

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



Evaluación de la vida útil primaria y secundaria de paté de salmón y algas

TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ALUMNA: María José Daroz Díaz

TUTORA: Isabel Fernández Segovia

COTUTORA: Ana Fuentes López

Curso Académico: 2015/2016

VALENCIA, SEPTIEMBRE DE 2016

Título: Evaluación de la vida útil primaria y secundaria de paté de salmón y algas.

RESUMEN

Pese a que el pescado es un alimento saludable y nutritivo, a veces su consumo es inferior al recomendado. Esto es debido a que los consumidores actuales, además de buscar dietas saludables y equilibradas, también demandan productos fáciles de preparar o listos para consumir y de elevada calidad sensorial, lo que hace necesaria la oferta de productos derivados de la pesca que cumplan con las tendencias del consumo actual. La incorporación de algas en productos de la pesca implicaría un valor añadido, ya que no se vería reducido el contenido proteico que posee el pescado, aportando minerales, compuestos fenólicos y fibra, sin aumentar el valor calórico del producto. Así, la elaboración de patés de pescado con y sin algas, libres de aditivos, con larga vida útil, resultan una propuesta muy interesante en línea con las tendencias de consumo actual. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad y vida útil de dos tipos de paté elaborados a partir de salmón con o sin algas, conservados en refrigeración, así como establecer la fecha límite de consumo tras la apertura del envase. Para ello, se estudió la evolución de diferentes análisis físico-químicos y microbiológicos de muestras de paté almacenadas durante 120 días en refrigeración, sin abrir el envase hasta el día del análisis (vida útil primaria). El estudio de vida útil secundaria, se llevó a cabo tras la apertura de todos los tarros de paté, los cuales se almacenaron en refrigeración durante 8 días. Se llevó a cabo la determinación del contenido en humedad, pH, nitrógeno básico volátil total (N-BVT), índice del ácido tiobarbitúrico (TBA), color, metabolitos formados por degradación de nucleótidos de adenosina, recuento de mesófilos y recuento de enterobacterias. En relación a los resultados de vida útil primaria, se puede decir que la incorporación de algas en la formulación conllevó una disminución en el valor de pH y humedad de las muestras, permaneciendo ambos parámetros constantes durante el almacenamiento. Para ambos tipos de paté, el valor de N-BVT aumentó ligeramente al inicio del estudio manteniéndose constante y en niveles bajos durante el periodo estudiado. El valor K_1 fue estable durante el tiempo de almacenamiento. Los bajos valores obtenidos en el índice de TBA demuestran que no hubo oxidación lipídica de los patés. La incorporación de algas supuso una disminución de la luminosidad de las muestras. Los recuentos microbianos fueron nulos durante todo el estudio. Estos resultados demostraron que las muestras no sufrieron deterioro alguno durante los 120 días de almacenamiento a 4°C. En el estudio de la vida útil secundaria, se observaron resultados similares, donde no hubo prácticamente evolución de los parámetros físico-químicos evaluados, indicando la gran estabilidad de las muestras que mantuvieron su calidad inicial. No hubo crecimiento de enterobacterias y los microorganismos aerobios mesófilos solo crecieron a día 8, presentando niveles muy bajos, lo que significa que ambos patés, serían aptos para el consumo durante todo el periodo evaluado.

PALABRAS CLAVE: paté, algas, pescado, calidad, vida útil.

AUTORA: María José Daroz Díaz

TUTORA: Isabel Fernández Segovia

CO-TUTORA: Ana Fuentes López

Title: Primary and secondary shelf-life evaluation of salmon and seaweed pâté.

ABSTRACT

Although fish is a healthy and nutritious food, usually its consumption is lower than recommended. The reason for this is that nowadays consumers seek for healthy balanced diets and demand ready to eat products, which are easy to prepare and have a high sensory quality. This encourages the needs for the development of new products derived from fish, which match with the current consumption trends. The incorporation of algae in fish products imply an extra nutritional value in the final product, since the protein content in the fish doesn't reduce, instead it is reinforced with minerals, phenolic compounds and fibre, not increasing its caloric value. Therefore, the elaboration of fish pâtés and fish algae pâtés without additives is an interesting proposal that matches with the current consumer trends. The aim of this study was to evaluate the quality and shelf-life of the pâtés (made up from salmon and salmon with seaweed), in refrigeration, as well as assess the limit date consumption once the package is opened. In order to determine this, physico-chemical and microbiological analysis of two sets of samples were carried out: samples stored for 120 days in refrigeration, unopened until the analysis day (primary shelf-life) and the evaluation during 8 days, after all the pâtés were opened and restocked in refrigeration (secondary shelf-life). The evaluated parameters were: moisture content, pH value, total volatile basic nitrogen (N-BVT), thiobarbituric acid index (TBA), colour, metabolites formed by the degradation of adenosine nucleotides, mesophilic and *Enterobacteriaceae* counts. Regarding the results of the primary shelf-life, it can be said that the algae incorporation in the formulation led to a decrease in both samples, in pH and humidity, both remaining constant during storage. For both types of pâté, the value of N-BVT increased slightly at baseline but both stayed at constant low levels during the whole evaluation period. The K_1 value was stable during the storage period. The low values obtained in the TBA index showed that there was no lipid oxidation on the pâtés. The incorporation of algae resulted in a decrease on brightness on the samples. Microbiological counts were zero throughout the study. These results showed that samples did not suffer any damage during the 120 days of storage at 4 °C. In the secondary shelf-life evaluation, similar results were obtained, where there was hardly evolution of the physico-chemical evaluated parameters indicating the high stability of the samples that maintained their initial observed qualities. There was no growth of *Enterobacteriaceae* and mesophilic bacteria; thus at day 8 were there where low levels of growing colonies, highlighting that both pâtés would be suitable for consumption during the evaluation period.

KEY WORDS: pâté, seaweeds, fish, quality, shelf-life.

AUTHOR: María José Daroz Díaz

TUTOR: Isabel Fernández Segovia

CO-TUTOR: Ana Fuentes López

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mi tutora Isabel Fernández, su ayuda en la elaboración de este proyecto, por todo su apoyo, pues sin su ayuda, la realización del mismo, no hubiese sido posible.

De la misma manera, quería agradecer a Irene Díaz y Ana Fuentes, por haberme enseñado y ofrecido su ayuda lo largo del proyecto.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. EL PESCADO	9
1.2 PRODUCTOS DE LA PESCA	10
1.3 ALGAS	12
1.4 VIDA ÚTIL PRIMARIA Y SECUNDARIA	14
2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	15
2.1. OBJETIVOS	15
2.2. PLAN DE TRABAJO	15
3. MATERIAL Y MÉTODOS	16
3.1. EQUIPOS	16
3.2 MATERIA PRIMA	17
3.3. ELABORACIÓN DE LOS PATÉS	18
3.4. ESTUDIO DE VIDA ÚTIL	18
3.4.1 VIDA ÚTIL PRIMARIA.	18
3.4.2 VIDA ÚTIL SECUNDARIA.....	19
3.5 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS	20
3.5.1 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD	20
3.5.2 DETERMINACIÓN DEL pH.....	20
3.5.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN NITRÓGENO BÁSICO VOLÁTIL TOTAL (N-BVT).....	20
3.5.4. DETERMINACIÓN DE LOS METABOLITOS DE DEGRADACIÓN DE ATP Y DEL VALOR K_1	21
3.5.5. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE TBA	22
3.5.6. DETERMINACIÓN DEL COLOR	24
3.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	24
3.6.1 ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS AEROBIOS TOTALES	24
3.6.2 ANÁLISIS DE ENTEROBACTERIAS.....	25
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 ESTUDIO DE VIDA ÚTIL PRIMARIA	26
4.1.1 EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO	26
4.1.1.1. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD.....	26
4.1.1.2. EVOLUCIÓN DEL pH	27
4.1.1.3. EVOLUCIÓN DEL NITRÓGENO BÁSICO VOLÁTIL TOTAL (N-BVT).	27
4.1.1.4. EVOLUCIÓN DE LOS METABOLITOS DE DEGRADACIÓN DE ATP Y VALOR K_1	29
4.1.1.5. RESULTADOS DEL ÍNDICE DE TBA	30
4.1.1.6. EVOLUCIÓN DEL COLOR.....	32
4.1.2 EVOLUCIÓN DE LOS RECUEENTOS MICROBIANOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO	34
4.2 ESTUDIO DE VIDA ÚTIL SECUNDARIA.....	35
4.2.1 EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO	35
4.2.1.1 EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD.....	35
4.2.1.2 EVOLUCIÓN DEL pH	36
4.2.1.3 DETERMINACIÓN DE MÉTODO DE DEGRADACIÓN DE ATP Y VALOR DEL K_1	37
4.2.1.4 EVOLUCIÓN DEL ÍNDICE DE TBA	38
4.2.1.4 EVOLUCIÓN DEL COLOR.....	38
4.2.2 EVOLUCIÓN DE LOS RECUEENTOS MICROBIANOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO	39

5. CONCLUSIONES	41
6. BIBLIOGRAFIA	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Evolución del contenido en humedad en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria.....	26
Figura 2. Evolución del pH en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria	27
Figura 3. Evolución del contenido en N-BVT en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria.....	28
Figura 4. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria	30
Figura 5. Evolución del valor K_1 en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria	30
Figura 6. Evolución del índice del ácido tiobarbitúrico en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria	31
Figura 7. Evolución del pH en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria.....	36
Figura 8. Evolución del contenido en humedad en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria.....	36
Figura 9. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria	37
Figura 10. Evolución del valor K_1 en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria.....	38
Figura 11. Evolución del índice del ácido tiobarbitúrico en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional del salmón (<i>Salmo Salar L.</i>)	9
Tabla 2. Formulaciones (g ingrediente/100 g paté) y protocolos de preparación de los patés de pescado y algas.	18
Tabla 3. Programación del gradiente de elución empleado en el análisis de los compuestos de degradación del ATP. A: K_2HPO_4 0,01M; B: 60% Acetonitrilo en agua	20
Tabla 4. Resultados de los parámetros Ciel*a*b* del paté de pescado de salmón y algas, en la vida útil primaria	32
Tabla 5. Resultados de las magnitudes psicofísicas de tono (h*ab), croma (c*ab) y diferencia de color ΔE del paté de pescado y algas, en la vida útil primaria	34
Tabla 6. Resultados de los parámetros Ciel*a*b* del paté de pescado de salmón y algas, en la vida útil secundaria.....	34
Tabla 7. Resultados de las magnitudes psicofísicas de tono (h*ab), croma (c*ab) y diferencia de color ΔE del paté de pescado y algas, en la vida útil secundaria	39
Tabla 8. Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y de enterobacterias en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria	38

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EL PESCADO

En los últimos años las tendencias de consumo se declinan hacia alimentos saludables, nutritivos, sin aditivos y listos para consumir. En este sentido, el pescado posee propiedades nutricionales que los convierten en alimentos fundamentales en una dieta equilibrada y saludable.

El pescado es un alimento que contiene una gran variedad de vitaminas y minerales, como la vitamina A y D, fósforo, magnesio, selenio y yodo. Además, contiene proteínas de alto valor biológico, aportando todos los aminoácidos esenciales. Cabe destacar, que el pescado presenta un bajo contenido en tejido conjuntivo, proporcionándole una mayor digestibilidad, frente a otros alimentos también proteicos como la carne. A esto hay que añadir que posee un buen perfil lipídico, con una alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados. Entre ellos destacan el ácido linoleico, de la familia omega-6 y el ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), de la familia omega-3 (ω -3) (FAO, 2012). La presencia de dichos ácidos grasos poliinsaturados principalmente en los pescados azules (salmón, atún, anguila, sardina, arenque...), es la responsable de muchas propiedades cardiosaludables. De hecho, el consumo de éstos está relacionado con la prevención y tratamiento de diversas enfermedades cardiovasculares, como pueden ser la arteriosclerosis y el colesterol. Su beneficio deriva de su riqueza en ω -3, que aumenta el colesterol HDL o “colesterol bueno” y reduce el LDL o “colesterol malo”, reduciendo de esta forma el colesterol total y los triglicéridos presentes en el torrente sanguíneo (FAO,2012).

Hay que destacar que el consumo de pescado ha ido incrementándose drásticamente a lo largo de los últimos años, lo cual se ve reflejado en el gasto promedio incurrido en productos de la pesca. En 2013 se han alcanzado en EUR los 54,7 billones, suponiendo este un aumento del 1% respecto a los 54 billones de 2012, lo cual se traduce en un aumento del 11% respecto a los 50 billones de 2005 (EU Fish Market, 2015).

