

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD Y VIDA ÚTIL DE BACALAO AHUMADO OBTENIDO POR UN NUEVO MÉTODO



MÁSTER EN GESTIÓN Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

Alejandro Tamarit Agudo

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD Y VIDA ÚTIL DE BACALAO AHUMADO OBTENIDO POR UN NUEVO MÉTODO

Alejandro Tamarit Agudo¹; Isabel Fernández Segovia¹; Ana Fuentes López¹; Arantxa Rizo Párraga¹

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un nuevo método de salado-ahumado empleando bolsas permeables al vapor de agua en la calidad y vida útil de bacalao ahumado. Para ello se llevó a cabo un proceso de salado-ahumado en bolsas permeables al vapor de agua empleando dos temperaturas de procesado (5 y 10°C). Se realizaron análisis físico-químicos y microbiológicos a intervalos periódicos durante 40 días de almacenamiento en refrigeración. Los valores de humedad, a_w y contenido en NaCl obtenidos fueron similares a los del bacalao ahumado comercial disponible actualmente en el mercado. Las bolsas permeables al vapor de agua permitieron la evaporación del exudado durante el proceso de salado-ahumado. Los valores de nitrógeno básico volátil total (NBVT) y de trimetilamina (TMA) se vieron afectados por la temperatura de salado-ahumado, así como por el tiempo de almacenamiento. Según los valores obtenidos para ambos parámetros, el bacalao ahumado obtenido a 10°C mostró deterioro desde el comienzo del estudio de almacenamiento, mientras que en el bacalao ahumado a 5°C, el deterioro no se hizo patente hasta el día 21 de almacenamiento. Los recuentos microbiológicos fueron mayores para las muestras procesadas a 10°C, las cuales superaron los límites de aceptación establecidos para mesófilos y enterobacterias desde el comienzo del estudio (día 0). Sin embargo, las muestras procesadas a 5°C superaron estos límites el día 40. Estos resultados ponen de manifiesto que el proceso de salado-ahumado a 10°C no fue adecuado para la obtención de bacalao ahumado, de ahí la importancia de realizar el salado-ahumado a temperaturas de refrigeración de 5°C como máximo. Este nuevo método podría ser de interés para el sector industrial, ya que permite obtener bacalao ahumado minimizando la manipulación y reduciendo etapas en el procesado, así como residuos de salmuera.

RESUM

L'objectiu d'aquest estudi va ser avaluar l'efecte d'un nou mètode de salat-fumat emprant bosses permeables al vapor d'aigua en la qualitat i vida útil d'abadejo fumat. Per això, es va dur a terme un procés de salat-fumat en bosses permeables al vapor d'aigua emprant dos temperatures de processat (5 i 10°C). Es van realitzar anàlisis físicoquímics i microbiològics en intervals periòdics durant 40 dies d'emmagatzemament en refrigeració.

¹ Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain

Els valors d'humitat, a_w i contingut en NaCl obtinguts van ser semblants als de l'abadejo fumat comercial disponible actualment en el mercat. Les bosses permeables al vapor d'aigua van permetre l'evaporació de l'exudat durant el procés de salat-fumat. Els valors de NBVT i TMA es van veure afectats per la temperatura de salat-fumat, així com pel temps d'emmagatzemament. Segons els valors obtinguts per estos paràmetres, l'abadejo fumat obtés a 10°C va mostrar deteriorament ja al començament de l'estudi, mentre que en l'abadejo fumat a 5°C, el deteriorament no es va fer patent fins al 21 dia d'emmagatzemament. Els recomptes microbiològics van ser majors per les mostres processades a 10°C, les quals van superar els límits d'acceptació establerts per a mesòfils i enterobacteries des de l'inici de l'estudi (dia 0) . No obstant això, les mostres processades a 5°C van superar estos límits el dia 40. Aquests resultats posen de manifest que el procés de salat-fumat a 10°C no va ser adequat per l'obtenció d'abadejo fumat, per això la importància de realitzar el salat-fumat a temperatures de refrigeració per 5°C com a màxim. Aquest nou mètode podria ser d'interès per al sector industrial, ja que permet obtenir abadejo fumat minimitzant la manipulació i reduint etapes en el processat, així com residus de salmorra.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of a new smoking-salting method employing water vapor permeable bags on the quality and shelf-life of smoked cod. For this purpose a smoking-salting process was carried out in water vapour permeable bags using two processing temperatures (5 and 10 °C). Physicochemical and microbiological analyses were periodically carried out during the 40 days of cold storage of the smoked product. The values of moisture, a_w and NaCl obtained were similar to those of commercial smoked cod currently available on the market. The water vapor permeable bags enabled the evaporation of the exudate during the salting-smoking. The volatile basic nitrogen (TVB-N) and trimethylamine nitrogen (TMA) values were affected by the temperature of salting-smoking, as well as the storage time. According to the values obtained for both parameters, the smoked cod obtained at 10 °C showed spoilage from the beginning of the storage study, whereas the smoked cod at 5 °C, spoilage was not evident until day 21 of storage. Microbiological counts were higher for samples processed at 10 °C, which exceeded the acceptable limits set for mesophilic and enterobacteriaceae from the beginning of the study (day 0). However the samples processed at 5 °C exceeded these limits by day 40. These results showed that the salting-smoking at 10 °C was not suitable for obtaining smoked cod, hence the importance of conducting the salting-smoking at refrigeration temperatures of 5 °C maximum. This new method could be of interest to the industry as it enables smoked cod to be produced, minimizing handling as well as reducing processing steps and brine wastes.

PALABRAS CLAVES: bacalao, salado-ahumado, bolsas permeables al vapor de agua, vida útil, humo líquido.

1. INTRODUCCIÓN

El ahumado es un método de conservación de pescado que se conoce desde la antigüedad. En la cultura nórdica el ahumado de pescado es un proceso practicado tradicionalmente, debido a las condiciones climáticas del lugar (tiempos nublados y lluviosos) que dificulta el secado por acción del sol. En cambio, en la cultura mediterránea existe gran tradición en el consumo de productos en salazón, gracias a las condiciones climáticas que favorecen el secado del pescado (Gallart et al., 2005).

En la actualidad, el ahumado más que un sistema de conservación se ha convertido en un proceso por el que se incorporan al pescado unas características sensoriales altamente valoradas por el consumidor, constituyendo las industrias de ahumado un 30% del sector de transformación de la pesca marina (Fuentes et al., 2007).

El proceso de ahumado incluye diferentes etapas, como las de salado y secado, que provocan en el pescado una reducción del contenido de humedad y un aumento en su contenido de sal, que se traduce en una serie de cambios que permiten retrasar los procesos microbiológicos y oxidativos causantes del deterioro, extendiendo así la vida útil del pescado.

En este tipo de productos, las condiciones y prácticas higiénicas asociadas al personal y los equipos influyen en gran medida sobre la microbiota presente en el producto final y el crecimiento de microorganismos patógenos (FDA, 2001). Por consiguiente, para obtener una calidad higiénica adecuada y garantizar la seguridad del consumidor, la industria debe ejercer un control estricto en las condiciones de procesado y manipulación. Por dicho motivo, el desarrollo de nuevas técnicas de procesado que permitan la mejora de la calidad higiénica son de gran interés para este sector.

