *Marine Fisheries Review*, 45: pp. 7-9.

- Weast, R. C., y Astle, M.J., 1981. *Handbook of chemistry and physics*. 63 Ed. Boca Raton, Florida: CRC press.
- Wyngaard, J., Iorio, M.I., & Boschi, E.E., 2001. ¿Es viable una pesquería de cangrejos en la Argentina? Informe Técnico 101- INIDEP. 9 p.
- Yomar-Hattori, G., Sampaio-Santanna, B., & Amaro-Pinheiro, M. A., 2006. Meat yield of *Callinectes bocourti* A. Milne Edwards, 1879 (Crustacea, Portunidae) in Iguape, São Paulo, Brazil. *Invest. Mar.*, 34(2): pp. 231-236.
- Yoon, W.B., Gunasekaran, S., & Parker J.W., 2004. Characterization of Thermorheological Behavior of Alaska Pollock and Pacific Whiting Surimi. *Journal of Food Science*, 69(7): pp. 338-343.
- Zaritzky, N., 1997. Temas en tecnología de alimentos, Volumen 1. Capítulo 4: Congelación de alimentos. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. CYTED.
- Zaritzky, N.E., 2000. Factors affecting the stability of frozen foods, in: Kennedy, C. J. (Ed.) *Managing. Frozen Foods*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, England, pp.111-133.
- Zaritzky, N.E., 2011. Physical-Chemical Principles in Freezing. Second Edition Chapter 1, in Sun D.W. (Ed). *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*, Second Edition, CRC Taylor and Francis Group, Boca Raton-London-New York, pp. 3-38.
- Zayas, J., 1997. *Functionality of Proteins in Food*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York: pp. 6-13.
- Zhang, J., Farkas, B.E., & Hale, S.A., 2002. Precooking and cooling of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*): A numerical simulation. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie*, 35: pp. 607-616.



- Zienkiewicz, O.C., & Taylor, R.L., 1994a. El método de los elementos finitos, volumen I. McGraw-Hill, Barcelona.
- Zienkiewicz, O.C., & Taylor, R.L., 1994b. El método de los elementos finitos, volumen II. McGraw-Hill, Barcelona.
- Zugarramurdi, A., Parin, M.A., Gadaleta, L., Carrizo, G., Montecchia, C., Boeri, R., & Giannini, D., 2003. Seasonal Variation in Condition Factor, Gonadosomatic Index and Processing Yield of Carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Aquatic Food Product Technology, 12(2): pp. 33-45.