Según un informe de la European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products (EUMOFA), entre las especies más consumidas de pescado en la UE, destaca el salmón. En concreto, éste ha sido el producto de pesca con mayor tasa de importación en la Unión Europea en el 2014, con 794.000 toneladas, con un valor en EUR de 4,3 billones, aumentando esta cifra en 280 millones de euros respecto al periodo de tiempo comprendido entre 2013 y 2014 (EU Fish Market, 2015).

Actualmente, la acuicultura proporciona el 43% de los productos consumidos derivados de la pesca, los cuales 3 de cada 4 son salvajes. Además, en 2012, los países Europeos sufrieron un cambio en sus preferencias de consumo. Dentro de las 13 especies más consumidas, el salmón se sitúa como la primera elección del consumidor, generando un gasto de 1,97 Kg per cápita (93% especies criadas en granja y 7% en piscifactorías) (EU Fish Market, 2015).

El salmón (*Salmo Salar L.*) presenta una oferta abundante en el mercado, y en los últimos años, ha experimentado un descenso en el precio de comercialización. En este momento sus cotizaciones están acercándose al precio mínimo del importe establecido por la Unión Europea de 2,80 euros/Kg de peso en vivo (FAO, 2008); suponiendo su uso una opción altamente interesante para la elaboración de productos a base de pescado. Además, el salmón es un pescado azul con un alto valor nutritivo, como queda patente en la Tabla 1. Es importante señalar que éste presenta un perfil lipídico rico en ácidos grasos ω -3, siendo muy beneficioso para la salud humana, por todos los efectos expuestos anteriormente.

1.2 PRODUCTOS DE LA PESCA

Pese a que el pescado es un alimento saludable y nutritivo, a veces su consumo es inferior al recomendado. Esto es debido a que los consumidores actuales además de buscar dietas saludables y equilibradas, también demandan productos fáciles de preparar o listos para consumir y de elevada calidad sensorial. En este sentido, los inconvenientes que podría presentar el pescado es que tiene corta vida útil, su preparación en algunos casos puede resultar tediosa, la presencia de espinas, o el olor y sabor característico que presenta. Las tendencias en el consumo hacia la cocina rápida y sencilla, hace necesaria la oferta de productos derivados de la pesca listos para consumir o que requieran una mínima preparación. Otro aspecto a tener en cuenta, es que el estilo de vida actual hace que la compra se limite a uno o dos días semanales, por lo que es importante disponer de alimentos con una vida útil adecuada. Por último, el pescado en general, no tiene una gran aceptación entre la población infantil.

Desde hace décadas se pueden encontrar en el supermercado diferentes productos elaborados a base de pescado. Dentro de estos, destacan por su consolidación en el mercado, productos de la pesca congelados como varitas de pescado, medallones de pescado, palitos de pescado y cangrejo, nuggets, salchichas, hamburguesas, patés o caldos concentrados (Penalba, 2014). Todos los anteriores mencionados suponen una forma apetecible de comer pescado, sobre todo para niños, puesto que todos ellos poseen un sabor más neutro, que junto con el

rebozado en algunos casos y la falta de espinas, supone un alimento mucho más apetecible para este sector tan problemático.

Tabla 1. Composición nutricional del salmón (*Salmo salar* L.) (Moreiras et al., 2013).

Nutriente	Por 100 g de porción comestible
Energía	182(kcal)
Proteínas	18,4(g)
Lípidos totales	12(g)
AG saturados	2,16(g)
AG monoinsaturados	5,43(g)
AG poliinsaturados	1,9(g)
ω -3	1,64(g)
C18:2 Linoleico (ω -6)	0,242(g)
Colesterol	50(mg/100kcal)
Hidratos de carbono	0(g)
Fibra	0(g)
Agua	69,6(g)
Calcio	27(mg)
Hierro	0,7(mg)
Yodo	28,3(μg)
Magnesio	26(mg)
Zinc	0,8(mg)
Sodio	98(mg)
Potasio	310(mg)
Selenio	250(μg)
Fósforo	20(mg)
Tiamina	0,2(mg)
Riboflavina	0,15(mg)
Equivalentes niacina	10,4(mg)
Vitamina B6	0,75(mg)
Folatos	26(μg)
Vitamina B₁₂	5(μg)
Vitamina C	0(mg)
Vitamina A: Eq. Retinol	13(μg)
Vitamina D	8(μg)
Vitamina E	2(mg)

Entre la amplia gama de productos de pescado que las empresas han ido lanzando al mercado para adaptarse a las tendencias de consumo actual, cabe destacar los patés, objeto de estudio en este trabajo. El paté es un producto con una importante tradición gastronómica, que engloba un rango muy amplio de ingredientes, lo que permite obtener una gran variedad de sabores, olores y texturas (Aquerreta et al., 2002). Tradicionalmente, se ha elaborado a partir de carne, pero los patés de pescado fueron introduciéndose en el mercado poco a poco, teniendo una gran acogida. El paté de atún se comercializa desde hace décadas, pero a lo largo del tiempo se han ido incorporando otras especies para la elaboración de este tipo de productos. Concretamente, en un estudio llevado a cabo en 2015 en las principales cadenas de

distribución en España, se encontraron 25 productos diferentes de paté de pescado, siendo la especie más empleada el atún, pero también se encontraron otras especies como el salmón, anchoa, merluza, pulpo, langosta y centollo (Albalat, 2015). Estos productos presentaban un contenido de pescado entre un 16% y un 47%, y algunos de ellos contenían aditivos como potenciadores de sabor o estabilizantes, por lo que el valor nutritivo y saludable del pescado se vería seriamente disminuido. Además el empleo de aditivos está en contraposición con los requerimientos del consumidor actual, que busca productos exentos de aditivos químicos sintéticos.

Por otra parte, hay que señalar el alto interés de la población por el consumo de alimentos funcionales. En este sentido, la incorporación de algas como ingrediente funcional, a un producto elaborado a base de pescado, podría ser una alternativa muy interesante.

1.3 ALGAS

Las algas marinas han supuesto un pilar fundamental en la cultura oriental desde la antigüedad, destacando su uso en Japón, China y Corea. Se consumían principalmente como ingrediente principal en la elaboración de sus platos. Sin embargo, debido a sus excelentes propiedades nutricionales y tecnológicas, su uso se ha ido extendiendo. Hoy en día, el uso de algas no solo se remite a la industria alimentaria, como fuente de ficocoloides, espesantes y gelificantes, sino que también se emplean en industrias farmacéuticas y cosméticas (Jiménez-Escrig et al. 2000).

En la actualidad, el consumo de algas en Europa y, concretamente en España ha ido aumentando significativamente, revalorizando su uso en la dieta de los consumidores (Gómez-Ordóñez, 2013). El aumento de la incorporación de algas en la dieta Europea estriba fundamentalmente en sus excelentes propiedades funcionales, debido a la presencia de una serie de componentes bioactivos. Además, incrementan el valor nutricional del producto, puesto que son ricas en vitaminas, minerales, fibra dietética y con un alto contenido en proteínas y aminoácidos. La presencia destacable de fibra en dichos alimentos les otorga un gran poder texturizante. Por otro lado, las algas presentan compuestos con capacidad antioxidante y también tienen gran potencial antimicrobiano, demostrado en numerosos estudios (Rupérez et al., 2002; Taskin et al., 2007). Se caracterizan igualmente por un alto contenido en humedad, alcanzando incluso el 94% del peso total en algunas especies (Holdt y Kraan, 2011). Además, resulta altamente interesante el bajo contenido en grasa que poseen, siendo su contenido generalmente inferior al 1%.

Existen más de 200 especies de algas destinadas al consumo humano, estimando su producción anual en 90.000 toneladas en peso seco (FAO, 2004). Se ha comprobado de la misma forma, que su composición química está influenciada por la especie, situación geográfica, condiciones ambientales y la estación del año. Es por ello, que entre todas, las más consumidas y conocidas son nori (*Porphyra*), kombu (*Laminaria*), espagueti de mar (*Himanthalia*) y wakame (*Undaria*). Así, en los últimos años, *Porphyra* (nori) ha figurado en las estadísticas japonesas sobre pesca como la tercera captura en orden de importancia. Asimismo, cabe destacar que la producción de *Undaria* (wakame), en su mayor parte cultivada pero también en parte silvestre, es de unas 33 000 toneladas de peso en seco, y su valor asciende a 230 millones de dólares en EE.UU. Por ello, en la actualidad, solo es posible cubrir la demanda utilizando métodos de cultivo a gran escala (FAO, 2004).

En un estudio llevado a cabo en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la UPV (Palasí, 2015), se evaluó la composición nutricional, contenido en compuestos fenólicos, capacidad antioxidante y propiedades tecnológicas de las algas nori, kombu, espagueti de mar y wakame. De este trabajo se concluyó que las 4 algas presentaron altos contenidos en proteínas y en aminoácidos esenciales, destacando el alto contenido en ácido aspártico y glutámico (relacionados con el sabor umami), que son potenciadores del sabor. Otro aspecto a destacar es el importante aporte de minerales y el bajo aporte calórico. Todas las especies estudiadas presentaron valores importantes de Na, K, Ca, Mg y cloruros. La relación Na/K fue especialmente baja en kombu y espagueti de mar, por lo que su incorporación en ciertos alimentos podría ser una buena alternativa para reducir la cantidad de sodio en alimentos procesados. Los contenidos en fibra de todas las algas evaluadas fueron muy altos, especialmente en kombu, por lo que su incorporación en productos de la pesca supondría un aporte importante de fibra, lo que mejoraría el valor nutricional del pescado. En dicho trabajo se demostró que las algas evaluadas, especialmente espagueti de mar, son una fuente natural de antioxidantes. Además, las 4 algas presentan propiedades importantes de retención de aceite y de agua. Esto indica, que pueden sustituir a algunos aditivos químicos empleados para mejorar la textura y jugosidad de los productos elaborados a base de pescado.

Tal y como se expone en dicho trabajo, la incorporación de las algas en los productos de la pesca implicaría un valor añadido, ya que no se vería reducido el contenido proteico que posee el pescado, aportando minerales, compuestos fenólicos y fibra sin aumentar el valor calórico del producto. Asimismo, la incorporación de estas algas podría emplearse para reducir el contenido de Na en el producto final y evitar el uso de algunos aditivos químicos.

Concretamente, la elaboración de patés de pescado y algas sin aditivos, sería una propuesta muy interesante en línea con las tendencias de consumo actual. En un trabajo realizado por el grupo de investigación que participa en este estudio, se desarrolló un paté de salmón y algas, con adecuadas características sensoriales (Albalat, 2015). Sin embargo, para poder comercializar dicho producto, es necesario llevar a cabo estudios de la evolución de la calidad durante el almacenamiento y de la vida útil.

1.4 VIDA ÚTIL PRIMARIA Y SECUNDARIA

La vida útil de un alimento es el periodo de tiempo, desde la producción o envasado del mismo, durante el cual puede mantenerse en condiciones de almacenamiento especificadas sin perder su inocuidad y manteniendo una calidad óptima. También, la empresa alimentaria es la responsable de establecer la vida útil en unas condiciones definidas, que deberían ser similares a las condiciones de distribución, almacenamiento y uso.

En los productos que se comercializan en envases cerrados, al hablar de vida útil cabe diferenciar entre dos términos:

- Vida útil primaria: Hace referencia a la durabilidad del producto siempre que no se lleve a cabo la apertura del envase.
- Vida útil secundaria. Es la durabilidad del producto tras la apertura del envase.

En relación a estos dos términos, el Reglamento (UE) nº 1169/2011 (Comisión Europea, 2011), en su artículo 24, establece la obligación de indicar en el etiquetado la fecha de duración mínima o de caducidad del producto envasado, y en el artículo 25 indica que: “Con el fin de permitir la conservación o utilización adecuada de los alimentos una vez abierto el envase, se indicarán, cuando proceda, las condiciones y/o la fecha límite de consumo.” Por ello, las empresas tienen que determinar, tanto la vida útil primaria como la vida útil secundaria, estando obligados a presentar dicha información en la etiqueta del envase.

2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es evaluar la calidad y vida útil de dos tipos de patés elaborados a partir de salmón con o sin algas conservados en refrigeración.