En los últimos años, han empezado a comercializarse nuevos materiales realizados a partir de polímeros altamente permeables al vapor de agua. Actualmente, existen pocos estudios sobre su aplicación en alimentos, centrándose exclusivamente en la maduración de productos cárnicos (Ahnström et al., 2006; Dikema, et al., 2013; Li et al., 2013). Este tipo de envases ofrece la posibilidad de realizar operaciones de secado mientras el alimento está envasado, disminuyendo así los peligros microbiológicos y físicos asociados a dicha etapa.

Recientemente, se ha desarrollado un nuevo método para la producción de salmón ahumado basado en el uso de bolsas permeables al vapor de agua (Mañes, 2013). Dicho método consiste en un salado-ahumado simultáneo realizado dentro de estas bolsas, el cual tiene lugar en una sola etapa bajo condiciones controladas de temperatura y humedad. El salado de las muestras se realiza dosificando la cantidad necesaria de sal para alcanzar la concentración óptima, y la aplicación de humo líquido proporciona el sabor a humo típico de este tipo de productos.

Mediante esta nueva metodología, es posible la obtención de salmón ahumado con características similares a los productos comerciales y de buena calidad higiénica durante un periodo de almacenamiento de más de 40 días. Por lo tanto, este nuevo método podría sustituir a los procesos tradicionales de ahumado, ya que no afecta a las características

fisicoquímicas ni a la aceptación por parte del consumidor, permite minimizar la manipulación del pescado y los residuos de salmuera, así como reducir etapas de procesado (Mañes, 2013; Meeus, 2013). Por este motivo, es de interés, el estudio de la aplicación de este nuevo método en otras especies de pescado como el bacalao.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de este nuevo método de salado-ahumado empleando bolsas permeables al vapor de agua en la calidad y vida útil de bacalao ahumado.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Materia prima

La materia prima empleada en el presente estudio fueron lomos de bacalao congelado (*Gadus morhua*) capturados en aguas del Atlántico Noroeste (FAO 27) de calibre 1.0-1.2 kg y envasados por Alimentos Priorizados S.A. (Barcelona, España). Dichos filetes se compraron en un supermercado de Valencia (España). Antes del procesado, los filetes fueron descongelados a 4°C durante 24h. Para el estudio completo se emplearon un total de 10 lomos de bacalao. Se realizó una caracterización físico-química y microbiológica de la materia prima, paralelamente al proceso de ahumado.

La sal (NaCl) utilizada en el proceso fue suministrada por Panreac Química, S.A (Barcelona, España). Se empleó humo líquido HARDWOOD AFS 10 (Amcan Ingrédients Ltd., Le Chesnay, Francia), constituido por una disolución acuosa de aroma natural de humo procedente de la pirólisis de nogal, arce y otras maderas nobles. Las bolsas permeables al vapor de agua empleadas para realizar el estudio fueron suministradas por TUB-EX Aps (Taars, Dinamarca) (tamaño: 200x300x0.04mm; velocidad de transmisión del vapor de agua: 5000g/50µ/m²/24h, 38°C/50% HR).

2.2 Diseño experimental

Los filetes de bacalao fueron cortados en porciones de 4 cm obteniendo, de esta forma, un total de 48 porciones (4-5 porciones por cada filete de bacalao)

Las porciones de bacalao fueron sometidas a un proceso simultáneo de salado-ahumado (Figura 1), siguiendo un procedimiento desarrollado en un estudio previo en nuestro laboratorio (McDonagh, 2014). Las porciones de pescado fueron pulverizadas con humo líquido diluido en agua (70% (v/v)) durante 30 s y se salaron de manera controlada, dosificando una cantidad de sal previamente establecida sobre la superficie del pescado (2 g sal/100 g bacalao fresco), con el fin de obtener valores de a_w , contenido en sal y humedad similares a los del bacalao ahumado comercial (Fuentes et al., 2010a; Karásková et al., 2011; McDonagh, 2014).

Las porciones de bacalao con la sal y el humo se envasaron a vacío en bolsas altamente permeables al vapor de agua utilizando una envasadora

(Tecnotriop EV-25-CD, Barcelona, España). Cabe destacar que el envasado a vacío sólo se empleó con el fin de asegurar un buen contacto entre el pescado y el material de envasado, ya que el vacío no se mantiene a lo largo del proceso, debido a la permeabilidad de la bolsa. A continuación, las porciones de bacalao se dividieron en 2 grupos que serían procesados a diferentes temperaturas (5°C y 10°C). El salado-ahumado de las porciones de bacalao se llevó a cabo en una cámara de secado (Binder mod. KBF. Tuttlingen, Alemania) a un 60% de humedad relativa durante 96 h.

Finalizado el proceso, las porciones de bacalao se sacaron de las bolsas y se introdujeron en una salmuera saturada en agitación constante durante 30 s, para eliminar los restos de sal que hubieran podido quedar adheridos a la superficie. Posteriormente, las muestras se secaron con papel absorbente, se pesaron y se dejaron en reposo durante 24 h a 4 °C, con el fin de permitir la difusión de la sal absorbida dentro del tejido del pescado y así obtener una distribución más homogénea de la sal dentro de las piezas. Por último, los filetes fueron envasados a vacío usando bolsas de alta barrera y fueron almacenados a 4°C durante 40 días. El bacalao ahumado obtenido fue caracterizado a través de análisis de humedad, contenido en cloruro sódico, pH y a_w . Se realizaron análisis microbiológicos y físico-químicos los días 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 40 de almacenamiento. Cada día de muestreo se analizaron 6 muestras, 3 muestras para cada condición de temperatura (5°C y 10°C) (n=3). Los análisis se realizaron por duplicado para cada muestra, excepto para el pH, que se midió por quintuplicado.

