



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos
Facultad de Veterinaria

**EFFECTO DE LA HOMOGENIZACIÓN A ULTRA ALTA PRESIÓN EN CALDO DE
PESCADO**

**Memoria Presentada para optar al grado de
Doctor en Ciencia de los Alimentos**

Doctoranda:

Sónia Genuina Moisés

Directora y Tutora:

M^a Manuela Hernández Herrero,
Departamento de Ciencia Animal y de
los Alimentos

Director:

Buenaventura Guamis López
Departamento de Ciencia Animal y de
los Alimentos

Director:

Juan José Gallardo Chacón
Departamento de Ciencia Animal y de
los Alimentos

Bellaterra Cerdanyola del vallès, 19 enero de 2022



Resumen

El objetivo de la tesis fue elaborar de forma estandarizada un caldo de pescado, de gran interés por su valor nutritivo y porque se utilizan subproductos de la pesca y descartes, con la finalidad de conseguir su estabilización física, química y microbiológica mediante la aplicación de la tecnología de homogenización a ultra alta presión (UHPH), como tecnología que puede ser una alternativa a los tratamientos por calor como la ultra alta temperatura (UHT).

Los estudios realizados fueron: 1) Elaborar sensorialmente una fórmula estandarizada de caldo de pescado, basada en el perfil olfato-gustativo y su coste económico; 2) determinar el efecto de la aplicación de tratamientos UHPH a 300 MPa a temperaturas de entrada (T_0) entre 45 y 75 °C, en cuanto la estabilidad microbiológica, física y sensorial y 3) evaluar la vida útil de los caldos de pescado tratados a dos T_0 de 75 y 85 °C, y conservados a temperatura ambiente durante 135 días, determinando la evolución de sus características físicas, químicas y microbiológicas de dos caldos de pescado, uno basado en la formulación estándar (CPS) y otro con la adición de proteína de pescado hasta un 2%. Además, se realizó la comparación del efecto UHPH a 75 °C en el caldo CPS, respecto al tratamiento UHT de homogenización-esterilización térmica.

En el primer estudio tras la evaluación en la contribución organoléptica de las diferentes materias primas, sobre todo del pescado, pero también de los vegetales, condimentos y especias, el caldo con mejores características organolépticas, y más económico contenía, esencialmente, pescado con 45% con cabeza de rape y de roca en la misma proporción. El contenido en proteína, lípidos, minerales y componentes antioxidantes fueron los apropiados para este tipo de producto, incluso fueron superiores al caldo comercial.

En el segundo estudio, el caldo de pescado tratado por UHPH fue estable físicamente, con una reducción del tamaño de partícula, aunque aumentó la luminosidad y disminuyó el color amarillo al incrementar la temperatura de entrada del tratamiento UHPH. En los tratamientos UHPH con T_0 entre 55 y 65 °C se consiguió una reducción de la microbiota, aunque para su conservación se requiere refrigeración. Sin embargo, en los tratamientos con T_0 de 75 °C, el caldo de pescado fue microbiológicamente estéril, en el sensorialmente no se apreciaron diferencias en la impresión general respecto al caldo no tratado.

En el último estudio, se evaluó la estabilidad de dos caldos de pescado CPS y CPSP conservados a temperatura ambiente. Los tratamientos UHPH no afectaron al valor nutritivo

de los caldos de pescado, manteniéndose el perfil de ácidos grasos. No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros indicadores de la degradación oxidativa de los lípidos tras el tratamiento UHPH o UHT, aunque se observaron diferencias en función del contenido en proteínas del caldo que de inicio presentó una mayor degradación lipídica. Durante su conservación aumentaron los compuestos fluorescentes en la fase acuosa, posiblemente como consecuencia de la reacción de compuestos formados durante la oxidación de lípidos, y compuestos aminos libres del caldo de pescado, que tuvo como consecuencia un aumento hacia el color amarillo. Respecto a la estabilidad coloidal, tras los tratamientos UHPH se produjo una disminución del tamaño de partícula, que permitió la estabilidad del producto en el caldo de pescado estándar durante los 135 días de conservación, no así en el caldo CPSP. No se observaron diferencias tras los tratamientos UHPH y UHT en los diferentes parámetros, incluso en el análisis sensorial, excepto en la distribución de partículas, por lo que sería necesario realizar un estudio de vida útil en caldo de pescado tratado por UHT para confirmar estos resultados.

Abstract

This doctoral dissertation focuses on standardizing a fish broth ready for consumption, of great interest for its nutritional value and because by-products of fishing and discards are used. Ultra-high-pressure homogenization technology (UHPH) was applied to achieve physical, chemical, and microbiological stabilization of fish broths as an alternative to ultra-high temperature (UHT).

The studies carried out were: 1) Elaborate and sensorily select a standardized fish broth formula, based on the olfactory-gustatory profile and its economic cost; 2) determine the effect of the application of UHPH treatments at 300 MPa at inlet temperatures (T₀) between 45 and 75 °C, regarding the microbiological, physical and sensory stability of the fish broth and 3) Evaluate the shelf life of the broths of fish treated at two T₀ 75 and 85 °C, and preserved at room temperature for 135 days, determining the evolution of their physical, chemical and microbiological characteristics of two fish broths, one based on the standard formulation (CPS) and another with the addition fish protein up to 2%. In addition, the comparison of the UHPH effect at 75 °C in the CPS was made, concerning its commercial counterpart, the UHT treatment of thermal homogenization-sterilization (18+4 MPa, 142 °C 6 s)

The first study focused on evaluating the relevance of the different raw materials on the organoleptic quality, especially of fish, but also vegetables, condiments, and spices. The fish broth with the best organoleptic characteristics, and the most economical, contained fish with 45% with head monkfish and rockfish in the same proportion. The protein, lipids, minerals, and antioxidant components were appropriate for this product, and they were even higher than the commercial broth.

In the second study, the UHPH broth was stable with a reduction in the particle size but increased luminosity and decreased yellow colour with increasing inlet temperature. UHPH treatments with inlet temperatures between 55 and 65 °C, a noticeable reduction of the microbiota was achieved, although refrigeration was required for its conservation. However, with UHPH treatments at T₀ of 75 °C, the fish broth was microbiologically sterile. Despite the differences observed in the instrumental colour, sensory differences were not appreciated in the general impression of harmony between taste, aroma, viscosity.

Finally, the latest study focused on evaluating the stability of two CPS and CPSP fish broths preserved at room temperature. UHPH treatments did not affect the nutritional value of the

fish broths, maintaining the fatty acid profile. Despite this, although no statistically significant differences were observed in the parameters indicating the oxidative lipid degradation after the UHPH or UHT treatment, differences were observed depending on the protein content of the broth, which initially presented higher lipidic degradation. The fluorescent compounds in the aqueous phase increased during its conservation, possibly due to the reaction of compounds formed during the oxidation of lipids and free amino compounds of the fish broth, which increased the yellow colour. Regarding colloidal stability, after the UHPH treatments, a decrease in particle size was obtained. This fact allowed that CSP broth remained physically stable during the 135 days of conservation. However, the CPSP broth was unstable at 45 days of storage. No differences were observed after UHPH and UHT treatments in the different parameters, but a shelf-life study would be necessary to reaffirm these results.

Resum

L'objectiu de la tesi va ser elaborar un brou de peix estàndard, de gran interès pel seu valor nutritiu i perquè s'utilitzen subproductes de la pesca i restes de peix, amb la finalitat d'aconseguir la seva estabilització física, química i microbiològica mitjançant l'aplicació de la tecnologia d'homogeneïtzació a ultra alta pressió (UHPH), com a tecnologia alternativa als tractaments per calor com la ultra alta temperatura (UHT).

Els estudis realitzats van ser: 1) Elaborar sensorialment una fórmula estandarditzada de brou de peix, basada en el perfil olfacte-gustatiu i el seu cost econòmic; 2) determinar l'efecte de l'aplicació de tractaments UHPH a 300 MPa a temperatures d'entrada (T_0) entre 45 i 75 °C, en relació a l'estabilitat microbiològica, física i sensorial i 3) avaluar la vida útil dels brous de peix tractats a dues T_0 de 75 i 85 °C, i conservats a temperatura ambient durant 135 dies, determinant l'evolució de les seves característiques físiques, químiques i microbiològiques de dos brous de peix, un basat en la formulació estàndard (CPS) i un altre amb l'addició de proteïna de peix fins a un 2%. A més, es va realitzar la comparació de l'efecte UHPH a 75 °C al brou CPS, respecte al tractament UHT d'homogeneïtzació-esterilització tèrmica.

En el primer estudi després de l'avaluació a la contribució organolèptica de les diferents matèries primeres, sobretot del peix, però també dels vegetals, condiments i espècies, el brou amb millors característiques organolèptiques, i més econòmic contenia, essencialment, peix amb 45% amb cap de rap i de roca en la mateixa proporció. El contingut en proteïna, lípids, minerals i components antioxidants va ser l'adequat per a aquest tipus de producte, fins i tot va ser superior al brou comercial.