Para alcanzar este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar la evolución de la calidad y vida útil primaria de los dos patés durante su almacenamiento en refrigeración, previamente a la apertura del envase.
- Evaluar la evolución de la calidad y vida útil secundaria de los dos patés durante su almacenamiento en refrigeración, tras la apertura del envase.

2.2. PLAN DE TRABAJO

Para cumplir los objetivos propuestos se planteó el siguiente plan de trabajo:

- Revisión bibliográfica para establecer los parámetros más adecuados y los métodos de análisis.
- Elaboración de los patés, envasado, tratamiento térmico y almacenamiento en refrigeración.
- Determinación de parámetros de calidad y vida útil primaria del producto almacenado en refrigeración.
- Determinación de parámetros de calidad y vida útil secundaria del producto almacenado en refrigeración.
- Tratamiento estadístico de los datos e interpretación de resultados.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. EQUIPOS

- Agitador magnético con calefacción JP-Selecta modelo FB1 5001 (J.P. Selecta S.A, Barcelona, España).
- Autoclave JP-Selecta (Barcelona, España).
- Balanza analítica Exacta modelo PD22 (Alessandrini, Italia).
- Balanza Kern modelo EG 220-3NM (Kern & Sohn, Balingen, Alemania).
- Baño termostático SBS Instruments modelo BT-4, con temperatura regulable desde ambiente a 100°C (Barcelona, España).
- Cabina de flujo laminar Telstar AH-100 (Azbil Telstar, S.L, Barcelona, España).
- Centrífuga Medifriger BL (J. P. Selecta, S.A, Barcelona, España).
- Cromatógrafo líquido de Alta Resolución Hitachi LaChrom Elite (Hitachi Ltd., Tokio, Japón) con bomba (modelo L-2130), automuestreador (modelo L-2200) y detector UV (modelo L-2400).
- Congelador Liebherr modelo GNP (Liebherr-Internacional, Deutschland GmbH, Beberach an der Riss, Alemania).
- Estufa Binder modelo FD 115, temperatura máxima 300 °C (Binder GMBH, Tuttlingen, Alemania).
- Espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific, Helios Zeta UV-VIS (Fisher Scientific UK Ltd, Leicestershire, Reino Unido).
- Estufa JP-Selecta rango 0-80 °C con capacidad de 50L (Barcelona, España).
- Frigorífico Liebherr modelo Profiline (Liebherr-Internacional, Deutschland, Biberach an der Riss, Alemania).
- Fotocolorímetro Minolta CM-1000R (Minolta, Osaka, Japón)
- Homogeneizador de laboratorio Stomacher (IUL instruments, Barcelona, España).
- Homogeneizador Ultraturrax IKA modelo T-25 digital (IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania).
- pH-metro Crison basic 20+, con electrodos de punción para productos sólidos (Crison Instruments S.A., Barcelona, España).
- Thermomix modelo TM-31 2007 (Vorwerk, Madrid, España).
- Unidad de destilación JP-Selecta Pro-Nitro (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España).

3.2 MATERIA PRIMA

Para la realización del estudio se emplearon dos tipos diferentes de patés, uno de ellos paté de pescado y el otro elaborado con pescado y algas. En la elaboración de los dos tipos de patés se empleó salmón congelado (*Salmon Salar L.*), adquirido en un supermercado de la ciudad de Valencia. Se emplearon filetes de salmón, con piel y libres de espinas, envasados individualmente, con un peso promedio escurrido que osciló desde 180 a 300 g.

Además, para la preparación del paté de pescado y algas, se utilizó una mezcla de algas compuesta por las algas wakame, espagueti de mar, kombu y nori. La selección de estas variedades de algas se realizó con el objetivo de incorporar al producto final elaborado una mezcla de algas que permitiera aportar al paté de pescado compuestos con un interés nutricional y tecnológico definido. De esta forma, las algas wakame, espagueti de mar, kombu y nori poseen componentes bioactivos característicos. Las algas nori y kombu se caracterizan por tener un alto contenido en aminoácidos, como el ácido aspártico y el ácido glutámico, que poseen un efecto potenciador del sabor. Los compuestos fenólicos en las algas espagueti de mar y los carotenoides en wakame permiten alargar la vida útil del producto ejerciendo un poder estabilizante, gracias a su capacidad antioxidante y antimicrobiana. El elevado contenido proteico en algas wakame y nori permite el desarrollo de un producto con un alto valor proteico, manteniendo los niveles de proteínas cercanos al pescado empleado como materia prima. Finalmente, cabe destacar que las algas, en general, presentan un alto contenido en fibra, y puesto que los patés comerciales presentan valores de fibra despreciables, su incorporación supone un valor añadido, una mejora en la textura y una ventaja nutricional respecto a otros productos similares.

Las algas que se utilizaron en la elaboración fueron adquiridas por la empresa Porto-Muiños localizada en A Coruña (Galicia, España). Las algas fueron suministradas deshidratadas y molidas mediante un proceso de microestallado. Según la información facilitada por la empresa, el proceso de microestallado permite mantener las propiedades nutricionales y aromas originales de las algas, ya que se evita cualquier fricción durante el molido de las mismas.

El resto de ingredientes empleados en la formulación de los patés fueron, aceite de oliva calidad virgen extra comercializado con marca del distribuidor, envasado por Sovena (Sevilla,

España) y leche en polvo (Central Lechera Asturiana, Corporación Alimentaria Peñasanta S.A, Pdo. de Asturias, España.

3.3. ELABORACIÓN DE LOS PATÉS

Para el desarrollo del paté de salmón y algas se utilizó la formulación que se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Formulaciones (g ingrediente/100 g paté) y protocolos de preparación de los patés de pescado y algas.

Código	Pescado	Aceite	Agua	Leche	Sal	Algas
F1	55,4	29,0	10,4	2,1	-	3,1
F2	56,9	29,8	10,6	2,1	0,5	-

Previo a la elaboración de los patés, el pescado descongelado se introdujo en un baño de agua a 80 °C durante 30 min, el agua y el aceite también se calentaron hasta alcanzar una temperatura de 60 °C.

Para la elaboración de los patés, el pescado empleado como materia prima se descongeló a 4 °C durante 18 h. Una vez descongelado, se troceó, introdujo en la thermomix y trituró durante 1 min. A continuación, se incorporó la leche en polvo y las algas o sal, según la formulación correspondiente, y se continuó la homogeneización durante 2 min. Posteriormente, se incorporó el aceite, manteniendo la homogeneización durante 1 min y finalmente el agua, homogeneizando 2 min más.

Una vez finalizada la elaboración, los patés se introdujeron en tarros de cristal con una capacidad aproximada de 150 g de producto y se introdujeron en un baño a 80 °C durante 30 minutos. Este tiempo fue el establecido en estudios previos como el necesario para que el centro térmico del producto alcanzara los 80 °C. Finalmente los tarros se enfriaron con agua fría y se almacenaron en refrigeración hasta su análisis.

3.4. ESTUDIO DE VIDA ÚTIL

3.4.1 VIDA ÚTIL PRIMARIA.

El estudio de la vida útil primaria se llevó a cabo mediante determinaciones físico-químicas y microbiológicas a día 0, 15, 30, 45, 60, 75, 90 y 120 de almacenamiento en refrigeración. La

elección del tiempo y temperatura de almacenamiento, se hizo en base a otros estudios de paté obtenidos mediante procesos similares al de este trabajo, en donde las muestras se almacenaban en refrigeración durante un periodo máximo de 90 días (Amaral et al., 2015; Delgado-Pando et al., 2012; Villaroel et al., 2010).

Cada día de análisis se tomaron aleatoriamente 2 tarros de paté de cada lote de muestras (salmón y algas). Las muestras de paté se analizaron por duplicado determinando el pH, los valores de humedad, el nitrógeno básico volátil total (N-BVT), la determinación de metabolitos de degradación de ATP y del valor K_1 , el índice de TBA, color, así como los recuentos microbianos de aerobios mesófilos y enterobacterias.

3.4.2 VIDA ÚTIL SECUNDARIA.

Para la realización del estudio de vida útil secundaria, se abrieron a día 0 todos los tarros de paté a analizar, colocándolos de nuevo cerrados en refrigeración. Del mismo modo que en el estudio de la vida útil primaria, se llevaron a cabo las mismas determinaciones físico-químicas y microbiológicas a día 0, 3, 6 y 8. La elección del tiempo y temperatura de almacenamiento en esta parte del estudio, se hizo en base a las recomendaciones de los fabricantes de los patés comerciales, que indican en las etiquetas de los mismos que una vez abierto el envase se consuma dentro de los 5 días siguientes.

Cada día de análisis se tomaron aleatoriamente 2 tarros de cada lote (salmón y salmón/algas) y se realizaron las determinaciones analíticas descritas en el apartado anterior, por duplicado. Cabe mencionar, que en el estudio de vida útil secundaria no se pudo realizar el análisis de N-BVT por problemas técnicos.

3.5 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

3.5.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

La determinación de humedad se realizó según el método descrito por la AOAC 950.46 (1997). Para ello, se secaron en estufa a 103 ± 2 °C durante 24 h pesasustancias con arena de mar y varilla de vidrio. A continuación, se atemperaron en un desecador y se pesaron en una balanza analítica (m_0). Se añadieron 5 g de muestra y se pesó de nuevo (m_1). Con la ayuda de la varilla de vidrio, se homogeneizó la muestra de paté con la arena de mar, favoreciéndose la salida de agua del producto. Las muestras se mantuvieron en estufa a 103 ± 2 °C durante 24 h, periodo tras el cual, los pesasustancias se atemperaron en desecador y se pesaron de nuevo (m_2). El porcentaje de humedad expresado en g de agua por 100 g de muestra, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100$$

donde:

m_0 = masa del pesasustancias con arena y varilla (g).

m_1 = masa del pesasustancias con arena, varilla y muestra antes de la desecación (g).

m_2 = masa del pesasustancias con arena, varilla y muestra después de la desecación (g).

3.5.2 DETERMINACIÓN DEL pH

La determinación del pH se realizó directamente en el producto empleando un pH-metro con electrodo de punción (Crisson Instruments S.A., Alella, Barcelona, España). De cada una de las muestras se tomaron las medidas de pH por triplicado.

3.5.3 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN NITRÓGENO BÁSICO VOLÁTIL TOTAL (N-BVT).

La determinación del nitrógeno básico volátil total (N-BVT) se realizó mediante destilación por arrastre de vapor, según el método descrito por Malle y Tao (1987). Para ello, se pesaron 15 g de muestra y se homogeneizaron con 60 mL de una disolución de ácido tricloroacético al 7,5% (p/v), empleando Ultraturrax durante 1 min. A continuación, el homogeneizado se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min y luego se filtró el sobrenadante con papel de filtro Whatman nº 1. El filtrado obtenido se llevó a la unidad de destilación (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España) junto con 5 mL de NaOH al 10% (p/v). El destilado fue recogido sobre 15 mL de una disolución de

ácido bórico al 4% (p/v) y unas gotas del indicador Shiro T-Shiro, destilándose hasta obtener un volumen final de 150 mL. La disolución obtenida se valoró con ácido sulfúrico 0,01 N. La concentración de N-VBT expresada en mg N/100 g muestra, se calculó a partir del volumen de ácido sulfúrico empleado en la valoración del destilado recogido.

3.5.4. DETERMINACIÓN DE METABOLITOS DE DEGRADACIÓN DE ATP Y DEL VALOR K_1 .

La determinación de los compuestos inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) en las muestras de paté se realizó por cromatografía líquida de alta resolución. Para ello, se pesaron 2,5 g de muestra, se mezclaron con 25 mL de HClO₄ 0,6 M y se homogeneizaron durante 4 min en un Stomacher (IUL Masticator, Barcelona, España) a 4 °C. A continuación, el extracto fue centrifugado a 10000 g durante 10 min/4°C y el sobrenadante recogido se filtró empleando un filtro Whatman nº 2, llevado a pH 7 utilizando carbonato de potasio y se dejó reposar en hielo durante 5 min. Este extracto fue centrifugado de nuevo empleando las condiciones anteriores y el sobrenadante fue almacenado a -20 °C hasta su análisis.