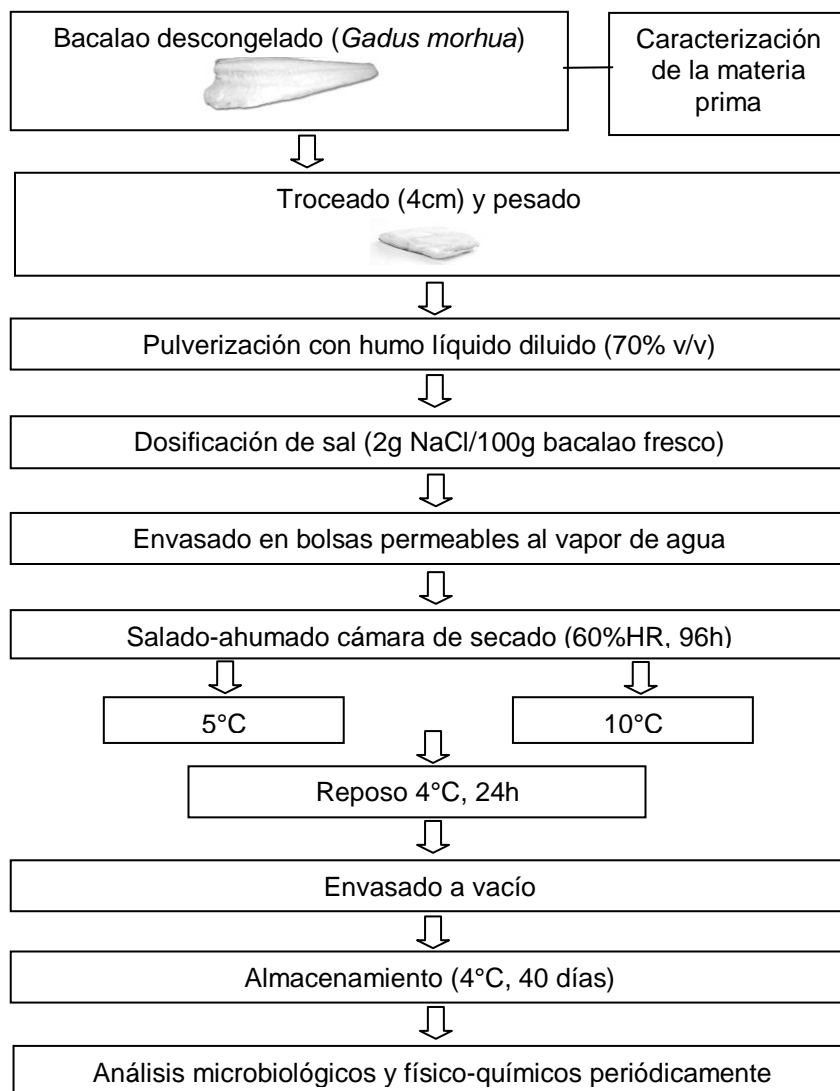


FIGURA 1. Diseño experimental

2.3 Determinaciones analíticas

La determinación del contenido de humedad se realizó siguiendo el procedimiento 950.46 descrito por la AOAC (AOAC, 1997). El pH se midió directamente sobre las porciones de pescado empleando un pH-metro con electrodo de punción (Crison Basic 20+, Crison Instruments, Barcelona, España), tomando lecturas en 5 puntos diferentes de cada muestra. Para la determinación del valor de a_w se empleó un higrómetro de punto de rocío (GBX scientific FA-st/lab, Cédex, Francia). El contenido en cloruro sódico se determinó según el procedimiento descrito por Fuentes et al. (2010b) empleando un analizador automático de cloruros Sherwood mod. 926 (Sherwood Scientific Ltd., Cambridge, Reino Unido). El contenido en nitrógeno básico volátil total (NBVT) y nitrógeno de trimetilamina (TMA) fueron analizados según el método descrito por Malle & Tao (1987).

La variación de masa total de cada una de las porciones de bacalao durante el proceso de salado (ΔM_t) se calculó a partir del peso inicial de la

muestra de pescado (M_0) y el peso al finalizar el procesado (M_t) mediante la ecuación 1.

$$\Delta M_t = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \quad (1)$$

La determinación de color se realizó en la superficie de los filetes de bacalao. Se usó un fotocolorímetro Minolta CM-700-d (Minolta, Osaka, Japón), con un observador 10° e iluminante D65. La muestra se cubrió con vidrio óptico de baja reflectancia CR-A5/1829-752M para evitar el deterioro de la esfera. El color se determinó a partir de las coordenadas colorimétricas del sistema CIE $L^*a^*b^*$: L^* (luminosidad), a^* (desviación hacia el rojo y el verde) y b^* (desviación hacia el amarillo y el azul). Se calcularon las magnitudes psicofísicas de tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*), mediante las ecuaciones 2 y 3, respectivamente.

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

$$h_{ab}^* = \arctg(b^*/a^*) \quad (3)$$

A su vez, se calcularon las diferencias de color global (ΔE) del pescado recién ahumado respecto al pescado fresco como indica la ecuación 4.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad (4)$$

2.4 Análisis microbiológicos

Los recuentos de aerobios mesófilos, enterobacterias y bacterias ácido lácticas se llevaron a cabo mediante los métodos descritos en las normas ISO: 4833:2003, 21528-2:2004 y 15214:1998, respectivamente. Todos los análisis se realizaron por duplicado y los resultados fueron expresados en log ufc/g. Los medios de cultivo fueron suministrados por Scharlau Chemie, S.A. (Barcelona, España).

2.3 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos en los análisis físico-químicos y microbiológicos de la materia prima y de las muestras recién ahumadas a 5°C y 10°C se realizó un ANOVA simple para comprobar la existencia de diferencias significativas como consecuencia del proceso de ahumado a distintas temperaturas. Para evaluar el efecto del tiempo de almacenamiento en refrigeración y la temperatura de procesado sobre la calidad de bacalao ahumado, se llevaron a cabo ANOVAs multifactor para cada uno de los parámetros físico-químicos y microbiológicos analizados. Se utilizó el procedimiento LSD (least significant difference) para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%. Para realizar el tratamiento de

datos estadísticos se usó el programa Statgraphics Centurion XVI (Manugistics Inc., Rockville, MD, EE.UU.).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Efecto del proceso de ahumado en los parámetros físico-químicos

Los valores de los parámetros físico-químicos y microbiológicos analizados en el bacalao fresco usado como materia prima y en las muestras recién ahumadas se muestran en la tabla 1. La humedad y la a_w fueron similares a los señalados por otros autores (Andrés et al., 2005; Gallart et al., 2007). El alto valor de a_w en el bacalao fresco indica la alta susceptibilidad de este tipo de productos al deterioro microbiano, como sucede en muchas otras especies de pescado (Fernández-Salguero et al., 1993). Tal y como cabría esperar, el proceso de salado-ahumado independientemente de la temperatura utilizada en el proceso, causó una reducción significativa en el contenido de humedad, un aumento en la concentración de NaCl y en consecuencia, una importante disminución en el valor de a_w , comparado con el bacalao fresco. Estos cambios son debidos a la absorción de NaCl y deshidratación que se produce en el músculo.

TABLA 1. Parámetros físico-químicos de la materia prima y de las muestras recién ahumadas (día 0) a diferentes temperaturas (5° y 10°C). Valores promedio \pm desviación estándar (n=3).

Temperatura salado-ahumado	Bacalao fresco	Bacalao ahumado		α
		5°C	10°C	
Humedad (g H ₂ O/100 g)	83.55 \pm 0.40 ^a	71.21 \pm 1.41 ^b	72.86 \pm 1.87 ^b	***
NaCl (g NaCl/100 g)	0.45 \pm 0.07 ^a	4.78 \pm 0.23 ^b	4.65 \pm 0.48 ^b	***
a_w	0.994 \pm 0.001 ^a	0.955 \pm 0.009 ^b	0.955 \pm 0.004 ^b	***
ΔM_t	-	-0.368 \pm 0.034 ^a	-0.345 \pm 0.040 ^a	***
pH	6.76 \pm 0.06 ^a	6.32 \pm 0.04 ^b	6.54 \pm 0.24 ^b	**
NBVT (mg N/100 g)	10.60 \pm 4.27 ^a	20.95 \pm 2.42 ^b	39.38 \pm 9.09 ^c	**
TMA (mg N/100 g)	2.26 \pm 0.80 ^a	7.19 \pm 0.06 ^a	25.53 \pm 2.42 ^b	***
Mesófilos (log ufc/g)	4.17 \pm 0.27 ^a	4.58 \pm 0.25 ^b	5.94 \pm 0.13 ^c	***
Bacterias ácido-lácticas (log ufc/g)	2.40 \pm 0.13 ^a	2.41 \pm 0.39 ^a	3.53 \pm 0.13 ^b	***
Enterobacterias (log ufc/g)	1.45 \pm 0.41 ^a	1.54 \pm 0.09 ^a	3.00 \pm 0.58 ^b	**
L*	56.55 \pm 6.22 ^a	49.88 \pm 2.61 ^b	48.87 \pm 4.04 ^b	*
a*	-4.24 \pm 0.30 ^a	-2.14 \pm 1.29 ^b	-3.28 \pm 0.93 ^{ab}	*
b*	-2.74 \pm 2.24 ^a	10.71 \pm 1.44 ^b	6.12 \pm 2.39 ^b	**
C _{ab} *	0.51 \pm 0.44 ^a	11.02 \pm 1.21 ^b	7.44 \pm 0.39 ^{ab}	*
h _{ab} *	5.44 \pm 0.80 ^a	-1.15 \pm 0.75 ^b	-0.93 \pm 3.52 ^b	***
ΔE	-	15.33 \pm 2.20 ^a	12.20 \pm 5.03 ^a	ns