Al segon estudi, el brou de peix tractat per UHPH va ser estable físicament, amb una reducció de la mida de partícula, encara que va augmentar la lluminositat i va disminuir el color groc en incrementar la temperatura d'entrada del tractament UHPH. Als tractaments UHPH amb T_0 entre 55 i 65 °C, es va aconseguir una reducció de la microbiota, encara que per a la seva conservació es requereix refrigeració. No obstant això, en els tractaments amb T_0 de 75 °C, el brou de peix va ser microbiològicament estèril, i sensorialment no es van apreciar diferències en la impressió general respecte al brou no tractat.

A l'últim estudi, es va avaluar l'estabilitat de dos brous de peix CPS i CPSP conservats a temperatura ambient. Els tractaments UHPH no van afectar el valor nutritiu dels brous de peix, i es va mantenir el perfil d'àcids grassos. No es van apreciar diferències estadísticament significatives en els paràmetres indicadors de la degradació oxidativa dels lípids després del

tractament UHPH o UHT, encara que es van observar diferències en funció del contingut en proteïnes del brou, que inicialment va presentar una degradació lipídica més gran. Durant la seva conservació van augmentar els compostos fluorescents a la fase aquosa, possiblement a causa de la reacció de compostos formats durant l'oxidació de lípids, i compostos aminats lliures del brou de peix, que va tenir com a conseqüència un augment de la tonalitat groguenca. Respecte l'estabilitat col·loïdal, després dels tractaments UHPH es va produir una disminució de la mida de partícula, que va permetre l'estabilitat del brou CPS durant els 135 dies de conservació, no així al brou CPSP. No es van observar diferències després dels tractaments UHPH i UHT en els diferents paràmetres, inclosa l'anàlisi sensorial, excepte en la distribució de partícules, per la qual cosa caldria fer un estudi de vida útil en brou de peix tractat per UHT per confirmar aquests resultats.

ÍNDICE

1	ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	13
1.1	<i>Antecedentes</i>	<i>14</i>
1.1.1	Objetivos	15
1.1.2	Plan de trabajo	16
2	INTRODUCCIÓN.....	21
2.1	<i>El Pescado</i>	<i>22</i>
2.1.1	Producción y Consumo.....	22
2.1.2	Composición y calidad nutricional	25
2.1.3	Obtención y gestión de los productos pesqueros	29
2.1.4	El Caldo de Pescado	33
2.1.5	Procesos de conservación	40
2.1.6	La homogenización a ultra alta presión (UHPH)	42
2.1.7	Aplicación de procesos a (U)HPH	49
2.1.8	El efecto de los tratamientos (U)HPH	51
3	MATERIAL Y MÉTODOS.....	57
3.1	<i>Recepción de la materia prima</i>	<i>58</i>
3.2	<i>Elaboración del caldo de pescado.....</i>	<i>58</i>
3.2.1	Producción de un caldo base	58
3.2.2	Optimización de la cantidad de vegetales y especias	61
3.2.3	Optimización del caldo en función del tipo de pescado	61
3.2.4	Optimización y estandarización en función de la cantidad de pescado en el caldo	62
3.3	<i>Tratamientos (UHT y UHPH) y conservación del caldo</i>	<i>64</i>
3.4	<i>Análisis sensorial.....</i>	<i>66</i>
3.5	<i>Caracterización física de los caldos.....</i>	<i>70</i>
3.6	<i>Caracterización química de los caldos de pescado</i>	<i>72</i>
3.7	<i>Análisis estadístico.....</i>	<i>77</i>
4	ELABORACIÓN, OPTIMIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL CALDO DE PESCADO	78
4.1	<i>Introducción</i>	<i>79</i>
4.2	<i>Resultados y discusión</i>	<i>79</i>
4.2.1	Análisis sensorial	79
4.2.2	Análisis fisicoquímicos.....	86
4.3	<i>Conclusión.....</i>	<i>91</i>
5	EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE LA UHPH A TEMPERATURAS DE ENTRADA ENTRE 45 Y 75 °C	92
5.1	<i>Introducción</i>	<i>93</i>
5.2	<i>Resultados y discusión</i>	<i>94</i>
5.2.1	Control de proceso de la ultra alta presión de homogenización	94
5.2.2	Efecto de la UHPH en la calidad microbiológica.....	94
5.2.3	El efecto de la UHPH sobre las propiedades físicas.....	98
5.2.4	El efecto de la UHPH sobre el perfil organoléptico	103

5.3	<i>Conclusión</i>	103
6	APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS UHPH EN CALDO DE PESCADO CON INTERÉS LA ESTERILIZACIÓN COMERCIAL	104
6.1	<i>Introducción</i>	105
6.2	<i>Resultados y discusión</i>	106
6.2.1	Obtención del concentrado proteico y producción del caldo mayor contenido en proteína 106	
6.2.2	Control de proceso de la ultra alta presión de homogenización	108
6.2.3	Estabilidad microbiológica y pH	109
6.2.4	Estabilidad fisicoquímica	110
6.2.5	Degradación lipídica	115
6.2.6	Estabilidad física de los caldos de pescado	119
6.2.7	Análisis sensorial	130
7	CONCLUSIONES	132
8	BIBLIOGRAFÍA	135

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Beneficios para la salud de los diferentes componentes presentes en los productos de la pesca.	28
Tabla 2.2. Aprovechamiento por parte de la industria alimentaria de los subproductos de la pesca.	32
Tabla 2.3. Valor energético y contenido de macronutrientes por cada 100 mL de caldo de pescado (USDA, 2019) y información a facilitar al consumidor respectivo a ingesta de referencia (IR) (UE, 2011).	35
Tabla 2.4. Nutrientes disponibles por cada 100 mL de caldo de pescado (USDA, 2019) y su proporción declarable en lo que respecta al valor de referencia de nutrientes (VRN) (UE, 2011).	35
Tabla 2.5. Etapas de producción del caldo de pescado: peligros y efectos en la calidad, causa, control como punto de control crítico (PCC) o punto de control (PC) y su vigilancia.	37
Tabla 2.6. Recomendaciones de tratamientos térmicos de productos refrigerados envasados al vacío o atmosfera modificada con aceptación a nivel europeo y de los Estados Unidos (ECFF, 2006), FDA, 2020), y la vida útil (Peng et al., 2017).	41
Tabla 2.7. Sistemas de homogenización a ultra y alta presiones a escala piloto y semi-industrial (modelo, caudal, válvulas y su presión máxima de trabajo).	47
Tabla 3.1. Formulaciones de caldo de pescado: ingredientes y cantidad.	59
Tabla 4.1. Ordenación de las formulaciones de caldo de pescado en función de la aceptabilidad referente a la intensidad del sabor de los componentes vegetales y de las especias. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.	81
Tabla 4.2. Ordenación de los caldos con distintas combinaciones de tipos de pescado en función de la aceptabilidad de la intensidad del sabor, olor y la impresión global. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.	83
Tabla 4.3. Ordenación de los caldos elaborados con distinta cantidad de la combinación de cabezas de rape y roca, en función de la aceptabilidad de la intensidad del sabor, olor y la impresión global. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.	85
Tabla 4.4. Perfil nutricional (Composición química y pH), determinación de la capacidad antioxidantes (FRAP y TEAC) y componentes fenólicos de las diferentes formulaciones de caldo de pescado.	90
Tabla 5.1. Registro de las temperaturas durante tratamiento UHPH a 300MPa a diferentes temperaturas de entrada del caldo de pescado.	94
Tabla 5.2. Evaluación de los parámetros de tamaño de partícula (μm), en caldo de pescado control (CPS) y homogenizado a ultra alta presión a diferentes temperaturas de entrada (45,55, 65 y 75 °C).	101
Tabla 5.3. Evaluación de los parámetros ¹ de color L*, a*, b* y ΔE^* dentro del espacio CIELAB, para muestras de caldo de pescado estándar y tratadas por UHPH.	102
Tabla 6.1. Determinación del contenido proteico en los concentrados proteicos de pescado obtenidos en el proceso 1, 2 (deseccación) y 3 (tamizado).	107
Tabla 6.2. Registro de las temperaturas durante tratamiento UHPH a 300MPa a diferentes temperaturas de entrada del caldo de pescado estándar CPS y con mayor contenido en proteína CPSP.	109