El método de análisis utilizado fue el descrito por Fernández-Segovia *et al.* (2012) con alguna modificación. Las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC), Hitachi LaChrom Elite (Hitachi Ltd., Tokyo, Japón) con una bomba (modelo L-2130) y un detector UV (modelo L-2400). Las separaciones cromatográficas se realizaron con una columna de fase reversa C18 150×4.6 mm (Análisis Vínicos, S.L., Tomelloso, Spain) y las condiciones cromatográficas empleadas fueron las siguientes:

- Volumen de inyección: 20 μ L
- Fases móviles:
 - Fase móvil A: K₂HPO₄ 0,01M, en agua ultra pura a pH=4,5
 - Fase móvil B: 60% Acetonitrilo (calidad HPLC) en agua ultra pura
- Flujo de la fase móvil: 0,9 mL/min.
- Temperatura de la columna: 25 \pm 1 °C
- Detector de ultravioleta, λ = 254 nm

El programa de elución en gradiente se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Programación del gradiente de elución empleado en el análisis de los compuestos de degradación del ATP. A: K₂HPO₄ 0,01M; B: 60% Acetonitrilo en agua.

Fase Móvil		
Tiempo (min)	A%	B%
0	98	2
6	95	5
7	0	100
15	0	100
16	98	2
26	98	2

Para la identificación de los analitos en la muestra, se inyectaron en el equipo cromatográfico disoluciones de los patrones de cada uno de los nucleótidos (IMP, Ino, Hx). La identificación se llevó a cabo comparando los tiempos de retención de estos patrones, con los correspondientes picos obtenidos en el cromatograma de la muestra y se confirmó con la técnica de adición de patrón. A continuación, se construyeron las rectas de calibrado para cada uno de los patrones, representando el área del pico frente a la concentración de patrón. De los cromatogramas de las muestras, se obtuvieron las áreas para cada compuesto y haciendo uso de las ecuaciones de las rectas de calibrado, se calculó la concentración de analito en el extracto de la muestra. El valor K₁ fue calculado de acuerdo a la siguiente ecuación, donde las concentraciones de los analitos se expresan en µmol/g de muestra.

$$K_1 = \frac{[\text{Ino}] + [\text{Hx}]}{[\text{IMP}] + [\text{Ino}] + [\text{Hx}]} \times 100$$

3.5.5. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE TBA

La determinación del índice del TBA se realizó mediante la medida de la absorbancia del cromógeno formado en la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBA) con el malonaldehído, siendo éste el componente mayoritario formado en la oxidación de las grasas.

Para esta determinación se emplearon los siguientes reactivos:

- Disolución antioxidante: 0,5 g de galato de propilo y 0,5 g de EDTA en una mezcla etanol/agua 1:1 (v/v) aforado a 100 mL.

- Disolución HCl 4 N
- Disolución de TBA (ácido tiobarbitúrico) 0,02 M
- Disolución B [TEP 20 mM (1,1,3,3-tetraetoxipropano o malonaldehído)]
- Disolución C (0,1 mL de disolución B aforada a 100 mL).

Se pesaron 15 g de muestra, la cual fue homogeneizada en Ultraturrax con 45 mL de agua destilada. El contenido se pasó a un tubo de destilación Kjeldahl y se añadieron 2,5 mL de HCl 4 N y 2,5 mL de disolución antioxidante. La mezcla se destiló en un destilador por arrastre de vapor hasta recoger 50 mL de destilado. Se tomaron 5 mL del extrato recogido, los cuales se colocaron en un tubo de ensayo con tapón de rosca y se añadieron 5 mL de la disolución de TBA.

Paralelamente se preparó una recta de calibrado a partir de diferentes concentraciones del patrón de malonaldehído:

Patrón 1: 0,05 mL de disolución C + 4,95 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Patrón 2: 0,1 mL de disolución C + 4,9 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Patrón 3: 0,25 mL de disolución C + 4,75 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Patrón 4: 0,5 mL de disolución C + 4,5 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Patrón 5: 1 mL de disolución C + 4 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Patrón 6: 2 mL de disolución C + 3 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Blanco: 5 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Los tubos se introdujeron en un baño a 80 °C durante 40 min. A continuación, se enfriaron y se midió la absorbancia a 530 nm. Se representó una recta de calibrado con los valores de absorbancia frente a la concentración de malonaldehído. Las concentraciones de malonaldehído en los extractos de las muestras, se calcularon sustituyendo los valores obtenidos en las lecturas de absorbancia, en la ecuación de la recta de calibrado. El valor del índice del TBA, expresado en mg de malonaldehído por kg de muestra, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de TBA} = \frac{72 \cdot C \cdot V_d}{V \cdot m \cdot 100}$$

donde:

72 = peso molecular del malonaldehído.

C = cantidad de malonaldehído obtenida a partir de la recta de calibrado (μ moles).

V_d = volumen del destilado recogido (L).

V = volumen de la alícuota del filtrado (L).

m = peso de la muestra (g).

3.5.6. DETERMINACIÓN DEL COLOR

La determinación del color de las muestras se realizó directamente sobre las muestras de paté. Para esta determinación se empleó un fotocolorímetro Minolta CM-1000R (Minolta, Osaka, Japón), observador 10º e iluminante D65. En el momento de la medición, la muestra fue cubierta con un vidrio óptico de baja reflectancia CR-A5/1829-752M para evitar el deterioro de la esfera integradora.

A partir de las coordenadas colorimétricas del sistema CIEL*a*b* (1976), 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).

3.6 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Para realizar los análisis microbiológicos a partir de cada muestra, se prepararon diluciones decimales, tal y como viene explicado en la Norma UNE EN-ISO 6887-3 (AENOR, 2004). A partir de estas diluciones se llevaron a cabo los análisis de microorganismos aerobios totales y de enterobacterias. Cada una de las muestras se analizó por duplicado.

3.6.1 ANÁLISIS DE MICROORGANISMOS AEROBIOS TOTALES

Para llevar a cabo esta determinación se siguió el método indicado en la Norma UNE-EN ISO 4883 (AENOR, 2003). Se realizaron siembras en profundidad de 1 mL de cada una de las diluciones empleando Plate Count Agar (Scharlau) como medio de cultivo. Todas las siembras se realizaron por duplicado y las placas se incubaron a 30 ± 1 °C durante 72 h. El recuento se realizó a partir de las placas que contenían entre 30 y 300 unidades formadoras de colonias

(ufc) y el resultado expresado en ufc/g se obtuvo multiplicando el número de colonias contado en la placa por el factor de dilución.

3.6.2 ANÁLISIS DE ENTEROBACTERIAS

Para este análisis se siguió el procedimiento descrito en la Norma ISO 21528-2 (ISO, 2004). A partir de cada una de las series de diluciones decimales, se realizaron siembras en doble capa empleando como medio de cultivo, agar Violeta Rojo Bilis Glucosa (Schalau). Las placas se incubaron a 37 ± 1 °C durante 18-24 h. Se contaron las colonias rojo-violeta rodeadas de un precipitado también violeta. Los resultados se expresaron como en el caso anterior.

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para cada muestra se realizaron ANOVAs simples con cada uno de los parámetros evaluados para comprobar la existencia de diferencias significativas a lo largo del tiempo de almacenamiento. 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.).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ESTUDIO DE VIDA ÚTIL PRIMARIA

4.1.1 EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO

4.1.1.1. EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD

Inicialmente el contenido en humedad de los patés fue de 57,54% para el paté de salmón y de 53,51% para el de salmón y algas. Como se puede observar en la Figura 1., la humedad presentó fluctuaciones durante el almacenamiento, pero para ningún tipo de muestra las diferencias encontradas a lo largo del tiempo fueron significativas ($p > 0,05$), debido a la hermeticidad del envase. Las muestras que incluían en su formulación algas, presentaron valores de humedad significativamente inferiores, lo cual se debe a que las algas empleadas se adicionaron en polvo y por tanto, en esta formulación se incluyó un mayor porcentaje de materia seca. Los valores de humedad observados para ambas muestras están dentro del rango dado por otros autores para diferentes tipos de patés de pescado (Aquerreta et al., 2002; Villaroel et al., 2010).

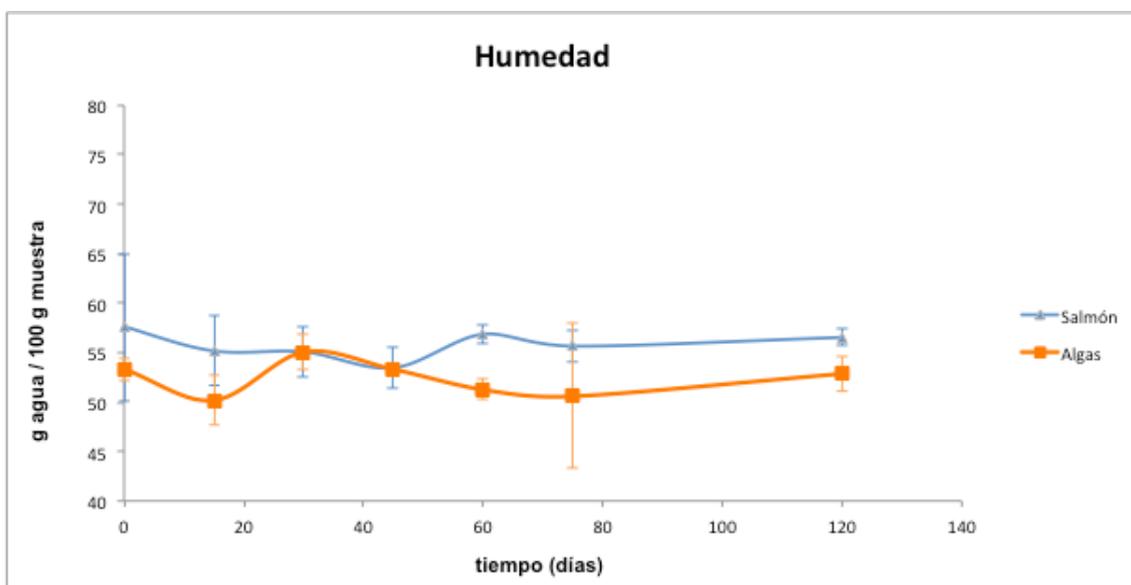


Figura 1. Evolución del contenido en humedad en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), $n=2$).

4.1.1.2. EVOLUCIÓN DEL pH

En la Figura 2. se representa la variación del pH a lo largo del almacenamiento en refrigeración en los dos tipos de patés. El pH de las muestras elaboradas solo con salmón se mantuvo estable durante todo el periodo de estudio, presentando valores significativamente superiores a las muestras con algas, lo que indica que la incorporación de algas tuvo un efecto considerable en este parámetro. Aunque el incremento de pH del paté con algas durante el almacenamiento fue significativo, teniendo en cuenta que ese aumento es de un orden de magnitud muy bajo (desde 6,11 (día 0) hasta 6,29 (día 120)), no puede ser considerado como un indicador del grado de deterioro de las muestras.

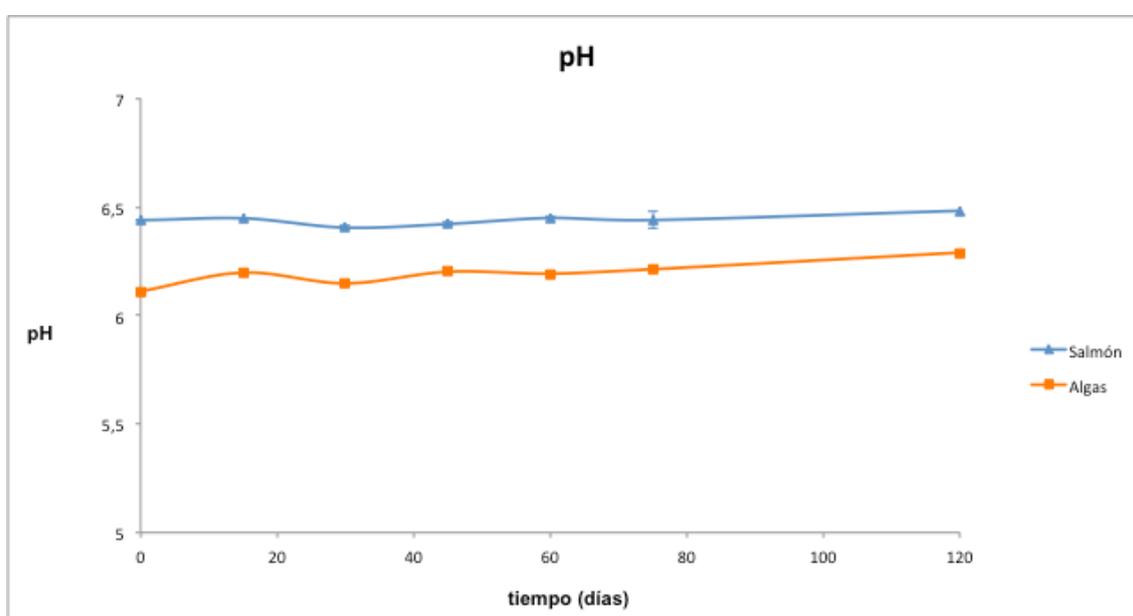


Figura 2. Evolución del pH en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria. (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

4.1.1.3. EVOLUCIÓN DEL NITRÓGENO BÁSICO VOLÁTIL TOTAL (N-BVT).

Con el término general de nitrógeno básico volátil total (N-BVT) se incluye la medición de N-TMA (producido por el deterioro bacteriano), DMA (producido por enzimas autolíticas durante el almacenamiento), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados con el deterioro de los productos pesqueros. Su determinación expresa cuantitativamente el contenido de bases volátiles de bajo peso molecular. Este parámetro ha sido durante muchos años, y continúa siendo, ampliamente empleado como un indicador de deterioro del pescado y de productos de la pesca (Khalafalla et al., 2015; Ocaño-Higuera et al., 2011; Rizo et al., 2016). El Reglamento

(CE) nº 2074/2005 (Comisión Europea, 2005), establece límites máximos de 25, 30 y 35 mg N-BVT/100 g para diversas especies de pescado fresco. Concretamente, para el salmón el límite es de 35 mg N-BVT/100 g. Aunque no existen límites legales para productos elaborados, los límites que se toman como referencia para evaluar el deterioro, son similares a los dados para pescado fresco (Ocaño-Higuera et al., 2011; Rizo et al., 2016).