Nivel de significación (α): ns: no significativo * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

El proceso de ahumado provocó una disminución en los valores de pH comparados con los valores observados en el bacalao fresco. La reducción de este parámetro en bacalao ahumado estaría relacionada con la absorción de ácidos del humo, la pérdida de humedad y la reacción de fenoles,

polifenoles y compuestos carbonilo con las proteínas y los grupos amino (Hassan, 1988). En este caso, el bajo valor de pH de la solución de humo líquido utilizada (2.33 ± 0.01) contribuiría además al descenso del valor de pH. Asimismo, la reducción en los valores de pH estaría relacionada con la adición de la sal, debido al aumento que provoca en la fuerza iónica de la solución interna de las células del músculo de pescado, tal y como describió Leroi y Joffraud (2000). Los valores de pH fueron mayores para el pescado obtenido a 10°C que para el pescado procesado a 5°C , sin embargo estas diferencias no fueron significativas.

Los valores de humedad, NaCl y a_w , del producto ahumado obtenido por el nuevo método estuvieron dentro del rango de valores que presenta el bacalao ahumado comercial (Fuentes et al., 2010a; Karásková et al., 2011; McDonagh, 2014; Montiel et al., 2012). La temperatura de procesado no afectó de forma significativa a ninguno de estos parámetros. Del mismo modo, el valor de ΔM_t no se vio afectado por la temperatura de procesado.

Los parámetros NBVT y TMA son unos de los índices más utilizados para evaluar el deterioro en pescado fresco y semiprocado. En el pescado recién capturado, el contenido en nitrógeno básico volátil total se encuentra habitualmente entre 5-20 mg N/100 g pescado fresco (Huss, 1995). El valor de NBVT y TMA obtenido para la materia prima en este estudio fue de 10.60 y 2.26 mg N/100 g de pescado respectivamente, similar a los encontrados en otros estudios de bacalao (Heising et al., 2012; Ruiz-Rico et al., 2013). El proceso de ahumado produjo un aumento significativo en los valores de NBVT y TMA comparados con los de la materia prima. Estas diferencias son debidas en muchos casos a la deshidratación parcial que se asocia a este tipo de procesos y la consiguiente concentración de los compuestos analizados en estos parámetros, tal y como fue observado por Goulas y Kontomimas (2005). Sin embargo, este aumento fue significativamente mayor en el caso del pescado ahumado a 10°C (39.38 mg N/100 g), siendo su valor casi el doble que cuando el ahumado se realizó a 5°C (20.95 mg N/100 g). Estos resultados muestran, por tanto, un mayor deterioro en el bacalao ahumado a 10°C , lo que se correlaciona con el comportamiento microbiano descrito a continuación.

Los recuentos de microorganismos mesófilos, bacterias ácido-lácticas y enterobacterias en las muestras recién ahumadas fueron ligeramente mayores con respecto a los de la materia prima cuando el salado-ahumado se realizó a 5°C . Sin embargo, cuando el salado-ahumado se realizó a 10°C este aumento fue más acusado quedando los recuentos de mesófilos muy cerca de los límites de aceptación establecidos (6-7 ciclos logarítmicos) (Arashisar et al., 2004; Özogul et al., 2004). Los bajos valores de NBVT, TMA, mesófilos y enterobacterias de la materia prima utilizada en este estudio indicarían una adecuada calidad higiénica.

Respecto a los valores obtenidos para los parámetros de color, los filetes de bacalao ahumado, independientemente de la temperatura de procesado, mostraron menores valores de L^* que el pescado fresco. La disminución de la luminosidad sería debida a la deshidratación y a la desnaturalización proteica que sufre el pescado durante el salado, lo que se traduce en una mayor opacidad de las muestras, tal y como se ha observado en otros

estudios de pescado ahumado (Birkeland et al., 2004; Cardinal et al., 2001; Fuentes et al., 2012). Tras el procesado se observaron mayores valores de a^* y b^* debido al efecto de la aplicación de humo líquido sobre la superficie de los filetes y la deshidratación, que provoca la aparición de tonos amarillentos en el pescado de carne blanca como ha sido señalado por otros autores (Fuentes et al., 2007; Oliveira et al., 2012). No se encontraron diferencias en los valores iniciales de los parámetros de color entre las muestras procesadas a diferentes temperaturas.

Es importante destacar que no se observó exudado en las bolsas después del proceso de salado-ahumado. Este hecho confirma que las bolsas permeables al vapor de agua permitieron la evaporación completa del agua liberada por el músculo del pescado durante el proceso. Estos resultados ponen de manifiesto no solo la efectividad de las bolsas permeables al vapor de agua, sino también que el proceso se puede llevar a cabo en una sola fase, reduciendo así etapas de procesado y manipulación comparado con los procesos tradicionales. Por otro lado, el salado controlado supone otra ventaja, ya que puede ayudar a reducir el volumen final de residuos de salmuera.

3.2 Cambios en la calidad físico-química durante el almacenamiento

3.2.1 pH, nitrógeno básico volátil total (NBVT) y nitrógeno de trimetilamina (TMA)

Los valores obtenidos para los parámetros de pH, NBVT y TMA en las muestras ahumadas durante el almacenamiento se muestran en la figura 2. En general, los valores de pH se mantuvieron estables a lo largo del almacenamiento con ligeras fluctuaciones, lo que coincide con los resultados obtenidos en otros estudios, donde los valores de pH del músculo no presentaron apenas variaciones durante el almacenamiento (Goulas y Kontominas, 2005). Del mismo modo, no se encontraron diferencias significativas entre las muestras ahumadas a 5 y a 10^o C durante el periodo de estudio.

Los parámetros NBVT y TMA son comúnmente utilizados como indicadores de deterioro en el pescado. Su aumento está relacionado con la actividad de bacterias causantes del deterioro y enzimas endógenas (Fernández-Segovia et al., 2012). Existe una gran variabilidad en los valores de aceptación del NBVT, el cual es todavía mayor en el caso de pescado procesado y semiprocesado, ya que el tratamiento al cual el pescado es sometido afecta en gran medida a este parámetro (Fuentes et al., 2011; Goulas y Kontominas, 2005). En el caso del salmón ahumado, los límites de aceptación propuestos por diversos autores oscilan entre 30-40 mg N/100 g (Civera et al., citado por Bugueño y Escriche, 2003; Dalgaard, 2000). No obstante, otros estudios han señalado valores más altos en pescado salado, como en arenque salado de calidad sensorial aceptable, donde se encontraron valores superiores a 75 mg NBVT/100 g (Dalgaard, 2000) y en productos seco-salados derivados del atún, donde los valores obtenidos oscilaron entre 50 y 110 mg NBVT/100 g de pescado (Gallart et al., 2005).

El contenido de NBVT aumentó significativamente durante el periodo de almacenamiento para ambas temperaturas de salado-ahumado. Las muestras obtenidas a 5°C mostraron valores considerablemente más bajos de NBVT que las muestras procesadas a 10°C durante las primeras semanas de almacenamiento, alcanzando valores elevados y similares a los del pescado procesado a 10°C, hacia el día 28 de almacenamiento.