Tabla 6.3. La composición química del caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteína (CPSP) antes y tras el tratamiento UHT y UHPH a 300 MPa a temperaturas de entrada de T_0 de 75 y/o 85 °C.....	111
Tabla 6.4. Perfil de ácidos grasos del caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteína (CPSP) antes y tras el tratamiento UHPH a 300 MPa a temperaturas de entrada de T_0 de 75 y/o 85 °C.	113
Tabla 6.5. Determinación del daño lipídico tras la cocción y tras el tratamiento UHPH a T_0 75 y/o 85 °C de caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido proteico (CPSP), y tras su posterior conservación durante 135 días a temperatura ambiente (20 – 25°C). 118	
Tabla 6.6. Evaluación de los parámetros de tamaño de partícula (μm) en caldo de pescado estándar (CPS) tratado mediante UHPH a temperaturas de entrada a 75 y 85 °C y UHT y en caldos de pescado con mayor contenido en proteína (CPSP) tratado con UHPH a 85 °C	122
Tabla 6.7. Determinación del color en caldos de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteína (CPSP) tras la cocción y los tratamientos UHPH a 300 MPa a una temperatura de entrada de 75 y/o 85 °C.....	127
Tabla 6.8. Ordenación de los caldos elaborados con distinta cantidad de la combinación de cabezas de rape y roca, en función de la aceptabilidad de la intensidad del sabor, olor y la impresión global. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.	130

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Elaboración de caldo de pescado estándar-CPS. Estandarización y caracterización (Etapa 1).	17
Figura 1.2. Evaluación microbiológica, física y organoléptica de los caldos de pescado tratados a 300 MPa a temperaturas de entrada (T0) entre 45 y 75 °C (Etapa 2).	18
Figura 1.3. Estudio de la vida útil. (a) Caldo de pescado estándar (CPS) tratamientos UHPH a 300 MPa y temperaturas de entrada (T0) de 75 y 85 °C (Etapa 3).	19
Figura 1.4. Comparación de tratamientos UHPH (300 MPa a 75 y 85 °C) y UHT (homogenización 18 + 4 MPa y tratamiento 142 °C en 6 s) aplicados al caldo de pescado estándar CPS con tratamientos de UHPH a 300 MPa y temperaturas de entrada (T0) de 75 y 85 °C (Etapa 4).	20
Figura 2.1. Evolución del porcentaje de contribución de la pesca mediante captura y acuicultura en la producción total mundial en los últimos 20 años (FAO, 2002, 2012, 2020).	23
Figura 2.2. Consumo de productos de la pesca per cápita por región en 2017 y 2018 a nivel mundial (parte derecha de la imagen) (FAO, 2020) y consumo de productos pesqueros en algunos estados miembros de la UE-28 en 2018 y su variación en porcentaje respecto 12017 (parte izquierda de la imagen) (EUMOFA, 2020).	25
Figura 2.3. Proporción de pescado destinado al consumo humano directo y fines no alimentarios en 2018 a nivel mundial (FAO, 2020).	30
Figura 2.4. Porcentaje de subproductos derivados de la manipulación y transformación y elaboración, así como su principal composición. Elaboración propia. * PUFAs (siglas en inglés de Poly-Unsaturated Fatty Acids): Ácidos grasos poliinsaturados.	30
Figura 2.5. Prototipos del homogeneizador convencional de Gaulin. A) El primer equipo comercializado en los años 1900 accionado por correa Dairy Engineering Company, 2010). B) Modelo CGD, segundo equipo dotado de 2 válvulas (homogeneizador de 2 etapas (Guamis López and Escriu Justo, 2010).	44
Figura 2.6. Esquema de los componentes de la válvula homogeneizadora de Gaulin (asiento de la válvula, anillo de impacto y válvula), adaptación del diagrama de de Floury et al. (2004b) (Dairy Engineering Company, 2010).	45
Figura 2.7. Efecto obtenido con la homogenización de la leche (reducción del tamaño partículas), y tras aplicar una segunda etapa de homogenización (mejora la dispersión de las partículas).	46
Figura 2.8. Sistema UHPH (Guamis et al., 2012). Modelo esquemático del funcionamiento a escala piloto (Ferragut et al., 2015).	48
Figura 3.1. Esquema de producción del caldo base: (a) ebullición de 1 L de agua, (b) cantidad total - 92 g, (c) 750 g de cabezas de rape, (d) Aderezos: cantidad total - 2,3 g, (f) tiempo transcurrido 35 min, (g) separación de los trozos de pescado y verduras, (h) Filtración y recogida del caldo en vasos de precipitados estériles de 2,5 L de capacidad, (i) conservación en botellas estériles de 500 mL.	60
Figura 3.2. Diagrama de optimización del caldo de pescado con ajuste de la cantidad de vegetales y especias.	61
Figura 3.3. Optimización del caldo de pescado: uso de subproductos de la pesca para la intensificación del gusto.	62
Figura 3.4. Imágenes del método 1 de elaboración del concentrado proteico de pescado. .	63
Figura 3.5. Imágenes del método 2 de elaboración del concentrado proteico de pescado. .	63
Figura 3.6. Imágenes del método 3 de elaboración del concentrado proteico de pescado. .	64

Figura 3.7. Tratamientos UHPH y UHT aplicados al caldo de pescado.	66
Figura 4.1. Diseño del Perfil olfato-gustativo de la formulación base del caldo de pescado. Evaluación de la intensidad de cada carácter del sabor, el regusto, la persistencia y de la impresión general del caldo.	80
Figura 4.2. Formulación estándar del caldo de pescado seleccionado para los tratamientos de conservación UHPH y/o UHT.	86
Figura 5.1. Determinación del pH y recuentos microbiológicos (ufc/mL) efectuados a muestras de caldo estándar-CPS y tratados por UHPH-300 MPa a Temperatura de entrada de 45, 55, 65 y 75 °C conservados en refrigeración a 4 °C (grupo A) y 8 °C (grupo B). ...	96
Figura 5.2. Determinación del pH y recuentos microbiológicos (ufc/mL) efectuados a muestras de caldo estándar-CPS y tratados por UHPH-300 MPa a Temperatura de entrada de 45, 55, 65 y 75 °C, conservados a temperatura ambiente 20-25 °C.	97
Figura 5.3. Distribución del tamaño de partículas de caldos de pescado estándar y tratados por UHPH diferentes temperaturas de entrada T_0 : 45, 55, 65 y 75 °C.	100
Figura 5.4. Imagen de la variación de color entre el caldo estándar-CPS y UHPH- $T_0=75$ °C a 300 MPa.	102
Figura 6.1. Cambio de color en caldos con mayor contenido en proteína CPSP tras la elaboración y tratamiento UHPH. a) Imagen del caldo sin incorporación de vegetales y b) imágenes del caldo con adición de vegetales.	108
Figura 6.2. Evolución en el porcentaje de los ácidos grasos principales presentes en el caldo de pescado estandarizado (sin tratar) y tras tratamiento UHPH temperaturas de entrada (T_0) de 75 y 85 °C durante su conservación durante 90 días.	114
Figura 6.3. Distribución del tamaño de partículas de caldos de pescado estándar CPS (A) sin tratar y tratados por UHPH a $T_0=75$ y 85 °C y tratado por UHT, (B) caldo de pescado con mayor contenido en proteína sin tratar y tratado UHPH a $T_0=85$ °C.	120
Figura 6.4. Variación en el porcentaje de luz difractada (o Backscattering) de caldos de pescado almacenados a temperatura ambiente (20-25 °C). (A) CPS caldo de pescado estándar sin tratar, (B) CPS-UHPH tratado por ultra alta presión de homogenización $T_0=75$, (C) CPS-UHPH tratado por ultra alta presión de homogenización $T_0=85$ °C, (D) CPSP caldo de pescado con incremento proteico sin tratar 2, (E) CPSP-UHPH caldo de pescado con incremento proteico tratado $T_0=85$ °C.	124
Figura 6.5. Índice de estabilidad del Turbiscan (TSI) de caldos de pescado. (X) Caldo de pescado estándar sin tratar CPS, () CPS-UHPH 75 °C, () CPS-UHPH 85 °C, () caldo con incremento proteico sin tratar CPSP, () CPSP-UHPH 85. (A) Parte inferior del envase. (B) Parte superior del envase. (C) Estabilidad general de las muestras.	125
Figura 6.6. Evaluación de los parámetros de color L^* , a^* , b^* dentro del espacio CIELAB, para muestras de caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteínas (CPSP) tratadas por UHPH a temperaturas de entrada de 75 y/o 85 °C.	129

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

1 ANTECEDENTES, OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

Capítulo 1. Antecedentes, Objetivos y Plan de Trabajo

1.1 Antecedentes

Son numerosos los informes que relacionan el consumo de pescado y la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y/o metabólicas. Los beneficios de consumir pescado se deben entre otras causas, a la presencia de una alta cantidad de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, de vitaminas A, D, y B₁₂, al contenido equilibrado de aminoácidos esenciales, la presencia de antioxidantes como los tocoferoles y la buena calidad y digestibilidad de la proteína (Nunes et al., 2011). Por ello, su consumo ha aumentado considerablemente entre la población mundial, pasando de 9,0 kg por persona/año en 1961, a 20,5 kg en 2018, presentando desde entonces un incremento anual de aproximadamente un 1,5% (FAO, 2020).