Los valores iniciales de N-BVT fueron bajos, como se muestra en la Figura 3. aunque teniendo en cuenta que las bases volátiles que se miden con este parámetro se forman a partir de la degradación del pescado, y que éste constituye aproximadamente el 50% del paté, se podría decir que el contenido en el pescado sería de aproximadamente el doble. Incluso en ese caso, los valores estarían muy por debajo de los límites de deterioro comentados anteriormente. Aunque al inicio del almacenamiento ambos patés experimentaron un ligero aumento en el N-BVT, cabe destacar que este parámetro se mantuvo estable durante el resto del estudio, quedándose en valores en torno a 11 mg N-BVT/100 g a los 120 días para ambos patés. Se puede concluir, por tanto, que no hubo actividad autolítica ni microbiana capaz de generar bases volátiles en altas concentraciones indicadoras de deterioro. En los dos tipos de muestras, los valores de este parámetro fueron del mismo orden durante el periodo estudiado.

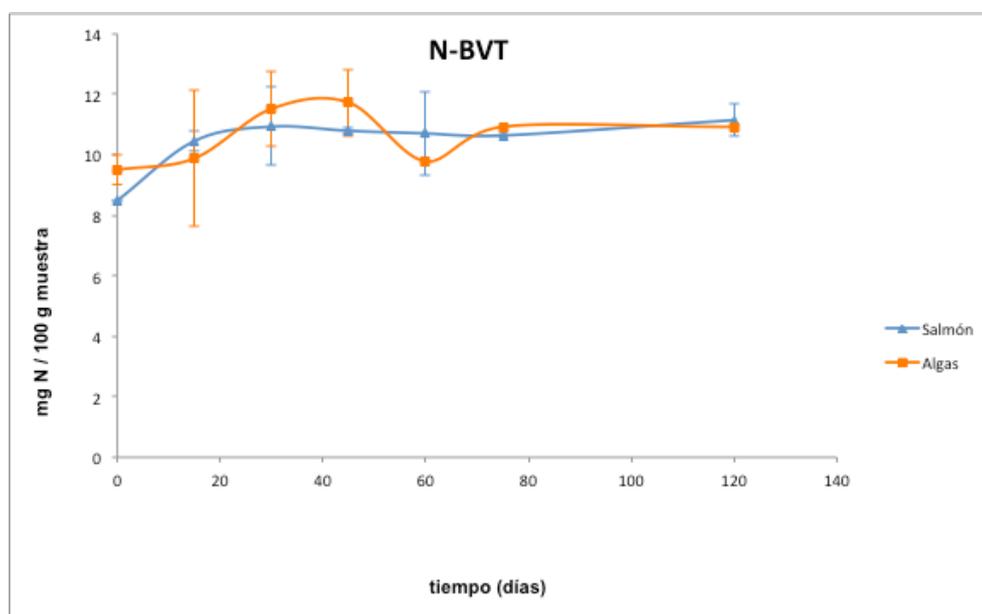


Figura 3. Evolución del contenido en N-BVT en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

4.1.1.4. EVOLUCIÓN DE LOS METABOLITOS DE DEGRADACIÓN DE ATP Y

VALOR K_1 .

La concentración adenosín 5'-trifosfato y sus productos de degradación (adenosín 5'-difosfato o ADP, adenosín 5'-monofosfato o AMP, inosín 5'-monofosfato o IMP, inosina o Ino, e hipoxantina o Hx), se han utilizado en numerosas investigaciones como índices de frescura e indicadores para el cálculo la vida útil en pescado. La degradación de ATP a ADP, de éste a AMP y de este último a IMP, ocurre de forma muy rápida; sin embargo, el paso de IMP a Ino y Hx ocurre de forma más lenta (Henehan et al., 1997). Por ello, en la práctica es muy común evaluar solamente la evolución de IMP a Ino y a Hx, simplificando el análisis. Especialmente, en los productos procesados es más recomendable el estudio de estos 3 compuestos, ya que las concentraciones de ATP, ADP y AMP serán nulas o muy bajas (Dondero et al., 2004; Rizo et al., 2016; Truelstrup-Hansen et al., 1995).

Además de evaluar estos metabolitos por separado, se utilizan índices que tienen en cuenta la evolución global de estos compuestos. El valor K_1 es un parámetro que incluye las concentraciones de IMP, Ino y Hx, tal y como se ha descrito en el apartado de Material y Métodos.

En la Figura 4. se muestra la evolución de los valores de IMP, Ino y Hx de las muestras de ambos patés durante el almacenamiento. Teniendo en cuenta la composición de pescado en el paté, se puede afirmar que los valores iniciales de los 3 analitos son acordes a los obtenidos en otros estudios de salmón fresco y descongelado, donde los niveles de inosina eran ligeramente superiores a los de IMP, siendo los de Hx los más bajos; además los valores K_1 obtenidos también fueron del mismo orden (Fernández-Segovia et al., 2012), como se muestra en la Figura 5. Estos resultados indicarían que en la materia prima de partida el IMP se había degradado a Ino, pero la degradación de inosina a hipoxantina no habría tenido lugar. El aumento de los niveles de hipoxantina en el músculo de pescado refleja la fase inicial del deterioro autolítico, así como del deterioro microbiano (Woyewoda et al., 1986), por lo que se puede decir que el salmón de partida no estaba deteriorado.

El tiempo de almacenamiento no tuvo un efecto significativo ($p < 0,05$) en la evolución de estos 4 parámetros, por lo que se deduce que no hubo un avance en el deterioro durante el almacenamiento. Estos resultados, por tanto, muestran la estabilidad de las muestras a lo largo del periodo de estudio.

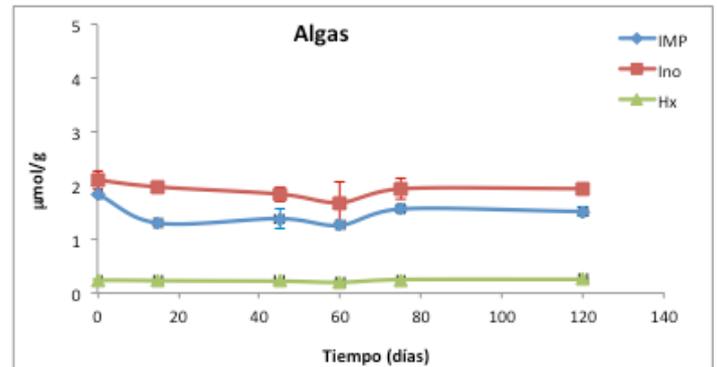
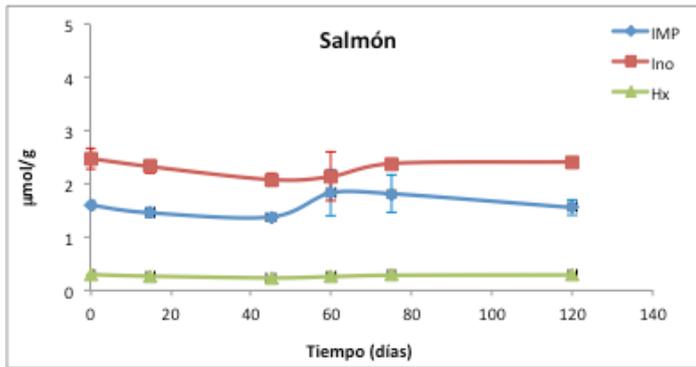


Figura 4. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

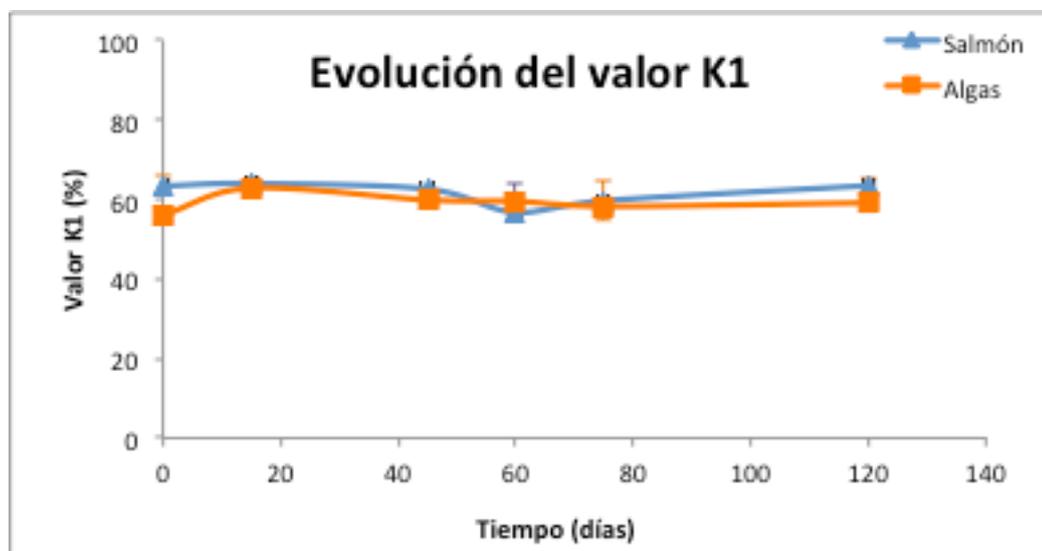


Figura 5. Evolución del valor K_1 en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

Aunque se observan ligeras fluctuaciones en los valores de estos parámetros entre ambos tipos de paté, estas diferencias no son indicativas de diferentes niveles de calidad.

4.1.1.5. RESULTADOS DEL ÍNDICE DE TBA

El índice del TBA es un parámetro que evalúa el grado de oxidación lipídica. Con este índice se miden los productos secundarios de la oxidación, como son los compuestos carbonílicos, especialmente aldehídos como el malonaldehído (MDA). Se ha empleado frecuentemente en estudios de vida útil de pescado y productos de la pesca (Fernández-Segovia et al., 2012; Khalafalla et al., 2015), así como en diferentes tipos de patés (Amaral et al., 2015; Delgado-Pando, 2012; Estévez et al., 2005). Los patés son altamente susceptibles a la oxidación, al tratarse de productos procesados con elevada proporción de grasa y bajas concentraciones de

antioxidantes naturales (Russell et al., 2003). En el presente estudio, dado que se empleó salmón que es un pescado azul rico en grasa y que la formulación incluye una proporción importante de aceite, es muy importante evaluar el grado de oxidación de las muestras que tiene lugar durante el almacenamiento.

En pescado se han propuesto diferentes valores de aceptabilidad. Según Connell (1995), a partir de 1 y 2 mg MDA/kg, el pescado puede empezar a desarrollar un olor desagradable. Por otra parte, en diferentes estudios de paté y productos cárnicos, se ha tomado como límite el valor de 1 mg MDA/kg (Amaral et al., 2015; Das et al., 2008), aunque en un estudio llevado a cabo en paté de avestruz, el índice de TBA del paté recién preparado era superior a 2 mg MDA/kg (Fernández-López et al., 2004).