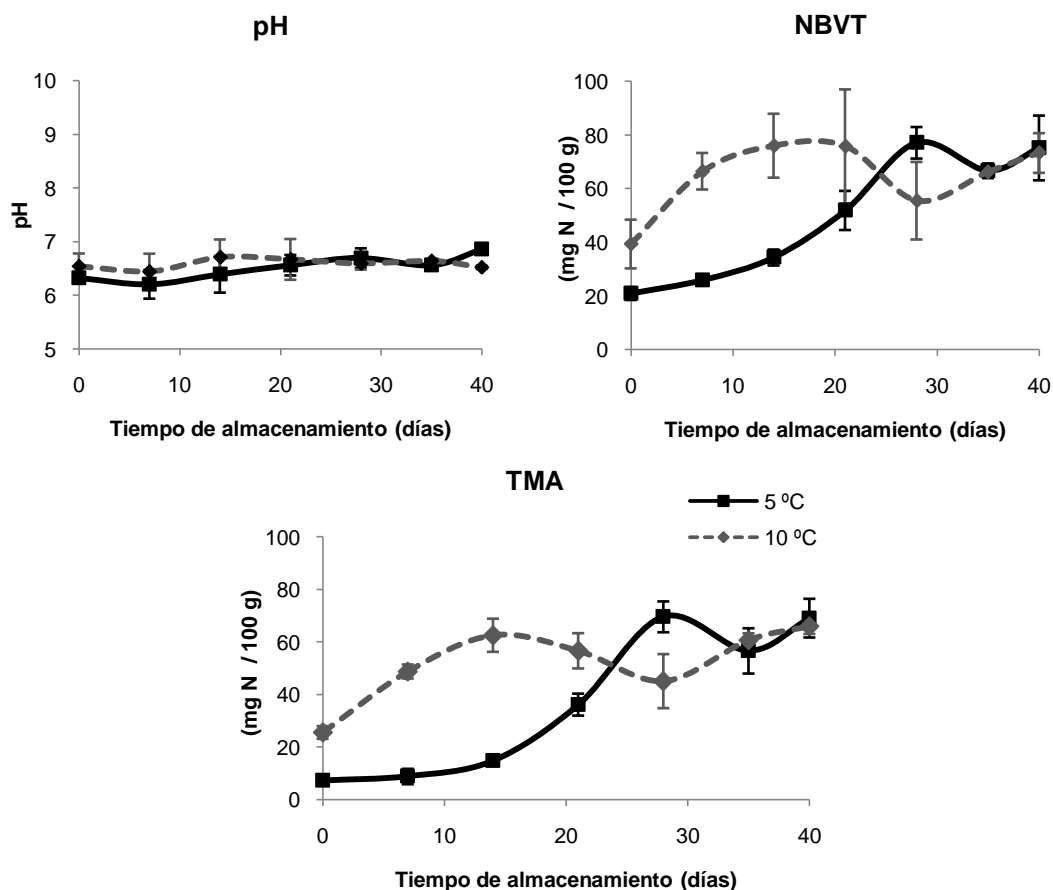


FIGURA 2. Cambios en pH, NBVT y TMA en las muestras de bacalao ahumado a diferentes temperaturas (5° y 10°C) durante 40 días de almacenamiento a 4°C. Valores promedio \pm desviación estándar (n=3).

Los valores de TMA en las muestras de bacalao ahumado mostraron un comportamiento similar a los valores de NBVT durante el almacenamiento. Existe mucha variabilidad entre los límites de aceptación de TMA propuestos por diversos autores, variando entre especies, época del año, condiciones de almacenamiento, etc. A modo general, pueden considerarse unos valores límite de aceptación de 10-15 mg N/100 g (Chilean fishing authority Sernapesca, 1996; citado por Dondero et al., 2004; Connell, 1995; Fuentes et al., 2007; Huss 1988). Sin embargo, aunque se considera que la TMA es generada por la acción de las bacterias del deterioro, su correlación con el número de bacterias no es generalmente muy buena (Huss 1995; citado por Fuentes et al., 2011). En este estudio, no se observó una correlación clara entre los valores de estos parámetros y el crecimiento microbiano, al igual

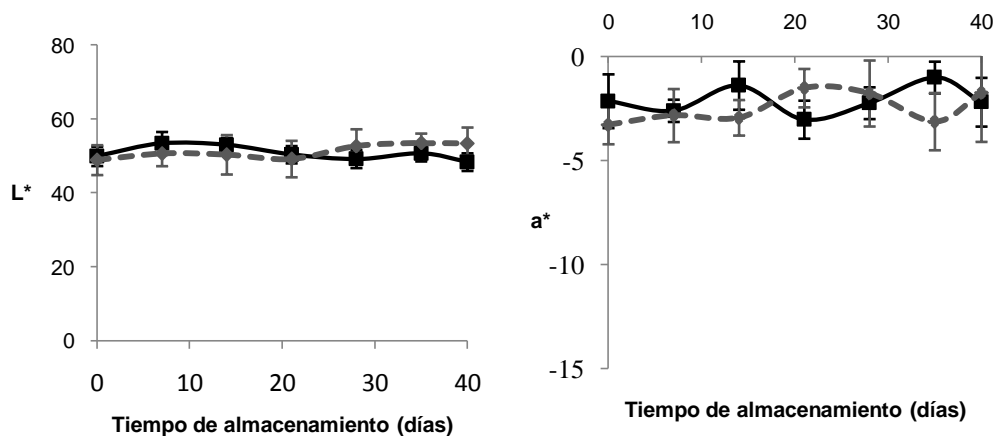
que ha sido observado en otros estudios de dorada y lubina (Castro et al., 2006; Fuentes et al., 2011).

En base a los resultados obtenidos para estos parámetros y tomando como referencia los límites de aceptación establecidos para salmón ahumado citados anteriormente, (30-40 mg/100 g para NBVT y 10-15 mg/100 g para TMA), puede considerarse que el bacalao ahumado obtenido a 10°C ya mostraba deterioro desde el comienzo del estudio. Sin embargo, para el bacalao ahumado a 5°C, estos valores no fueron superados hasta el día 21 de almacenamiento.

3.2.2 Parámetros de color

Los cambios en el color del bacalao ahumado durante el almacenamiento fueron estudiados a través de las coordenadas de color L^* , a^* y b^* , así como el tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) (figura 3).

En general, la temperatura de procesado no afectó significativamente a los parámetros de color. Del mismo modo, no se registraron cambios en las coordenadas de color a través del almacenamiento independientemente de la temperatura de procesado (datos del ANOVA no mostrados).