La flota pesquera mundial tiene más capacidad pesquera de la que los ecosistemas marinos pueden proporcionar de una forma sostenible (SCP/RAC, 2007). Por lo que, a finales de 2015, las Naciones Unidas aprobaron y publicaron un informe denominado Agenda 2030 para el desarrollo sostenible, que tiene como objetivo conservar y utilizar de forma sostenible los océanos, los mares y los recursos marinos (FAO, 2020). En relación con este problema, la industria vinculada al sector pesquero es cada vez más consciente de la necesidad de maximizar el rendimiento a partir de su materia prima, siendo de especial importancia, la utilización de lo que se denominan descartes. Los descartes de la industria pesquera están constituidos por pescados de bajo valor comercial (Hasan and Halwart, 2009), así como de los subproductos derivados del proceso de transformación durante el fileteado (cabezas, espinas dorsales, cortes y peces de inferior tamaño al esperado) y el eviscerado (hígado, huevas, gónadas y tripas (Bombardelli et al., 2005).

El aprovechamiento es además importante porque también son una fuente natural de ácidos grasos poliinsaturados de la serie omega 3, y de proteína de alto valor nutricional. Por lo cual, hay un gran interés en producir industrialmente productos con un mayor valor añadido a partir de ellos, como serían los caldos y sopas de pescado, que son alimentos que se consumen a nivel mundial, ya que son adecuados en la dieta de la población general y es apto para todas las edades (Mol, 2005). En la actualidad, este tipo de producto tiene diversas formas de presentación en el mercado, en función de su procesado y tratamiento tecnológico, siendo frecuente que se incorporen componentes “naturales” o no, que permiten enmascarar el sabor y aroma causado por determinados ingredientes, especialmente vísceras, que causan un rechazo en el consumidor. Además, asociado a

factores de la estabilidad enzimática y nutricional del producto, algunas industrias elaboran estos productos a partir de hidrolizados y concentrados a base de pescado (Bombardelli et al., 2005).

Este tipo de producto estabilizado mediante procesos térmicos de esterilización a ultra altas temperaturas (UHT), son muy atractivos para el consumidor, ya que el producto está listo para ser consumido normalmente tras un calentamiento previo, o puede ser utilizado como ingrediente, de forma que considerando el estilo de vida actual en la que se tienen menos horas disponibles para la elaboración de alimentos, permite su utilización de forma inmediata en el hogar, así como también, por su rápida disponibilidad, en la restauración colectiva social y comercial. Sin embargo, una limitación o inconveniente de estos caldos UHT es su estabilidad física durante su vida útil y el efecto sobreañadido de las altas temperatura en sus componentes, aspectos que podrían optimizarse con la utilización de la tecnología emergente de homogeneización a ultra alta presión o UHPH (en sus siglas inglesas), como se ha demostrado en otros alimentos líquidos en los que se evidencian mejoras a largo plazo, en la estabilidad coloidal, nutricional, química y microbiológica, manteniendo la calidad sensorial del producto respecto a la elaboración tradicional de diferentes alimentos líquidos como la leche, zumos, licuados vegetales y horchata (Pereda et al., 2007; Velázquez-Estrada et al., 2008, 2012; Suárez-Jacobo et al., 2010; Ferragut et al., 2015; Codina-Torrella et al., 2018).

1.1.1 Objetivos

El objetivo general de la tesis fue elaborar y estandarizar un caldo de pescado listo para su uso/consumo, a partir de subproductos o descartes de la industria pesquera, concretamente de peces pelágicos costeros (considerados de bajo valor comercial) y cabezas de pescado de rape (*Lophius piscatorius*), con la finalidad de conseguir su estabilización física, química y microbiológica mediante la aplicación de la tecnología de homogeneización a ultra alta presión (UHPH).

Los objetivos específicos fueron los siguientes:

- ❖ Elaborar y seleccionar sensorialmente una fórmula estandarizada de caldo de pescado y optimizada en función de sus características, basadas en el perfil olfato-gustativo y su coste económico.

- ❖ Determinar el efecto de la aplicación de tratamientos UHPH a 300 MPa y a temperaturas de entrada entre 45 y 75 °C, en la estabilidad microbiológica y física de los caldos de pescado.
- ❖ Evaluar la vida útil de los caldos de pescado tratados por UHPH A 300 MPA a dos temperaturas de entrada 75 y 85 °C, y conservados a temperatura ambiente, determinando la evolución de sus características físicas y químicas, en especial de la fracción lipídica, así como en su estabilidad microbiológica.
- ❖ Comparar el efecto en las características físicas, químicas, organolépticas y de estabilidad microbiológica, entre caldos de pescado con tratamientos de UHPH a 300 MPa a temperaturas de entrada de 75 y 85 °C respecto a los tratados UHT.
- ❖ Comparar el efecto en las características físicas, químicas, organolépticas y de estabilidad microbiológica, en caldos de pescado elaborados con la formulación estándar-CPS con un 1% de proteína, y caldos de composición mejorada nutritivamente mediante la adición de proteína de pescado hasta un 2%, tras la aplicación de tratamientos de UHPH a 300 MPa a 85 °C como temperatura de entrada.

1.1.2 Plan de trabajo

El caldo de pescado se produjo en las instalaciones de la planta piloto del centro de Innovación, Investigación y Transferencia en Tecnología de alimentos, en sus siglas en catalán CIRTTA, de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).

Las etapas planteadas para la realización de esta tesis fueran los siguientes:

Etapas 1: Se llevó a cabo la elaboración del caldo de pescado a partir de especies de pescado de bajo valor comercial, realizándose diferentes pruebas sensoriales, de composición y de actividad antioxidante, para obtener la formulación estándar optimizada respecto a las características del perfil olfato-gustativo y su coste para poder ser industrializado (Figura 1.1).

Etapas 2: se aplicaron tratamientos UHPH a temperaturas de entradas entre 45 y 75 °C, a 300 MPa, evaluándose tras la producción sus características microbiológicas, fisicoquímicas y físicas. Para evaluar la estabilidad microbiológica, las muestras se conservaron en refrigeración (4 y 8 °C) y temperatura ambiente 20-25 °C durante 20 días, realizando su análisis los días 1, 3, 5, 10, 15 y 20. El análisis sensorial para determinar la

existencia de posibles cambios organolépticos perceptibles para el consumidor, se realizó en el caldo tratado mediante UHPH 75 °C, que presentó los mejores resultados de estabilidad microbiológica (Figura 1.2).

Etapa 3: Tras la selección de los tratamientos UHPH 300 MPa de las temperaturas de entrada de UHPH 75 y 85 °C, 300 MPa, se realizó el estudio de vida útil, conservando los caldos a temperatura ambiente (20-25 °C), evaluando su estabilidad microbiológica (esterilidad), y la evolución de parámetros de estabilidad física y química en la fracción lipídica de los caldos, en los días 0, 45, 90 y 135 de conservación (Figura 1.3a). Para mejorar nutricionalmente el caldo de pescado estándar (CPS), se incrementó el porcentaje de proteínas hasta aproximadamente un 2%, denominado CPSP, para posteriormente comparar el efecto del tratamiento UHPH a 300 MPa a 85 °C, evaluando su estabilidad microbiológica (esterilidad), y parámetros físicos y químicos (Figura 1.3b).

Etapa 4: Se comparó el efecto en las características físicas, químicas y organolépticas de los caldos de pescado estándar, tras aplicar tratamientos UHPH (300 MPa a 75 y 85 °C) y UHT (homogenización 18 + 4 MPa y tratamiento 142 °C en 6 s), tratamiento tecnológico de referencia a nivel industrial (Figura 1.4).