En la Figura 6. se muestra la evolución del índice de TBA en los dos tipos de paté. Se puede observar que hasta el día 60 de estudio la formación de malonaldehído fue nula. A partir de este día de análisis, los dos tipos de paté presentaron un ligero aumento en el índice de TBA, con valores máximos inferiores a 1, lo que demuestra que no hubo deterioro de las muestras, en cuanto a oxidación lipídica se refiere.

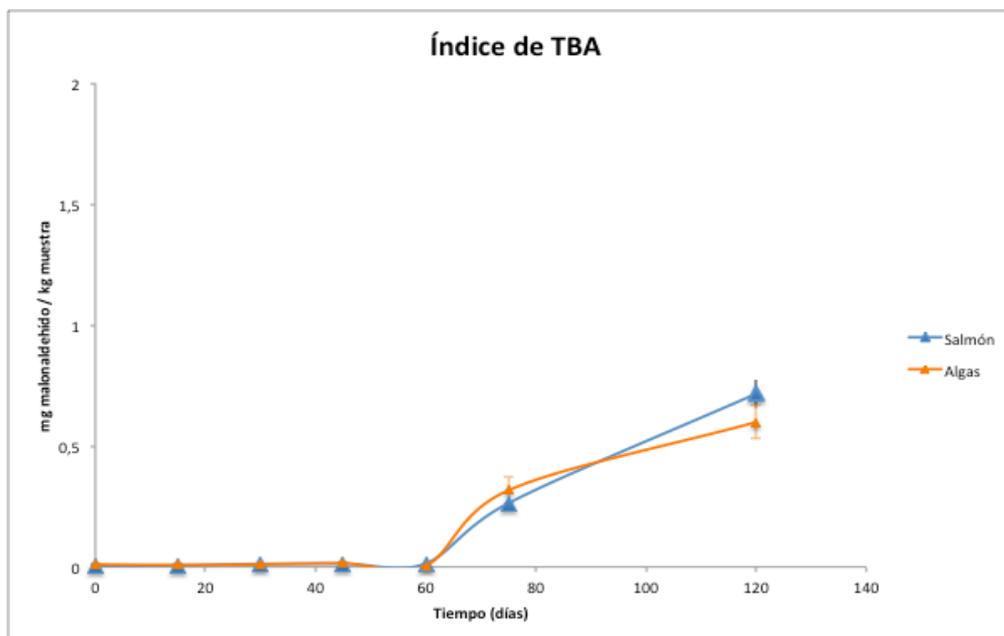


Figura 6. Evolución del índice del ácido tiobarbitúrico en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil primaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

4.1.1.6. EVOLUCIÓN DEL COLOR

La evaluación del color de las muestras de paté fue estudiada utilizando los parámetros de luminosidad (L^*), la tendencia al rojo (a^*), tendencia a tonos amarillos (b^*), así como las magnitudes psicofísicas de tono (h^*ab) y croma (C^*ab).

Tal y como se muestra en la Tabla 4., los resultados obtenidos al inicio del estudio reflejaron las diferencias evidentes en el color de las muestras debido al uso de algas en la elaboración de los patés. La incorporación de las algas en la formulación provocó la disminución de los valores de luminosidad, y de las coordenadas de color a, b, comparado con el paté que no contenía algas. En este sentido, los patés elaborados solo de salmón presentaron tonalidades más rojizas y amarillentas, que recuerdan más a la coloración del salmón empleado como materia prima.

Tabla 4. Resultados de los parámetros $CieL^*a^*b^*$ del paté de pescado de salmón y algas, en la vida útil primaria.

	L^*	a^*	b^*
DIA 0			
SALMÓN	64,85± 0,16	5,31±0,05	18,57±0,27
ALGAS	43,16±7,14	2,41±0,88	16,08±1,07
DIA 15			
SALMÓN	66,1±0,37	4,89±0,04	17,69±0,05
ALGAS	42,18±0,04	2,16±0,01	15,72±0,35
DIA 30			
SALMÓN	60,77±0,68	4,54±0,79	15,65±2,26
ALGAS	37,72±0,99	2,52±0,13	15,46±0,34
DIA 45			
SALMÓN	63,51±0,95	5,16±0,11	15,82±0,03
ALGAS	43,07±0,19	3,19±0,01	11,96±0,19
DIA 60			
SALMÓN	61,34±0,10	5,25±0,08	17,46±0,27
ALGAS	36,99±0,40	2,63±0,07	11,96±0,46
DIA 120			
SALMÓN	64,58±0,27	4,69±0,01	21,04±0,00
ALGAS	37,75±0,96	1,96±0,12	28,18±1,29

Tal y como se ha comentado anteriormente, los valores de L^* , a^* y b^* en las muestras de paté con algas fueron más bajos que los de las muestras de paté de salmón. Estos resultados coinciden con los observados por Moroney et al. (2013), los cuales estudiaron el efecto de la

incorporación de *Laminaria digitata* en el color de paté de cerdo, donde el uso del alga (perteneciente al mismo género que el alga kombu (*Laminaria ochroleuca*) empleada en este estudio) provocó un descenso significativo en los valores de luminosidad y de la coordenada a^* de los patés. El efecto de la incorporación de algas en diferentes alimentos también ha sido observado por otros autores (Choi et al., 2012, Cho et al., 2006; Chun et al., 1999).

Las diferencias de color producidas como consecuencia de la incorporación de las algas se atribuye principalmente a la presencia de los diferentes pigmentos de cada uno de los tipos de alga, las algas pardas (kombu, espagueti de mar y wakame) se caracterizan por un alto contenido mayoritario en xantofilas, mientras que el caroteno es el pigmento más característico en nori (alga roja). La presencia de estos pigmentos en las muestras de paté condicionan la coloración final del producto.

Durante el almacenamiento, se mantuvieron las diferencias en el color de los patés observadas al inicio del estudio. Aunque el análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los diferentes días de muestreo, no se puede establecer una tendencia clara en la evolución del color de los diferentes tipos de muestra, por lo que estas diferencias puntuales se deberían más a la variabilidad de la muestra que al efecto del tiempo de almacenamiento.

Los valores de las magnitudes psicofísicas de tono (h^*ab) y croma (C^*ab) de las diferentes muestras durante el almacenamiento se muestra en la Tabla 5. Las diferencias observadas en el tono confirman lo comentado anteriormente, de manera que los patés de salmón presentaron tonalidades, más rojizas mientras que tonalidades amarillentas fueron características de los patés de salmón y algas. Del mismo modo, no se observó una tendencia clara en la evolución de los valores de diferencia de color y croma durante el almacenamiento.

A partir de los resultados anteriores, se establece que el tiempo de almacenamiento en refrigeración no afectó al color de las muestras, ya que los resultados se mantuvieron estables a lo largo de los 120 días de análisis. Sin embargo, aunque se considera que diferencias de color superiores a 5 podrían ser perceptibles por el consumidor, en este caso estos valores no se correlacionarían con un deterioro progresivo de la coloración de la muestra durante el almacenamiento, sino que podrían ser atribuidas a la heterogeneidad de la muestra.

Tabla 5. Resultados de los magnitudes psicofísicas de tono (h*ab), croma (c*ab) y diferencia de color ΔE del paté de pescado y algas, en la vida útil primaria.

	TONO	CROMA	ΔE
DIA 0			
SALMÓN	74,04±78,52	19,32±0,27	-
ALGAS	81,46±50,45	16,26±1,39	-
DIA 15			
SALMÓN	74,55±55,19	18,35±0,06	1,59±0,30
ALGAS	82,18±88,67	15,86±0,35	1,07±7,19
DIA 30			
SALMÓN	73,84±70,68	16,30±2,39	5,07±2,18
ALGAS	80,75±69,21	15,67±0,36	5,47±6,24
DIA 45			
SALMÓN	71,93± 16,57	16,64±0,12	8,93±1,31
ALGAS	75,07±86,17	12,38±0,20	4,19±7,06
DIA 60			
SALMÓN	73,26±74,28	18,24±0,28	3,68±0,06
ALGAS	77,61±81,70	12,25±0,46	7,41±6,81
DIA 120			
SALMÓN	77,44±16,62	21,56±0,02	2,56±0,29
ALGAS	86,01±84,81	28,85±1,30	13,26±6,23

4.1.2 EVOLUCIÓN DE LOS RECUENTOS MICROBIANOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO

En relación al recuento de aerobios mesófilos y a enterobacterias, los criterios de clasificación de la calidad microbiológica dados por Gilbert et al. (2000) para patés en el punto de venta, son los siguientes:

- Calidad satisfactoria: mesófilos $<10^5$ ufc/g y enterobacterias $<10^2$
- Calidad aceptable: mesófilos $10^5 - <10^6$ ufc/g y enterobacterias $10^2 - <10^4$
- Calidad insatisfactoria: mesófilos $\geq 10^6$ ufc/g y enterobacterias $\geq 10^4$

En este trabajo, los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y de enterobacterias estuvieron por debajo del límite de detección durante los 120 días de almacenamiento. Esto indica que ambos patés fueron microbiológicamente estables y aceptables para el consumo durante el tiempo estudiado. Estos resultados ponen de manifiesto la excelente calidad higiénico-sanitaria del producto elaborado, debido al tratamiento térmico al que fue sometido, unido al almacenamiento en refrigeración.

Se han encontrado diferentes resultados en patés de pescado y de carnes sometidos a tratamientos de conservación similares a los de este trabajo. En un estudio llevado a cabo durante el almacenamiento en refrigeración de paté obtenido a partir de trucha, el recuento de aerobios mesófilos superaba los 3 ciclos logarítmicos la primera semana de estudio (Villarreal et al., 2010). Sin embargo, en otros estudios llevados a cabo en paté de cerdo, los recuentos de viables totales fueron muy bajos (inferiores a 3 log ufc/g), no encontrándose enterobacterias durante los 80 días de almacenamiento en refrigeración que duró el estudio (Delgado-Pando et al., 2012).

De esta parte del estudio de vida útil primaria, incluyendo los parámetros físico-químicos y los microbiológicos, se puede concluir que no hubo deterioro alguno de las muestras de paté durante los 120 días de almacenamiento en refrigeración. Esto indica, que la fecha de caducidad de este producto conservado a 4°C es superior a 3 meses. Sería interesante continuar el estudio hasta determinar la fecha máxima durante la cual el producto mantiene su calidad, para poder fijar de forma correcta una fecha de caducidad más larga. Asimismo, dada la alta estabilidad que han presentado ambos productos en refrigeración, se podría evaluar la fecha de caducidad cuando el producto se almacena a temperatura ambiente, dado que esto supondría una ventaja comercial para el producto elaborado.

4.2 ESTUDIO DE VIDA ÚTIL SECUNDARIA

Tal y como se ha comentado en el apartado de Material y Métodos, el estudio de vida secundaria se llevó a cabo, evaluando las muestras de paté tras la apertura de los envases durante un tiempo de almacenamiento en refrigeración de 8 días.

4.2.1 EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO

4.2.1.1 EVOLUCIÓN DE LA HUMEDAD

La Figura 7. muestra la variación de humedad de las muestras. El paté de salmón experimentó fluctuaciones de este parámetro sin mostrar una tendencia clara, mientras que el paté que contenía algas mostró una ligera pérdida de humedad durante la semana de estudio.