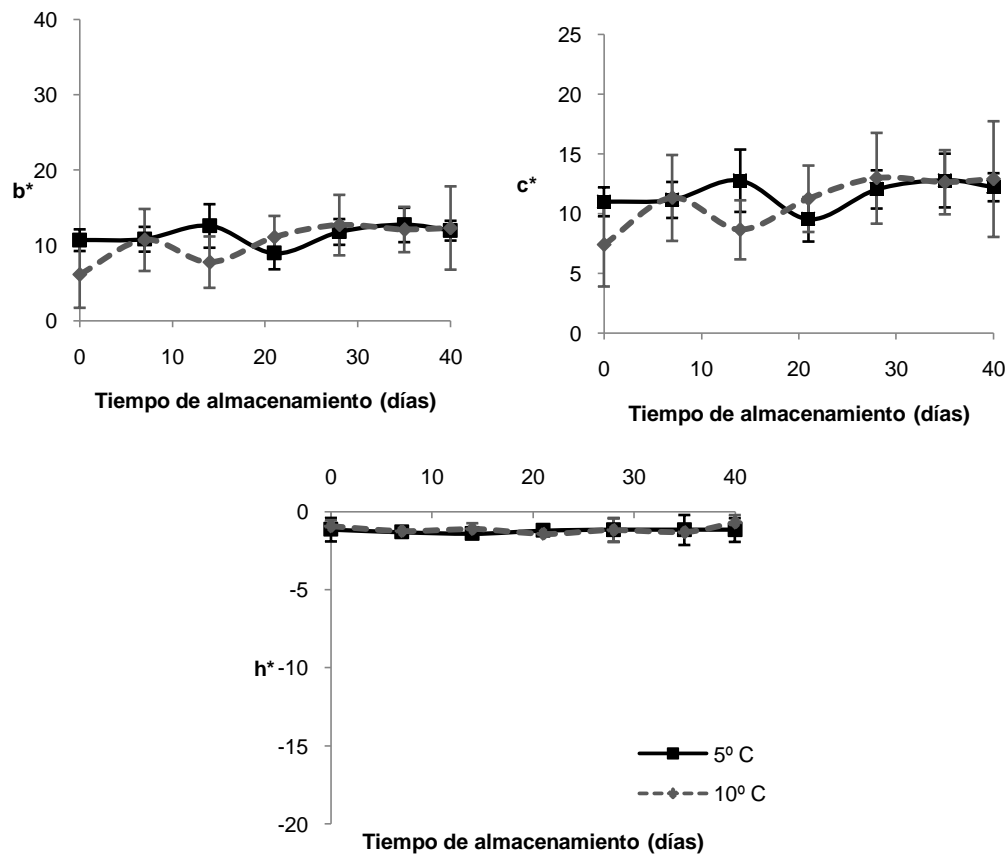


FIGURA 3. Coordenadas de color L*: luminosidad, a*: rojo-verde, b*: amarillo-azul, C_{ab}*: croma, h_{ab}*: tono de las muestras de bacalao ahumado obtenidas a diferentes temperaturas (5° y 10°C) durante 40 días de almacenamiento a 4°C. Valores promedio ± desviación estándar (n=3).

3.3 Análisis microbiológicos

La evolución de los recuentos de aerobios mesófilos, bacterias ácido-lácticas y enterobacterias a lo largo del almacenamiento se muestran en la figura 4. En mesófilos y enterobacterias, el mayor crecimiento tuvo lugar en las muestras procesadas a mayor temperatura (10°C). Durante el almacenamiento se observó un aumento en el crecimiento de los microorganismos mesófilos para ambas temperaturas de procesado. Las muestras obtenidas a 10°C superaron el límite de 6-7 ciclos logarítmicos comentado anteriormente, a partir del día 7 de almacenamiento. Sin embargo, las muestras obtenidas a 5°C superaron este valor el día 40.

En el pescado ahumado en frío y envasado a vacío, la microflora presente en el deterioro es variable, encontrándose bacterias ácido-lácticas y enterobacterias entre los microorganismos que más predominan (Gonzalez-Rodriguez et al., 2002; Truelstrup et al., 1998). Respecto a las bacterias ácido-lácticas, los recuentos obtenidos para ambas temperaturas de procesado fueron similares, permaneciendo estables durante los primeros días y mostrando una tendencia diferente al final del almacenamiento.

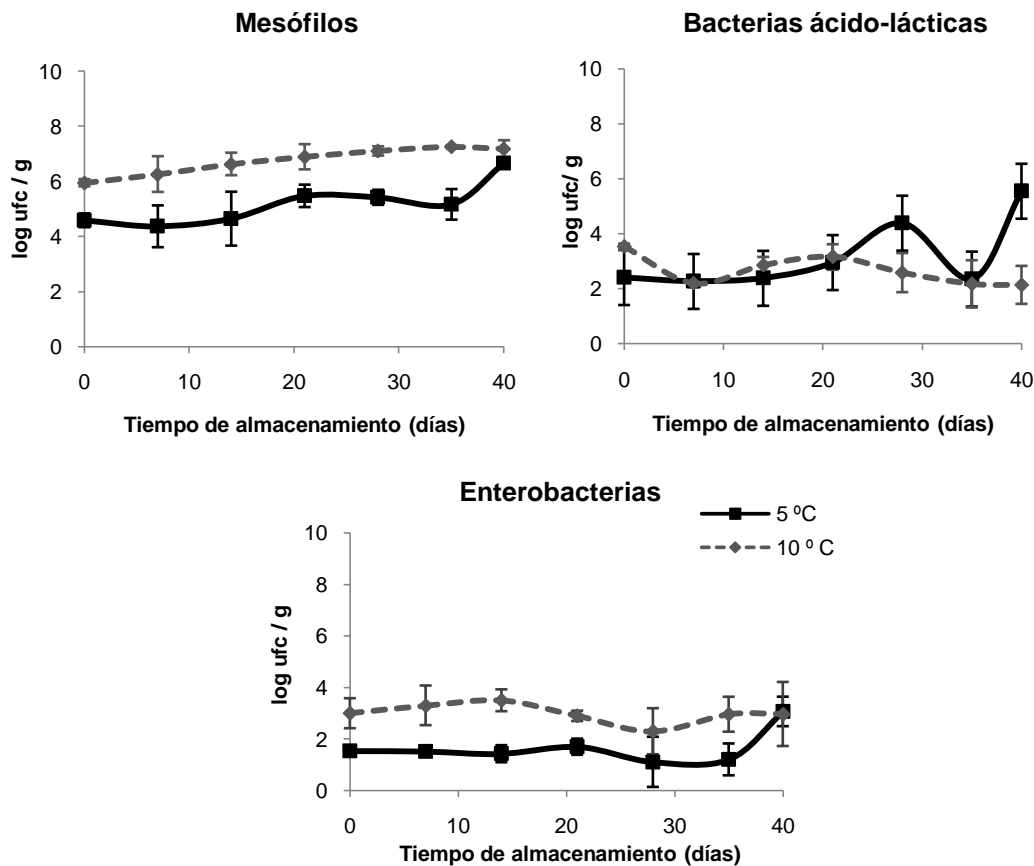


FIGURA 4. Cambios en microorganismos mesófilos, bacterias ácido-lácticas y enterobacterias en las muestras de bacalao ahumado obtenidas a diferentes temperaturas (5° y 10°C) durante 40 días de almacenamiento a 4°C. Valores promedio \pm desviación estándar (n=3).

Algunos estudios de pescado ahumado asocian la presencia de altos niveles de enterobacterias al deterioro del pescado (Gonzalez-Rodriguez et al., 2002; Gram y Huss, 1996). Leroi et al. (2001) observaron que la vida útil en el salmón ahumado era muy variable (1-6 semanas) y que estaba relacionada con los recuentos iniciales de enterobacterias, el cual depende en gran medida de las condiciones higiénicas de manipulación. En cuanto a la evolución de enterobacterias en este estudio, en general, los valores permanecieron prácticamente estables a lo largo del almacenamiento para todas las muestras. En el caso de las muestras saladas-ahumadas a 10°C, el límite de 3 ciclos logarítmicos establecido en algunos estudios (Fuentes et al., 2011), fue superado desde el comienzo del estudio (día 0). Sin embargo, este límite no fue superado hasta el día 40 de almacenamiento en el caso de las muestras obtenidas a 5°C.