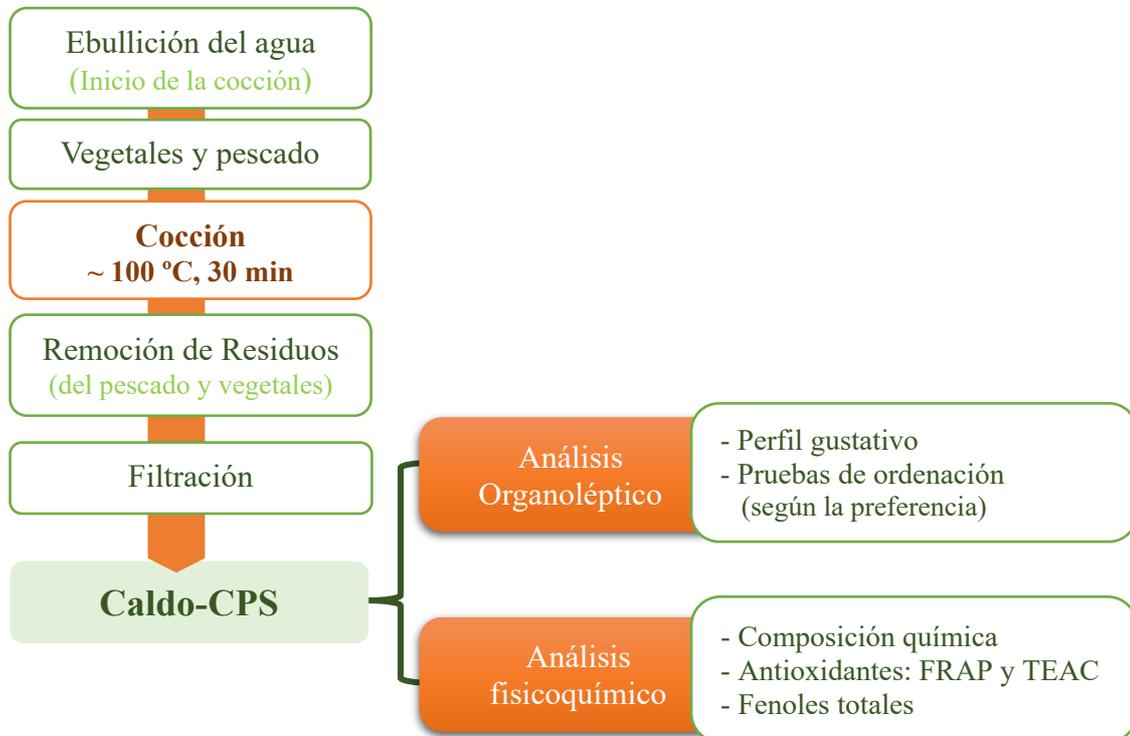


Figura 1.1. Elaboración de caldo de pescado estándar-CPS. Estandarización y caracterización (Etapa 1).

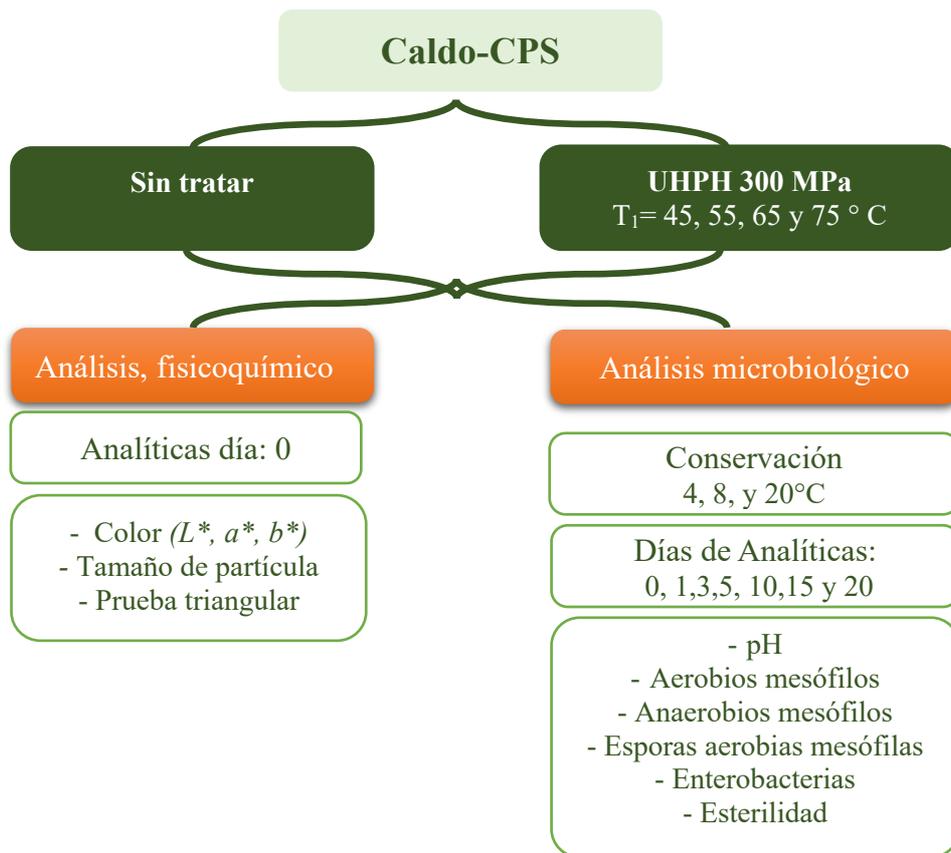


Figura 1.2. Evaluación microbiológica, física y organoléptica de los caldos de pescado tratados a 300 MPa a temperaturas de entrada (T₀) entre 45 y 75 °C (Etapa 2).

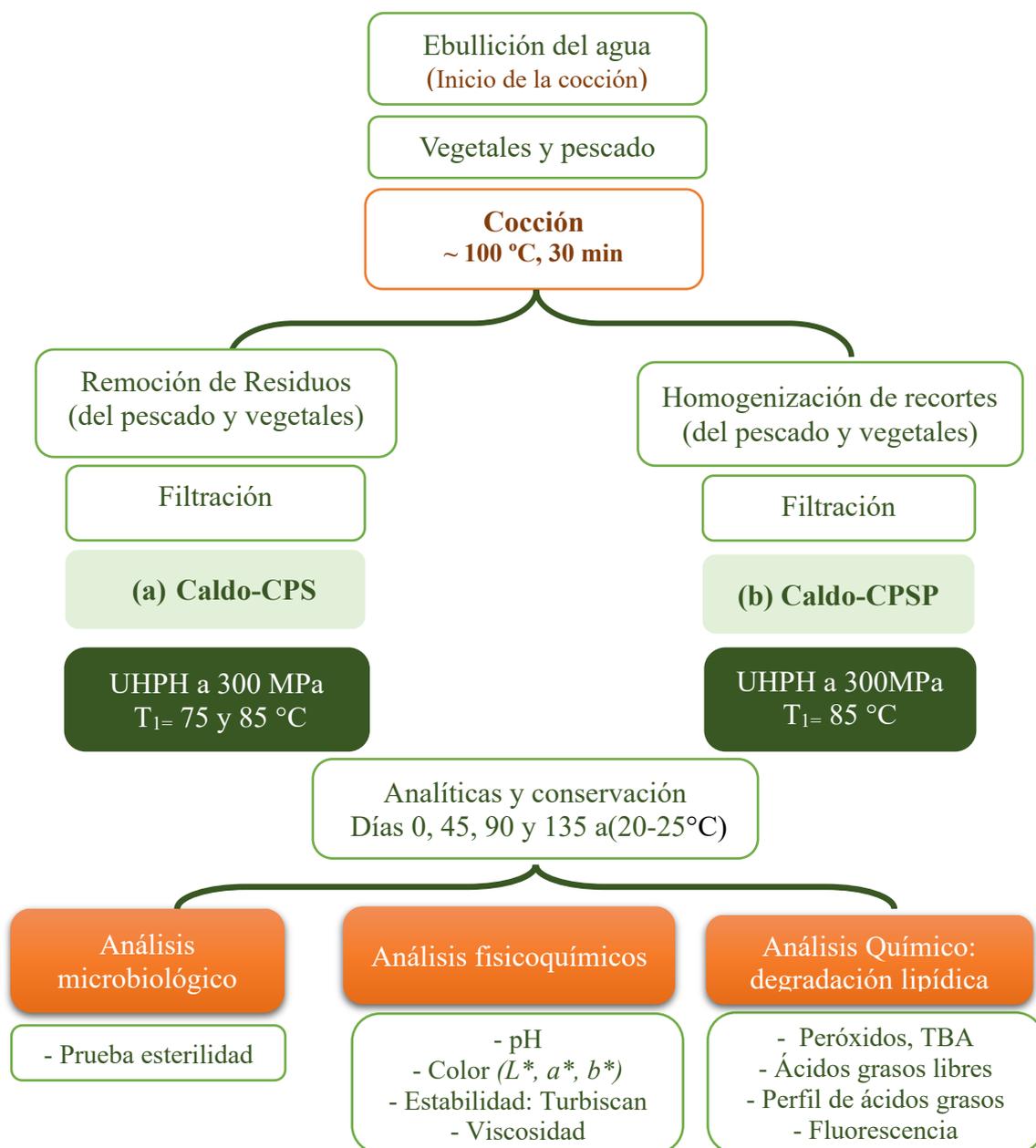


Figura 1.3. Estudio de la vida útil. (a) Caldo de pescado estándar (CPS) tratamientos UHPH a 300 MPa y temperaturas de entrada (T₀) de 75 y 85 °C (Etapa 3).