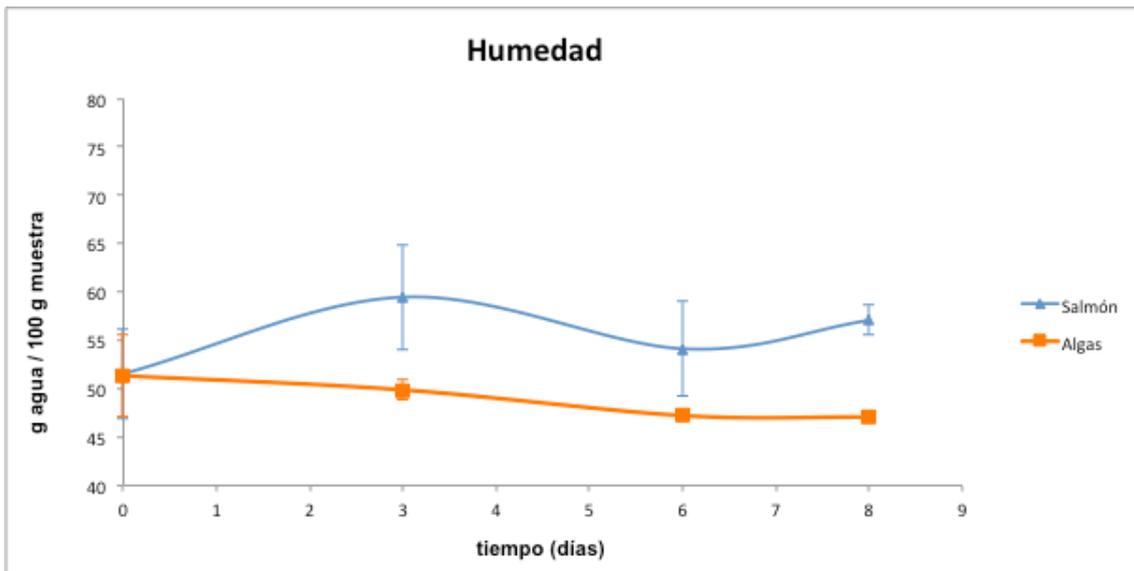


Figura 7. Evolución del contenido en humedad en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

4.2.1.2 EVOLUCIÓN DEL pH

En la Figura 8. se muestra la evolución del pH en la vida útil secundaria de ambos patés.

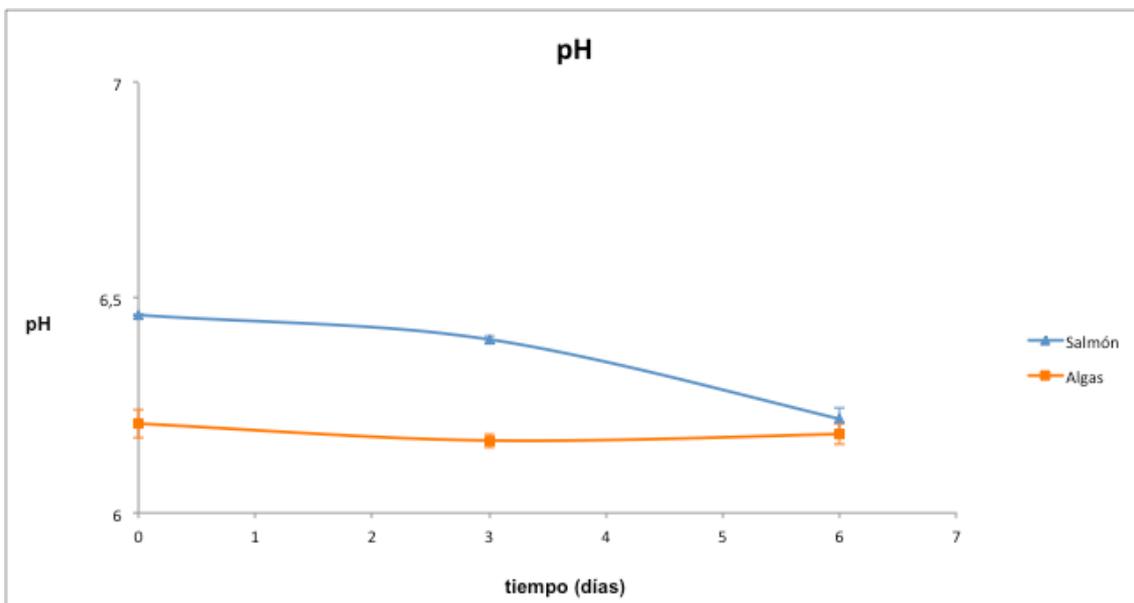


Figura 8. Evolución del pH en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

Inicialmente, el pH de las muestras fue aproximadamente 6,25 para el paté de algas y 6,4 para el paté de salmón. Como se puede observar, las muestras con algas presentaron un valor estable durante el almacenamiento, mientras que las que solo contenían salmón presentaron

un descenso hacia el día 6 de análisis. Este descenso podría ser debido al crecimiento de bacterias ácido-lácticas y consecuentemente a la formación de ácido-láctico.

4.2.1.3 DETERMINACIÓN DEL MÉTODO DE DEGRADACIÓN DE ATP Y VALOR

DEL K_1

En la Figura 9. se muestra la evolución de los valores de IMP, Ino y Hx de las muestras de ambos patés durante el almacenamiento, tras la apertura del envase. La evolución de los 3 analitos a lo largo del almacenamiento observada en ambas muestras, indica la estabilidad de los patés, ya que prácticamente no presentaron variación a lo largo del tiempo. Este comportamiento quedó reflejado en los valores K_1 obtenidos (Figura 10.) que fueron estables durante la semana de análisis sin diferencias notables entre ambas muestras.

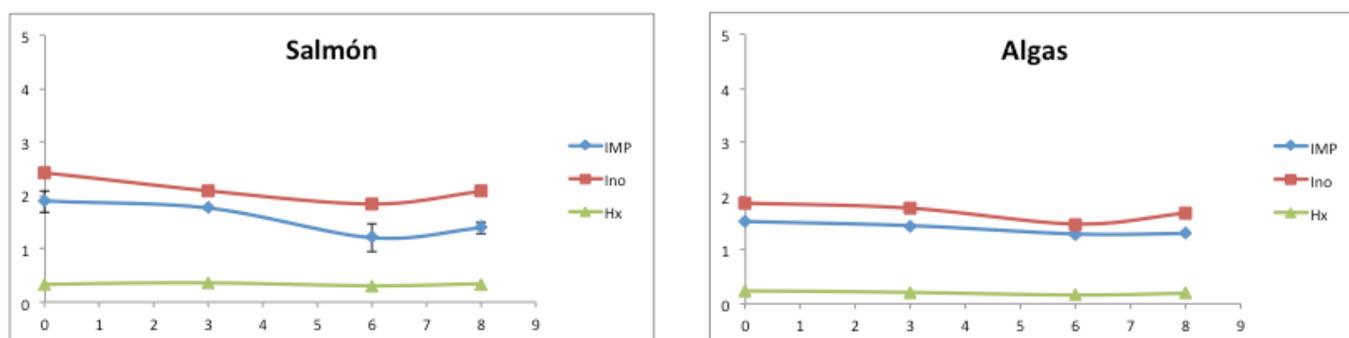


Figura 9. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

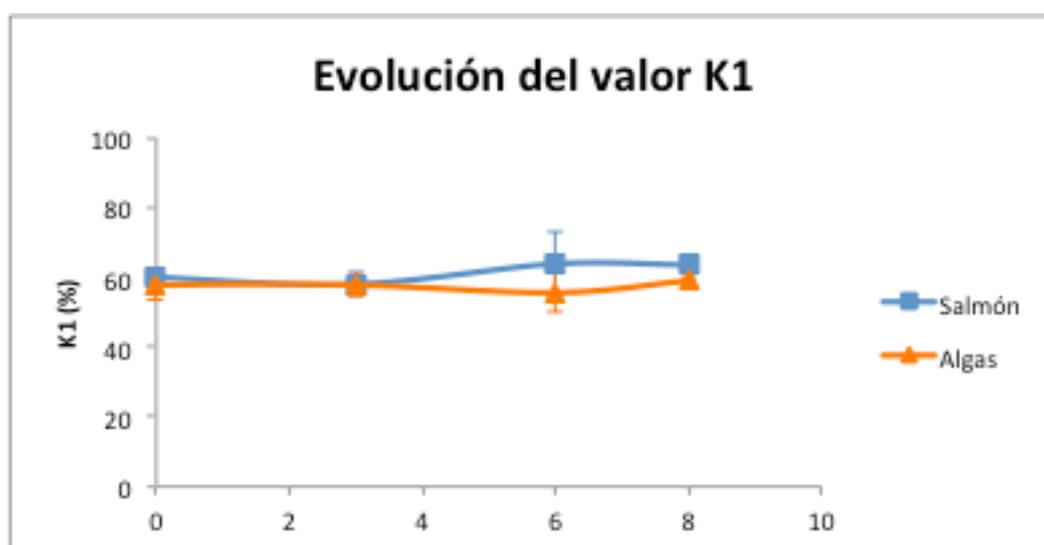


Figura 10. Evolución del valor K_1 en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

4.2.1.4 EVOLUCIÓN DEL ÍNDICE DE TBA

En la Figura 11. se puede observar que el nivel de oxidación de ambos patés aumentó progresivamente durante el almacenamiento, especialmente entre el día 3 y 6, estabilizándose al final del mismo. Aun así, cabe destacar, que los valores obtenidos son bajos y por tanto, no reflejan un deterioro de las muestras debido a la oxidación lipídica.

En relación al tipo de muestra, los valores más bajos los presentó el paté que contenía algas; sin embargo, dada la gran variabilidad de las medidas, se puede afirmar que las diferencias entre muestras son mínimas.

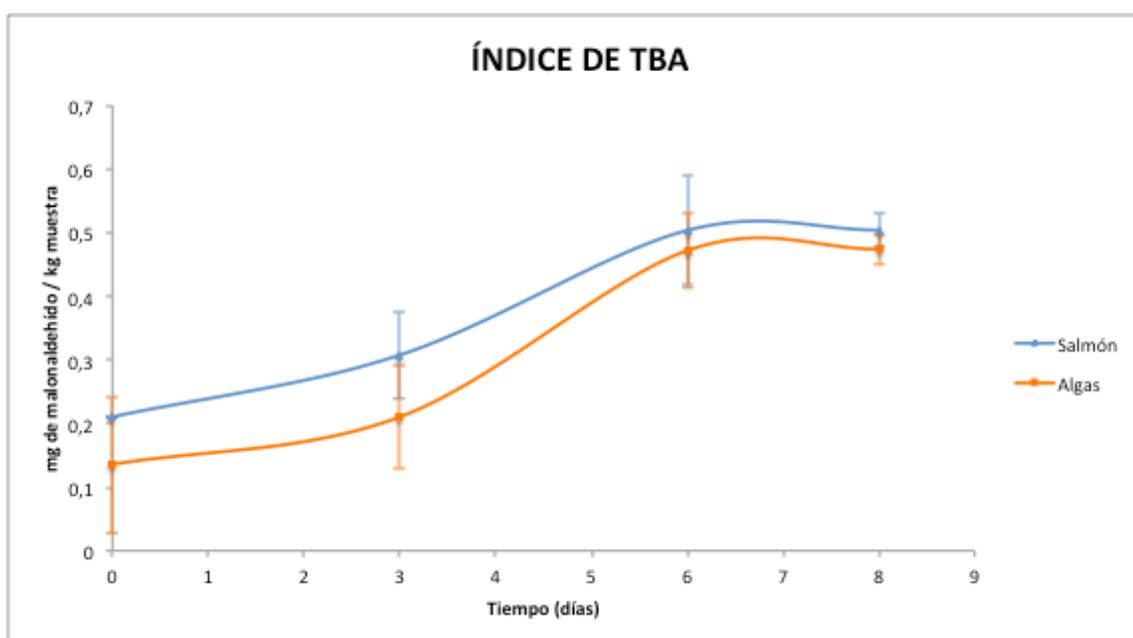


Figura 11. Evolución del índice del ácido tiobarbitúrico en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria (Valor medio y desviación estándar (barras de error), n=2).

4.2.1.4 EVOLUCIÓN DEL COLOR

La determinación del color fue estudiada utilizando el espacio Ciel*a*b*, además se volvieron a evaluar las magnitudes psicofísicas de tono (h*ab) y croma (C*ab).

En la Tabla 6. , se puede observar que en línea con los resultados obtenidos en la vida útil primaria no existe una tendencia en la evolución del color de las muestras. Donde las diferencias en los valores de luminosidad, a*, b*, tono y croma (Tabla 7.) estarían condicionadas por la heterogeneidad dentro de una misma muestra de paté, como ya se ha explicado anteriormente.

Tabla 6. Resultados de los parámetros CieL*a*b* del paté de pescado de salmón y algas, en la vida útil secundaria.

	L	a*	b*
DIA 0			
SALMÓN	59,17±5,49	4,17±0,30	15,34±1,24
ALGAS	41,87±0,90	2,21±0,07	15,89±1,08
DIA 3			
SALMÓN	63,01±0,72	4,21±0,02	16,20±0,08
ALGAS	39,71±0,04	2,59±0,19	15,97±0,05
DIA 6			
SALMÓN	62,30±0,53	4,13±0,01	15,81±0,26
ALGAS	39,90±0,07	2,41±0,20	16,52±0,19

Tabla 7. Resultados de las magnitudes psicofísicas de tono (h*ab), croma (c*ab) y diferencia de color ΔE del paté de pescado y algas, en la vida útil secundaria.