En base a estos resultados y como se ha comentado anteriormente, es destacable el hecho de la falta de correlación existente entre los valores obtenidos de bases volátiles (NBVT y TMA) y los valores de los recuentos microbiológicos, especialmente en el caso del bacalao ahumado a 5°C.

Atendiendo a los valores de NBVT y TMA obtenidos, el pescado ahumado a 5°C, tendría una vida útil inferior a 20 días; sin embargo, en base a los resultados de mesófilos y enterobacterias dejaría de ser apto para el consumo humano a los 40 días. En el caso del bacalao ahumado obtenido a 10°C, podría considerarse que el pescado ya estaba en el límite de aceptación al comienzo del estudio, indicando así que el proceso de salado-ahumado a 10°C no fue adecuado para la obtención de bacalao ahumado.

Como se ha comentado anteriormente, se llevó a cabo un ANOVA multifactor para cada uno de los parámetros evaluados tomando como factores el tiempo de almacenamiento y la temperatura. Los resultados se muestran en la tabla 2.

TABLA 2. Valores de F-ratio y nivel de significación, obtenidos en el ANOVA multifactor para las variables pH, NBVT, TMA, mesófilos, bacterias ácido-lácticas y enterobacterias en función de los factores: tiempo de almacenamiento (t), temperatura de procesado (T) y su interacción (t x T).

	t	T	t x T
pH	2.25 ^{ns}	1.26 ^{ns}	1.73 ^{ns}
NBVT	12.68 ^{***}	14.12 ^{***}	7.50 ^{***}
TMA	29.05 ^{***}	32.26 ^{***}	11.26 ^{***}
Mesófilos	9.40 ^{***}	87.30 ^{***}	2.37 ^{ns}
Bacterias ácido-lácticas	1.93 ^{ns}	4.73 [*]	5.31 [*]
Enterobacterias	2.21 ^{ns}	40.98 ^{***}	1.75 ^{ns}

ns: no significativo p <0.05, * p <0.01, *** p <0.001

El análisis estadístico mostró que el tiempo de almacenamiento afectó significativamente a los valores de NBVT, TMA y mesófilos. Respecto a la temperatura de procesado, su efecto fue significativo para todos los parámetros estudiados, excepto para el pH. En general, la interacción entre los factores tuvo un menor efecto sobre las variables de estudio que los factores analizados independientemente, lo que indicaría que estos factores influyen en las variables estudiadas de forma independiente.

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de realizar el salado-ahumado a temperaturas de refrigeración por debajo de 5°C. El pescado fresco es un alimento altamente perecedero y en este sentido la etapa de salado es especialmente crítica, siendo el pescado más vulnerable a la descomposición cuando la sal aún no ha penetrado en el interior del músculo.

Cabe destacar que el uso de las bolsas permeables al vapor de agua permite que el procesado del pescado se realice bajo condiciones más controladas, lo que se traduce en un menor riesgo de contaminación microbiana durante el proceso, ya que este tipo de materiales presentan una barrera contra las bacterias.

4. CONCLUSIONES

El proceso de salado-ahumado causó una reducción significativa en el contenido de humedad, un aumento en la concentración de NaCl, así como una disminución de los valores de a_w y pH comparado con el bacalao fresco. Estos valores fueron similares a los del bacalao ahumado disponible actualmente en el mercado.

Las bolsas permeables al vapor de agua permitieron la evaporación del exudado durante el proceso de salado-ahumado.

El color del bacalao ahumado no se vio afectado por la temperatura de procesado y fue estable durante el tiempo de almacenamiento.

La temperatura de procesado afectó a los valores iniciales de NBVT, TMA y a los recuentos microbiológicos, mostrando mayor grado de deterioro las muestras ahumadas a mayor temperatura (10°C). El bacalao recién ahumado (día 0) a 10°C ya estaba cercano al límite de aceptación química y microbiológica.

El bacalao ahumado a 5°C, presentó una buena calidad microbiológica inicial. Los parámetros de NBVT y TMA alcanzaron valores altos a día 21, pero el deterioro microbiológico no se alcanzó hasta el día 40 de almacenamiento.

Se puede concluir que el proceso de salado-ahumado a 5°C permite obtener bacalao ahumado de buena calidad higiénico-sanitaria proporcionándole una vida útil mayor a 35 días en refrigeración. Sin embargo, el procesado a 10°C no es apropiado para la obtención de bacalao ahumado de adecuada calidad higiénico-sanitaria.

Este nuevo método podría ser de interés para el sector industrial, ya que permite obtener bacalao ahumado minimizando la manipulación y reduciendo etapas en el procesado, así como residuos de salmuera.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren agradecer a la empresa Tub-Ex ApS (Taars, Dinamarca) por el suministro de las bolsas permeables al vapor de agua y facilitar la información necesaria sobre su utilización.

Quiero expresar mi gratitud a mis directoras de tesis, Isabel y Ana, por darme la oportunidad de trabajar en su departamento; y en especial a mi tutora experimental Arantxa por su enorme ayuda y dedicación tanto dentro como fuera del laboratorio. Asimismo, quiero agradecer muy especialmente a mi familia por apoyarme desde el primer momento en todo lo que he hecho, y a todas las personas que siempre han confiado en mí.

6. REFERENCIAS

Ahnström, M. L.; Seyfert, M.; Hunt, M. C.; Johnson, D. E. 2006. Dry aging of beef in a bag highly permeable to water vapour. *Meat Science*, **73**(4): 674–9.