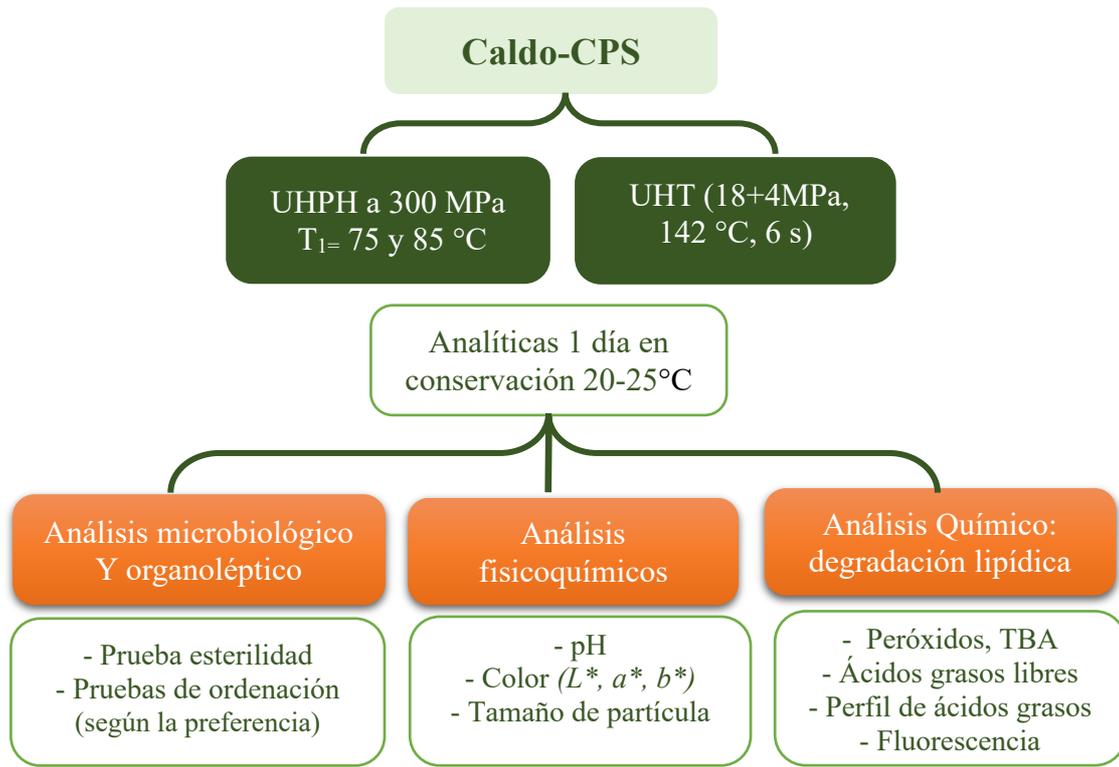


Figura 1.4. Comparación de tratamientos UHPH (300 MPa a 75 y 85 °C) y UHT (homogenización 18 + 4 MPa y tratamiento 142 °C en 6 s) aplicados al caldo de pescado estándar CPS con tratamientos de UHPH a 300 MPa y temperaturas de entrada (T₀) de 75 y 85 °C (Etapa 4).

CAPÍTULO 2

INTRODUCCIÓN

2 INTRODUCCIÓN

Capítulo 2. Introducción

2.1 El Pescado

2.1.1 Producción y Consumo

2.1.1.1 *La pesca responsable y sostenible*

La escasez de productos de la pesca anunciada ya en los años 80 fue el inicio de la discusión de que los recursos marinos, si bien son renovables, no son infinitos. En 1982, como una forma de frenar las capturas desmesuradas e incontroladas de la población acuícola, se aprobó el documento denominado Convención de las Naciones Unidas sobre el Derecho del Mar (CNUDM), también denominado la “*Constitución sobre los océanos*”. Dicho tratado proporcionó un marco internacional para la ordenación de los recursos pesqueros, con el establecimiento de las responsabilidades, los derechos y los contratos jurídicamente obligados o vinculantes (orientativos) sobre la explotación de los recursos pesqueros. Su desarrollo fue la base para la implantación del código de conducta para la pesca responsable, aprobado a finales de 1995, y que desde 2015, es parte del plan de acción de la agenda 2030, con el lema denominado el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) (FAO, 2020).

A nivel de la Unión Europea (UE) el acuerdo pesquero se rige bajo el acuerdo de la política pesquera común (PPC), que, si bien su concepto se introdujo en los años setenta, su ejecución se actualizó entre los años 2013 y 2020. Consta de normas referidas a la utilización de un sistema en el que se realicen capturas sostenibles, aplicando una pesca selectiva y suprimiendo de forma progresiva la práctica del descarte, comenzando su aplicación de forma gradual, aunque obligatoria, en la fase de desembarque (Comisión Europea, 2020). En general, en los diferentes tratados y regulaciones aprobados se promueve a que se capturen especies pesqueras con capacidad reproductiva alta.

Por otra parte, se debe tener en cuenta que la flota pesquera mundial tiene más capacidad para pescar de la que el ecosistema marino pueda abastecer de forma sostenible (SCP/RAC, 2007), produciéndose un descenso en la fracción de la población acuícola, dentro de los niveles biológicamente sostenibles, de un 90% en 1974 al 65,8% en 2017. Adicionalmente, los datos obtenidos en las etapas iniciales de la declaración de la pandemia del COVIDd-19, revelan que las actividades pesqueras se redujeron en todo el mundo alrededor de un 6,5 %, y cuyo impacto en la vida marina aún está por estudiar (FAO, 2020).

2.1.1.2 El panorama mundial

La estadística referente a la producción pesquera mundial, publicadas por la FAO en “*El estado mundial de la pesca y la acuicultura*”, conocido por sus siglas inglesas SOFIA, destacan cifras que rozan los 178,5 millones de toneladas de pescado producidos en 2018. En términos absolutos se produjeron 60,7 millones de toneladas más, en comparación con la producción de 117,8 millones de toneladas de 1998. En el período de esos 20 años y en función del sector, se produjo una reducción en la producción del 74 al 54%, en la pesca por captura (marina y continental), mientras que en el sector de la acuicultura (marina y continental) aumentó casi el doble, pasando de un 26 a un 46%. La tendencia para el año 2030 es que la producción mundial aumentará a 204 millones de toneladas, y que la acuicultura constituirá el 53% de dicha producción (FAO, 2002, 2012, 2020) (Figura 2.1).

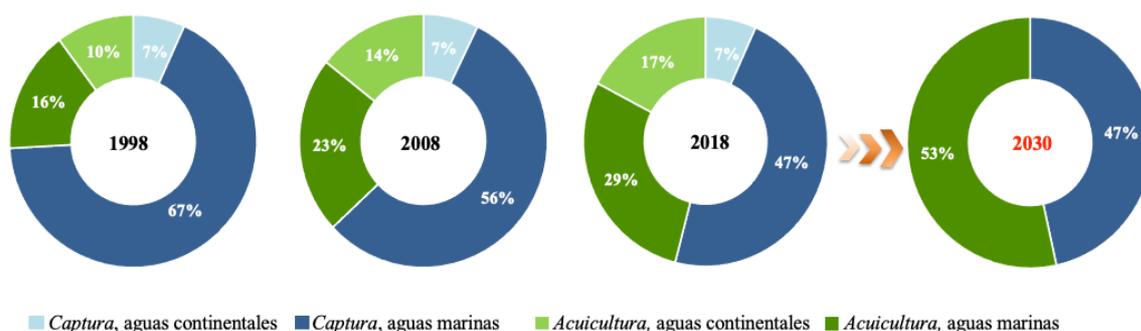


Figura 2.1. Evolución del porcentaje de contribución de la pesca mediante captura y acuicultura en la producción total mundial en los últimos 20 años (FAO, 2002, 2012, 2020).

En este contexto, China además de ser líder en la producción, tanto del pescado de captura marina y acuicultura, es el principal exportador desde el año 2002, seguido en las exportaciones de Noruega (desde 2014) e India (desde 2017). En 2018, las importaciones de la Unión Europea (UE-28 miembros) representaron un 34% del total mundial, siendo el principal importador del mundo, seguido de los Estados Unidos de América con un 14%, y Japón y China, que en ambos casos fueron de un 9% de la importación mundial. En términos comerciales, es en los productos pesqueros en los que se realiza un mayor intercambio comercial dentro del sector alimentario mundial. En esta comercialización, y gracias a los acuerdos transfronterizos es posible producir en un país, procesar en un segundo y consumir en un tercero.

Respecto al consumo mundial per cápita, en 2018 fue de unos 20,5 kg, observándose un considerable incremento, si se compara con el consumo de los años 60 que fue de 9 kg per

cápita. No obstante, si se hace una evaluación entre diferentes regiones y estados del mundo hay notables diferencia entre ellos (Figura 2.2) (FAO, 2020).