	TONO	CROMA	ΔE
DIA 0			
SALMÓN	74,78±76,43	15,90±1,28	-
ALGAS	82,07±86,05	16,05±1,08	-
DIA 3			
SALMÓN	75,45±77,26	16,74±0,08	3,94±4,92
ALGAS	80,80±14,17	16,17±0,20	2,19±1,35
DIA 6			
SALMÓN	75,35±87,60	16,34±0,26	3,17±5,07
ALGAS	81,69±44,28	16,70±0,28	2,08±1,22

4.2.2 EVOLUCIÓN DE LOS RECuentOS MICROBIANOS DURANTE EL ALMACENAMIENTO

En la Tabla 8. se muestran los resultados obtenidos en los análisis de microorganismos aerobios mesófilos y de enterobacterias.

Se puede observar que no hubo crecimiento de enterobacterias durante el periodo de estudio en ninguna de las muestras.

En cuanto al recuento de mesófilos, solo se pudo cuantificar el crecimiento de estos microorganismos a día 8 de almacenamiento, siendo los valores obtenidos muy bajos en ambas muestras, atendiendo a los criterios de clasificación de la calidad microbiológica dados por Gilbert et al. (2000), comentados anteriormente.

Tabla 8. Recuentos de microorganismos aerobios mesófilos y de enterobacterias en las muestras de paté de salmón y paté de salmón y algas en el estudio de vida útil secundaria (Valor medio y desviación estándar, n=2).nd: no detectado

	Día	Mesófilos (log ufc/g)	Enterobacterias (log ufc/g)
SALMÓN	0	nd	nd
	3	nd	nd
	6	nd	nd
	8	2,3 ± 0,3	nd
ALGAS	0	nd	nd
	3	nd	nd
	6	nd	nd
	8	1,3 ± 1,8	nd

Estos resultados denotan que los patés mantuvieron una buena calidad higiénico-sanitaria tras la apertura del envase, durante el periodo estudiado. Teniendo en cuenta que en la mayoría de los patés comerciales se recomienda consumir el producto dentro de los 5 días siguientes a la apertura del envase, se puede afirmar que el paté de salmón y el paté de salmón y algas, evaluados en este trabajo, conservan una adecuada calidad durante ese periodo, pudiendo incluso ser consumidos durante 8 días sin presentar pérdida de calidad. Al igual que se ha comentado en el caso de vida útil primaria, sería adecuado llevar a cabo un estudio de vida útil secundaria durante un periodo de tiempo más largo, que evidenciara el tiempo máximo que el producto permanece con una adecuada calidad.

5. CONCLUSIONES

- Los parámetros físico-químicos indicadores de deterioro en patés de pescado (pH, N-BVT, índice de TBA y metabolitos de degradación de ATP) presentan una gran estabilidad a lo largo de los 120 días de almacenamiento en refrigeración, tanto para el paté de salmón como para el de salmón con algas.
- La incorporación de las algas modifica notablemente el color del paté, no afectando el tiempo de almacenamiento a este parámetro.
- No hay crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos ni de enterobacterias durante los 3 meses de estudio.
- De acuerdo a los parámetros evaluados en este trabajo, las muestras de paté de salmón y las que contienen algas no han presentado ningún indicio de deterioro durante los 120 días de almacenamiento en refrigeración.
- El estudio de vida útil secundaria indica que los patés no han sufrido una pérdida de calidad durante el tiempo de almacenamiento evaluado. Por tanto, los patés evaluados, tras la apertura del envase, conservados en refrigeración serían aptos para su consumo durante un tiempo superior a 8 días.
- Se puede concluir que los patés elaborados conservados a 4°C presentan una fecha de caducidad superior a 3 meses. Además, la fecha límite una vez abierto el envase, es superior a 8 días en almacenamiento en refrigeración.

6. BIBLIOGRAFIA

ALBALAT, V. (2015). *Elaboración de productos de la pesca con algas*. Trabajo Fin de Grado. Universitat Politècnica de València, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.

AMARAL, D.S.; SILVA, F.A.P.; BEZERRA, T.K.A.; ARCANJO, N.M.O.; GUERRA, I.C.D.; DALMÁS, P. S.; & MADRUGA, M. S. (2015). Effect of storage time and packaging on the quality of lamb pâté prepared with 'variety meat'. *Food Packaging and Shelf Life*, 3, 39-46.

AQUERRETA, Y.; ASTIASARÁN, I.; MOHINO, A.; & BELLO, J. (2002). Composition of pâtés elaborated with mackerel flesh (*Scomber scombrus*) and tuna liver (*Thunnus thynnus*): comparison with commercial fish pâtés. *Food Chemistry*, 77(2), 147-153.

CHOI, Y.S.; CHOI, J.H.; HAN, D.J.; KIM, H.Y.; KIM, H.W.; LEE, M.A., CHUNG; H.J.; & KIM, C.J. (2012). Effects of *Laminaria japonica* on the physico-chemical and sensory characteristics of reduced-fat pork patties. *Meat Science*, 91, 1–7.

CHO, M. S.; & HONG, J. S. (2006). Quality characteristics of sulgidduk by the addition of sea tangle. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 22(1), 37–44.

CHUN, S. S.; PARK, J. R.; PARK, J. C.; SUH, J. S.; & AHN, C. B. (1999). Quality characteristics of hamburger patties added with seaweed powder. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 28(1), 140-144.

COMISIÓN EUROPEA (2005). Reglamento nº 2074/2005 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2005, por el que se establecen medidas de aplicación para determinados productos [...]

COMISIÓN EUROPEA (2011). Reglamento nº 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 de octubre de 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos [...]

CONNELL, J.J., (1995). *Control of Fish Quality*, fourth ed. Fishing News Books, Oxford.

DAS, A. K.; ANJANEYULU, A. S. R.; GADEKAR, Y. P.; SINGH, R. P.; & PRAGATI, H. (2008). Effect of full-fat soy paste and textured soy granules on quality and shelf-life of goat meat nuggets in frozen storage. *Meat Science*, 80, 607–614.

DELGADO-PANDO, G.; COFRADES, S.; RODRÍGUEZ-SALAS, L.; & JIMÉNEZ-COLMENERO, F. (2012). A healthier oil combination and konjac gel as functional ingredients in low-fat pork liver pâté. *Meat Science*, 88, 241–284.

DELGADO-PANDO, G.; COFRADES, S.; RUIZ-CAPILLAS, C.; TRIKI, M.; & JIMÉNEZ-COLMENERO, F. (2012). Enriched n-3 PUFA/konjac gel low-fat pork liver pâté: Lipid oxidation, microbiological properties and biogenic amine formation during chilling storage. *Meat Science*, 92(4), 762-767.

DONDERO, M.; CISTERNAS, F.; CARVAJAL, L.; & SIMPSON, R. (2004). Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. *Food Chemistry*, 87, 543–550.

ESTÉVEZ, M.; VENTANAS, S.; & CAVA, R. (2005). Physicochemical properties and oxidative stability of liver pâté as affected by fat content. *Food Chemistry*, 92(3), 449-457.

EUROPEAN MARKET OBSERVATORY FOR FISHERIES AND AQUACULTURE PRODUCTS (EUMOFA), (2015). The EU fish Market Edition 2015, visto el 20 de junio de 2016, https://www.eumofa.eu/documents/20178/66003/EN_The+EU+fish+market_Ed+2015.pdf/4c4bd01f2-cd49-4bd1-adae-8dbb773d8519

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) (2004). Alcance de la industria de las algas marinas, visto el 2 de mayo de 2016, <http://www.fao.org/docrep/007/y5600s/y5600s07.htm>

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) (2008). Pescado y productos pesqueros, visto el 20 de junio de 2016, <http://www.fao.org/docrep/010/ah876s/ah876s10.htm>

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION) (2012). Grasas y ácidos grasos en nutrición humana, visto el 20 de junio de 2016, <http://www.fao.org/docrep/017/i1953s/i1953s.pdf>

FERNÁNDEZ-LOPEZ, J.; BARBERÁ, E.S.; SENDRA, E. & ALVAREZ, J.A.P (2004). Quality characteristics of ostrich liver pâté. *Journal of Food Science*, 69(2), 85-91.

FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; FUENTES, A.; ALIÑO, M.; MASOT, R.; ALCANIZ, 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.

GILBERT, R.; DE LOUVOIS, J.; DONOVAN, T.; LITTLE, C.; NYE, K.; RIBEIRO, C.D.; RICHARDS, J.; ROBERTS, D. (2000) Guidelines for the microbiological quality of some ready to eat foods sampled at the point of sale. *Communicable Disease and Public Health* 3, 163–167.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E. (2013). *Evaluación nutricional y propiedades biológicas de algas marinas comestibles. Estudios "in vitro" e "in vivo"*. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.

HENEHAN, G.; PROCTOR, M., ABU-GHANNAM, N., WILLS, C., MCLOUGHLIN, J.V. (1997). Adenine Nucleotides and their metabolites as determinants of fish freshness. In: Methods to determine the freshness of fish in research and industry. *International Institute of Refrigeration*, Paris, pp. 306-312.

HOLDT, S. L.; & KRAAN, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 543-597.

JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, 20, 585- 598.

KHALAFALLA F.A.; ALI, H.M.; HASSAN, H.A. (2015). Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs. Beni-Suef University Journal of basic and applied sciences, 4, 33-40.

MOREIRAS, O.; CARBAJAL, A.; CABRERA, L.; CUADRADO, C. (2013). *Tablas de Composición de Alimentos*. Ediciones Pirámide (Grupo Anaya, S.A.), 16ª edición.

MORONEY, N. C.; O'GRADY, M. N.; O'DOHERTY, J. V.; & KERRY, J. P. (2013). Effect of a brown seaweed (*Laminaria digitata*) extract containing laminarin and fucoidan on the quality and shelf-life of fresh and cooked minced pork patties. *Meat Science*, 94(3), 304-311.

OCAÑO-HIGUERA V.M.; MAEDA-MARTÍNEZ A.N.; MARQUEZ-RÍOS E.; CANIZALES-RODRÍGUEZ D.F.; CASTILLO-YÁÑEZ F.J.; RUÍZ-BUSTOS E.; GRACIANO-VERDUGO A.Z.,; PLASCENCIA-JATOMEA M. (2011). Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods. *Food Chemistry*, 125, 49-54.

PALASI, J. (2015). *Caracterización físico-química y nutricional de algas en polvo empleadas como ingrediente alimentario*. Trabajo Fin de Grado. Universitat Politècnica de València, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.

PENALBA, (2014). *Estudio de nuevas formulaciones para la obtención de productos de la pesca empleando algas*. Trabajo Fin de Grado. Universitat Politècnica de València, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.

RIZO, A.; FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J.M. (2016). Feasibility of processing temperatures on the quality and shelf-life of smoke-flavoured cod. *LWT - Food Science and Technology*, 69: 546-553.

RIZO, A.; MÁÑES, V.; FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J.M. (2015). Physicochemical and microbial changes during storage of smoke-flavoured salmon obtained by a new method. *Food Control*, 56: 195-201.

RUPEREZ, P.; AHRAZEM, O.; LEAL, J.A. (2002). Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:840–845.

RUSSELL, E. A.; LYNCH, A.; LYNCH P. B.; KERRY, J. P. (2003). Quality and shelf life of duck liver pate as influenced by dietary supplementation with alpha-tocopheryl acetate and various fat sources. *Journal of Food Science*, 68(3), 799–802.

TASKIN, E.; OZTURK, M.; & KURT, O. (2007). Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African journal of Biotechnology*, 6(24), 2746.

TRUELSTRUP-HANSEN, L., GILL, T. A., & HUSS, H. H. (1995). Effects of salt and storage temperature on chemical, microbiological and sensory changes in cold-smoked salmon. *Food Research International*, 28(2), 123e130.

VILLAROEL, M.; HAZBUN, J.; & MORALES, P. (2010). Desarrollo de una formulación de paté a base de Descartes de pulpa de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(2), 199-204.

WOYEWODA, A. D.; SHAW, S. J.; KE, P. J.; & BURNS, B. G. (1986). Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality, Numeral 1448: *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*. Halifax, Canada, 143.