- Andrés, A.; Rodríguez-Barona, S.; Barat, J. M.; Fito, P. 2005. Salted cod manufacturing: influence of salting procedure on process yield and product characteristics. *Journal of Food Engineering*, **69(4)**: 467–471.
- AOAC (1997). Official Methods of analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical chemists, Arlington, Virginia.
- Arashisar, S.; Hisar, O.; Kaya, M.; Yanik, T. 2004. Effects of modified atmosphere and vacuum packaging on microbiological and chemical properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *International Journal of Food Microbiology*, **97**: 425-214.
- Birkeland, S.; Bencze Rørå, A. M.; Skåra, T.; Bjerkeng, B. 2004. Effects of cold smoking procedures and raw material characteristics on product yield and quality parameters of cold smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food Research International*, **37(3)**: 273–286.
- Bugueño, G.; Escriche, I. 2003. Influence of storage conditions on some physical and chemical properties of smoked salmon (*Salmo salar*) processed by vacuum impregnation techniques. *Food Chemistry*, **81**: 85–90.
- Cardinal, M.; Knockaert, C.; Torrissen, O.; Sigurgisladottir, S.; Mørkøre, T.; Thomassen, M.; Luc Vallet, J. 2001. Relation of smoking parameters to the yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International*, **34(6)**: 537–550.
- Castro, P.; Padrón, J. C. P.; Cansino, M. J. C.; Velázquez, E. S.; & Larriva, R. M. De. 2006. Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice. *Food Control*, **17(4)**: 245–248.
- Connell, J. J. 1995. Control of fish quality (4th ed.). Fishing News Books, Ltd., London.
- Connell, J.J. 1995. Method of assessing and selecting for quality. En: Control fish quality (4th ed). Fishing News Books Ltd., Surrey.
- Dalgaard, P. 2000. Freshness, quality and safety in seafood. Flair-Flow Europe Technical Manual F-FE 380A/00. Dirección URL: <<http://flairflow4.vscht.cz/seafood00.pdf>>. [Consulta: 10 Jul.14].
- Dikeman, M. E.; Obuz, E.; Gök, V.; Akkaya, L.; Stroda, S. 2013. Effects of dry, vacuum, and special bag aging; USDA quality grade; and end-point temperature on yields and eating quality of beef *Longissimus lumborum* steaks. *Meat Science*, **94(2)**: 228–33.
- Dondero, M.; Cisternas, F.; Carvajal, L.; Simpson, R. 2004. Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. *Food Chemistry*, **87(4)**: 543–550.
- FDA, 2001. Processing parameters needed to control pathogens in cold smoked fish. Report of the Institute of Food Technologists for the Food and Drug Administration of the U.S. Department of Health and Human. Dirección URL: <<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm092182.htm>>. [Consulta 9 Jul. 2014].
- Fernández-Salguero, J.; Gómez, R.; Carmona M. A. 1993 Water Activity in Selected High-Moisture Foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, **6(4)**: 364–369. 461.
- Fernández-Segovia, I.; Fuentes, A.; Aliño, M.; Masot, R.; Alcañiz, M.; Barat, J. M. 2012. Detection of frozen-thawed salmon (*Salmo salar*) by a rapid low-cost method. *Journal of Food Engineering*, **113(2)**: 210–216.
- Fuentes, A. 2007. Desarrollo de productos ahumados a partir de lubina (*Dicentrarchus labrax* L.). Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Fuentes, a.; Fernández-Segovia, I.; Serra, J. A.; Barat, J. M. 2010b. Development of a smoked sea bass product with partial sodium replacement. *LWT - Food Science and Technology*, **43(9)**: 1426–1433.
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Barat, J. M.; Serra, J. A. 2010a. Physicochemical Characterization of Some Smoked and Marinated Fish Products. *Journal of Food Processing and Preservation*, **34(1)**: 83–103.
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Barat, J. M.; Serra, J. A. 2011. Influence of sodium replacement and packaging on quality and shelf-life of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *LWT-Food Science and Technology*, **44(4)**: 917–923.
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Serra, J. A.; Barat, J. M. (2012). Effect of partial sodium replacement on physicochemical parameters of smoked sea bass during storage. *Food Science and Technology International* **18(3)**: 207–17.

- Gallart-Jornet, L.; Barat, J. M.; Rustad, T.; Erikson, U.; Escriche, I.; Fito, P. 2007. A comparative study of brine salting of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Engineering*, **79(1)**: 261–270.
- Gallart-Jornet L.; Escriche I.; Chilet A.; Fito P. 2005. Estudio composicional y de parámetros de estabilidad de productos seco-salados derivados del atún. *Alimentación, Equipos y Tecnología. Equipos y Procesos para la Industria Alimentaria*, 202: 75-81.
- Gallart-jornet, L., Escriche, I., Fito, P. 2005. La salazón de pescado, una tradición en la dieta mediterránea (2th ed). Editorial Universidad Politécnica de Valencia.
- González-Rodríguez, M.-N.; Sanz, J.-J.; Santos, J.-A.; Otero, A.; García-López, M.-L. 2002. Numbers and types of microorganisms in vacuum-packed cold-smoked freshwater fish at the retail level. *International Journal of Food Microbiology*, **77**: 161–168.
- Goulas, A. E.; Kontominas, M. G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, **93(3)**: 511–520.
- Gram, L.; Huss, H. H. 1996. Microbiological spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology*, **33(1)**: 121–37.
- Hassan, I M. 1988. Processing of smoked common carp fish and its relation to some chemical, physical and organoleptic properties. *Food Chemistry* **27(2)**: 95–106.
- Heising, J. K.; Dekker, M.; Bartels, P. V.; Van Boekel, M. A. J. S. 2012. A non-destructive ammonium detection method as indicator for freshness for packed fish: Application on cod. *Journal of Food Engineering*, **110(2)**: 254–261.
- Herland, H.; Esaiassen, M.; Cooper, M.; Olsen, R. L. 2009. Changes in trimethylamine oxide and trimethylamine in muscle of wild and farmed cod (*Gadus morhua*) during iced storage. *Aquaculture Research*, **41(1)**: 95–102.
- Huss, H.H. 1988. Cambios post-mortem en el pescado. En: El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Colección FAO: Pesca Nº 29. Roma, 61-75.
- Huss, H. H. 1995. Quality and quality changes in fresh fish. In Fisheries technical paper, No. 348. Rome: FAO.
- ISO 15214 (1998) Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria - Colony-count technique at 30°C. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 4833 (2003). Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of microorganisms. Colony-count technique at 30°C. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- ISO 21528-2 (2004) Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2: Colony count method. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization.
- Karásková, P.; Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Alcañiz, M.; Masot, R.; Barat, J. M. 2011. Development of a low-cost non-destructive system for measuring moisture and salt content in smoked fish products. ICEF 2011. *Procedia e Food Science*, **1**: 1195-1201.
- Leroi, F.; Joffraud, J. J.; Chevalier, F.; Cardinal, M. 2001. Research of quality indices for cold-smoked salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and physico-chemical parameters. *Journal of Applied Microbiology*, **90(4)**: 578–87.
- Leroi, F.; Joffraud, J. J. 2000. Salt and smoke simultaneously affect chemical and sensory quality of cold-smoked salmon during 5 °C storage predicted using factorial design. *Journal of Food Protection*, **63(9)**: 1222-1227.
- Li, X.; Babol, J.; Wallby, A.; Lundström, K. 2013. Meat quality, microbiological status and consumer preference of beef gluteus medius aged in a dry ageing bag or vacuum. *Meat Science*, **95(2)**: 229–234.
- Malle, P.; Tao, S. H. 1987. Rapid quantitative determination of trimethylamine using steam distillation. *Journal of Food Protection*, **50(9)**: 756–760.
- Mañes, V. 2013. Utilización de bolsas permeables al vapor de agua para la obtención de salmón ahumado. Tesis de Máster. Universidad Politécnica de Valencia.
- McDonagh, G. 2014. Cold-smoked cod obtained using water vapor permeable bags. Dissertation of Food Innovation Degree. Dublin Institute of Technology.
- Meeus, K. 2012. Evaluation of quality and shelf life of a new product of smoked salmon. Final project of Bachelor Agro and Biotechnology. University College Ghent.

- Montiel, R.; De Alba, M.; Bravo, D.; Gaya, P.; Medina, M. 2012. Effect of high pressure treatments on smoked cod quality during refrigerated storage. *Food Control*, **23(2)**: 429–436.
- Oliveira, H.; Pedro, S.; Nunes, M. L.; Costa, R.; Vaz-Pires, P. 2012. Processing of Salted Cod (*Gadus* spp.): A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **11(6)**: 546–564.
- Özogul, F.; Polat, A.; Özogul, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, **85(1)**: 49–57.
- Ruiz-Rico, M.; Fuentes, A.; Masot, R.; Alcañiz, M.; Fernández-Segovia, I.; Barat, J. M. (2013). Use of the voltammetric tongue in fresh cod (*Gadus morhua*) quality assessment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **18**: 256–263.
- Truelstrup, L.; Røntved, S. D.; Huss, H. 1998. Microbiological quality and shelf-life of cold-smoked salmon from three different processing plants. *Food Microbiology*, **5(2)**: 137–150. 545