2.1.1.3 Países Comunitarios: UE-28 miembros

En 2018, la producción comunitaria alcanzó los 6,65 millones de toneladas de pescado, de los que el 80% fueron de captura marina y el 20% restante de la producción acuícola. Dicha producción supuso un 37% del total producido en el continente europeo, y un 3% del total mundial (EUMOFA, 2020). Entre los principales productores se encuentra España, que encabezó la producción marina y la piscicultura de la UE-28 en 2017 (Comisión Europea, 2020). En 2018, fue de los 20 mayores productores mundiales y el quinto en la producción de moluscos bivalvos en relación con la acuicultura, constituyendo este tipo de producción el 82,5 % del total de la explotación acuícola en España (FAO, 2020).

En 2019, los países importadores fueron por orden de relevancia España, Suecia, Dinamarca, el Reino Unido y Países Bajos, con 500.000 toneladas de productos pesqueros importados, que supuso una inversión económica de 2.500 millones de euros. En relación con las exportaciones extracomunitarias el balance económico llegó a su pico máximo de 6.170 millones de euros, lo que supuso un aumento de 58% en términos absolutos respecto a la anterior década, siendo tres estados miembros Dinamarca, España y Países Bajos los que obtuvieron el 50 % del valor correspondiente de dichas exportaciones.

Finalmente, el consumo comunitario medio anual en 2018 fue de 24,36 kg per cápita, de los que 18,09 kg fueron de productos de la pesca de captura salvaje, y 6,27 kg de productos acuícolas. No obstante, el consumo varió considerablemente entre los estados miembros de la UE-28 (Figura 2.2), con un consumo en 19 estados inferior a la media comunitaria (EUMOFA, 2020).

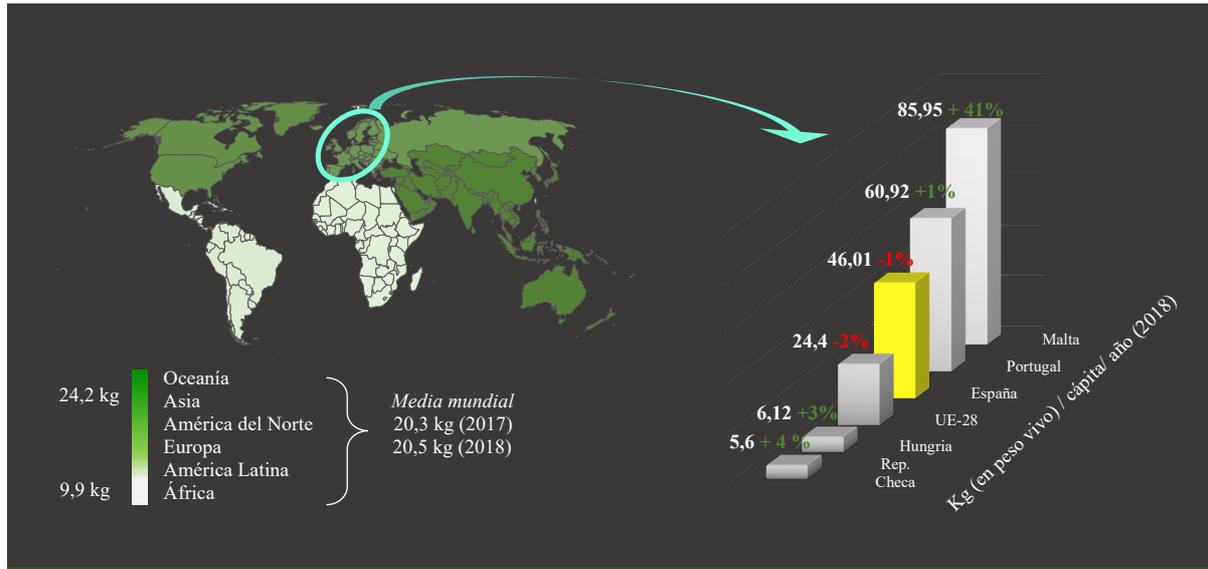


Figura 2.2. Consumo de productos de la pesca per cápita por región en 2017 y 2018 a nivel mundial (parte derecha de la imagen) (FAO, 2020) y consumo de productos pesqueros en algunos estados miembros de la UE-28 en 2018 y su variación en porcentaje respecto 2017 (parte izquierda de la imagen) (EUMOFA, 2020).

2.1.2 Composición y calidad nutricional

2.1.2.1 *Composición nutricional*

La composición nutricional de los productos de la pesca depende tanto de factores endógenos como son el sexo, edad, tamaño, etapa de madurez y la distribución anatómica, como exógenos como la época del año, los cambios climáticos, ubicación geográfica, siendo relevante también la presencia de contaminantes, especialmente en especies marinas (Falch et al., 2010). En la acuicultura, este último factor puede ser controlado aplicando métodos de manejo adecuados, así como controlando la calidad y cantidad de los alimentos utilizados (Grigorakis, 2011).

En condiciones estándares el contenido en *agua* representa del 60 al 80% del peso muscular, estando este elemento en relación inversa con el contenido en grasa, sumando un total de 80% del peso muscular del pescado (Ackman, 1999; Apesteguía, 2000).

El contenido de *lípidos* permite clasificar las especies de pescado como magras cuando el contenido en grasa es $< 1\%$, intermedias o semigrasas entre el 1 y 10% y especies grasas cuando es $> 10\%$ llegando hasta un 30% o más (Nunes et al., 2011). La denominación habitual de pescado “azul” o “blanco” se refiere a las especies grasas o magras, respectivamente (SCP/RAC, 2007), sin embargo, dicha clasificación depende especialmente de la época del año en que se capturan (Soriguer et al., 1997). Los mariscos poseen aproximadamente un 2%

en la fracción comestible (Apesteguía, 2000). La grasa del pescado se caracteriza por la elevada proporción de ácidos grasos mono (MUFA) y poliinsaturados (PUFA), en especial el ácido eicosapentaenoico (C20:5 ω -3) y docosahexaenoico (C22:6 ω -3), que se encuentran en el plancton marino y en ciertas algas y que se incorporan en el pescado y sus tejidos a través de la cadena alimentaria (Apesteguía, 2000). Nutricionalmente, las especies con alto contenido de proteínas concentran mayoritariamente la grasa en el hígado (un ejemplo sería el aceite de hígado de bacalao), y las especies con alto contenido de grasa corporal, la utilizan como depósito de energía y la concentran además, en el músculo, vísceras y peritoneo (Aubourg, 2010; Grigorakis, 2011).

Los productos pesqueros se consideran como fuente de *proteína* de alta calidad nutricional, debido su elevada cantidad, en torno al 11-24% en crudo, a su buena digestibilidad siendo de un 90-98% para el pescado y de aproximadamente un 85% en mariscos, y la proporción adecuada y balanceada existente entre aminoácidos esenciales y no esenciales (Falch et al., 2010).

Los niveles de *carbohidratos* en el músculo de pescado son bajos < 0.05% (Nunes, Bandarra, & Batista, 2011), aunque en ciertos mariscos como la langosta es de un 10,2% en langosta, y de aproximadamente un 12,5% en el cangrejo azul (Falch, Overrein, Solberg, & Slizyte, 2010).

Los minerales representan un 1,6% del peso húmedo del filete de pescado y de un 2% en los moluscos. Finalmente, el contenido *calórico* depende del contenido en proteína y grasa en las diferentes especies. En general, el valor energético de las especies con mayor contenido de lípidos puede llegar a ser casi el doble que las especies magras (Falch et al., 2010; MAPAMA, 2012a).

2.1.2.2 Recomendaciones referentes al consumo: riesgos y beneficios asociados

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN), recomienda a todos individuos el consumo de 3-4 raciones de pescado (1 ración = 125-150 g de filete o 200-250 g de pescado entero) por semana, alternando entre pescado blanco y azul (AESAN, 2019).

Si bien los nutrientes presentes en el pescado y productos de la pesca son de especial relevancia, la presencia de contaminantes en ciertas especies de pescado preocupa cada vez más a los consumidores (Toppe, 2016; González et al., 2021). Uno de estos contaminantes es el metilmercurio, que posee mayor toxicidad que el mercurio inorgánico y del que se ha

establecido una ingesta semanal tolerable a niveles seguros de 1,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal (EFSA, 2012), motivo por el cual la EFSA encomendó a cada estado miembro a que realizara recomendaciones en base al patrón de consumo de las especies consumidas en su territorio (EFSA, 2015), ya que la intoxicación por mercurio puede conducir a daños en el sistema nervioso central y periférico, así como en la función renal (Lehel et al., 2021). Por ello, la AESAN recomendó evitar por completo la ingesta de especies con alto contenido de mercurio a las mujeres embarazadas y niños menores de 10 años, y un consumo inferior a 120 g al mes para niños de entre 10-14 años (AESAN, 2019), considerando que en determinadas especies se acumulan niveles altos de metales pesados a lo largo de la cadena trófica. Es por ello que el consumo de peces depredadores de gran tamaño y más longevos como el pez espada, el tiburón, el atún rojo, el lucio, la anguila, además de otros, debe ser controlado (AESAN, 2019).

Sin embargo, se puede disfrutar del consumo del pescado y productos de la pesca, minimizando su riesgo si se siguen las recomendaciones de las autoridades sanitarias (Sidhu, 2003; Hoekstra et al., 2013; González-Estecha et al., 2014). De hecho, en diferentes estudios se ha observado que ante la perspectiva de consumir especies con riesgo toxicológico, el consumidor ha mantenido el consumo adecuado de pescado, realizando un cambio en el patrón de las especies consumidas (Engelberth et al., 2013). Adicionalmente, en ciertos países de la Unión Europea, la frecuencia del consumo de productos del mar está determinada principalmente por las tradiciones y los hábitos del país, más que por la percepción de riesgo-beneficio (Jacobs et al., 2015).

En estos últimos años, se han ido actualizando, basándose en las opiniones científicas, las recomendaciones dietéticas por parte de las autoridades y organizaciones (Tabla 2.1), con el objetivo de garantizar una mejor percepción de los beneficios para la salud que tienen los nutrientes presentes en los productos de la pesca (Richter et al., 2016).

Tabla 2.1. Beneficios para la salud de los diferentes componentes presentes en los productos de la pesca.

Recursos	Efecto en la salud	Recomendaciones dietéticas y consumo	Referencia
ácidos grasos polinsaturados n-3	<p>Reduce el riesgo de:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Enfermedades cardiacas:</i> Cardiovascular (CVD), Coronario CHD, Arritmia, Trombosis, Accidente cerebrovascular - <i>Enfermedades metabólicas:</i> Síndrome metabólico, Presión arterial, Antihipertensivo Hematosis, Diabetes II, Lípidos en la sangre, anemia, artritis reumatoide, Calcificación vascular, Hipocolesterolémico, Antiaterosclerótico, Obesidad/pérdida de peso, apetito 	<p>El consumo de 250 mg EPA+DHA se asocia a un adecuado desempeño de la función cardiaca</p> <p>Cualquier consumo de pescado confiere una reducción sustancial del riesgo relativo de enfermedades cardiacas, en comparación con ningún consumo de pescado. Un consumo adicional confiere beneficios incrementados</p>	<p>(EFSA, 2009)</p> <p>(Marventano et al., 2015; Psota et al., 2006; Bouzan et al., 2005; König et al., 2005; Kris-Etherton et al., 2002; Mozaffarian et al., 2004)</p>
Proteínas y peptidos	<p>Efecto</p> <ul style="list-style-type: none"> Antihipertensivo, Anticanceroso, Hipocolesterolémico, Antioxidante - <i>Mejora la respuesta:</i> Desarrollo cognitivo en lactantes adultos, crecimiento y desarrollo neuronal, Neurotrófica y deterioro cognitivo/Demencia, Degeneración macular - <i>Sistema inmunológico:</i> Alergias y cicatrización, Antimicrobiano, antiinflamatorio 	<p>Una ración de 150 g suple entre el 50-60% de las necesidades proteicas diarias de un adulto</p> <p>El consumo de la proteína de pescado puede intervenir en las estrategias mundiales de seguridad alimentaria y nutrición, contribuyendo a eliminar el hambre y la malnutrición</p>	<p>Nunes, Bandarra, Oliveira, Batista, & Calhau (2006)</p> <p>(Chen, Jayachandran, Bai, & Xu, 2022)</p> <p>(FAO, 2020)</p>
Caratenoides	<p>Efecto</p> <ul style="list-style-type: none"> Antioxidante, Antiinflamatorio, Antihipertensivo, Anemia, Antiaterosclerótico, Hipocolesterolémico, - <i>Mitigación de enfermedades:</i> neuropatías neurodegenerativas, oftalmológicas, óseas, reproductivas y de la piel 	<p>La astaxantina muestra una de las más potentes propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de la naturaleza.</p>	<p>Sánchez Sendra, (2019)</p> <p>(Baker and Günther, 2004; Fakhri et al., 2018; Lee et al., 2019; Donoso et al., 2021)</p>
Micronutrientes Minerales y vitaminas	<p>Efecto</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Función metabólica</i> Homeostasis, construcción y fortificación de los huesos, Transmisión de impulsos nerviosos, formación eritrocitos Presión arterial, temperatura corporal, reproducción - <i>Sistema inmunitario</i> regulación acción enzimática, formación de hormonas 	<p>El consumo de 200 g de especies salvaje puede satisfacer el 100 % de la Cantidad diaria recomendada para el yodo y el selenio.</p> <p>Ofrecen altos niveles vitamina A, D y B12</p> <p>El pescado puede ser usado para combatir las deficiencias de minerales en países en desarrollo</p>	<p>(Oehlenschläer, 2010)</p> <p>(Gharibzadeh and Jafari, 2017)</p> <p>(Roos et al., 2007)</p>

2.1.3 Obtención y gestión de los productos pesqueros

2.1.3.1 *La industria de transformación*

En 2018, casi el 88% del total de productos pesqueros producidos a nivel mundial (Figura 2.3), se destinaron al consumo humano directo, apreciándose un incremento de un 5 y 10% respecto a los 10 y 20 años anteriores, y de un 21% respecto al año 1960. Un factor como la mejora en la conservación durante el transporte y distribución ha contribuido de forma significativa en este aumento. También ha sido relevante la mejora producida en el proceso de manipulación y transformación del pescado. Sin embargo, en este aspecto todavía existen grandes diferencias entre las distintas regiones a nivel mundial (FAO, 2020).

En la Unión Europea (UE_28) la producción total de productos de la pesca, tanto extractiva como de acuicultura, destinada a fines alimentarios se redujo de un 87% a un 80 % entre los años 2016 y 2018 (EUMOFA, 2020), intensificándose la dependencia respecto a las importaciones de productos procedentes de terceros países.

Como una forma de garantizar un suministro adecuado a la industria transformadora, en el año 2020 a través del Reglamento (UE) 2020/1706 del consejo de 13 de noviembre de 2020 (UE, 2020), se aprobó la reducción o suspensión de los derechos de importaciones correspondientes a determinados productos de la pesca, dentro de los contingentes arancelarios. En la actualidad, la industria transformadora por general es rentable, con ventas que superaron los 32000 millones de euros en 2017, siendo España, Francia y Reino Unido los principales beneficiarios (Unión Europea, 2020). Sin embargo, se debe mencionar que en el proceso de transformación se generan enormes cantidades de subproductos, que podrían ser recuperados bien mediante su consumo directo o para ser utilizados en la elaboración de productos alimentarios reestructurados o funcionales.

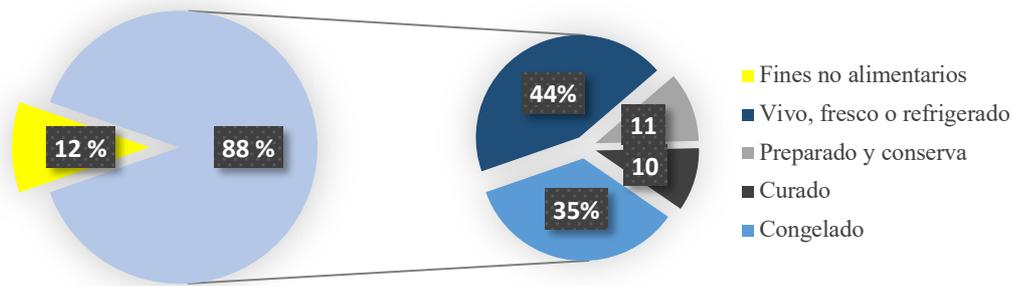


Figura 2.3. Proporción de pescado destinado al consumo humano directo y fines no alimentarios en 2018 a nivel mundial (FAO, 2020).

2.1.3.2 El aprovechamiento de los subproductos pesqueros

Entre los subproductos pesqueros se pueden incluir la cabeza, huesos, vísceras, branquias, músculo oscuro y restos musculares, colgajos del vientre y la piel del pescado (Figura 2.4). Dependiendo de la especie y/o del proceso de elaboración, fileteado o transformación utilizado, puede representar hasta un 70% del pescado elaborado (MAPAMA, 2012a). También, suele incluirse dentro de lo que sería un producto excluido de la transformación industrial los pescados de menor tamaño al deseado o de bajo valor comercial. Ello supone una pérdida de alimentos nutricionalmente importantes, y si bien existe cierta heterogeneidad en la distribución de los nutrientes en el cuerpo completo (Aubourg, 2010), estas partes o porciones desechadas también contienen proteínas de alta calidad, lípidos con ácidos grasos de cadena larga omega-3, micronutrientes como la vitamina A, D, riboflavina y niacina y minerales como el hierro, zinc, selenio y yodo (FAO, 2020).

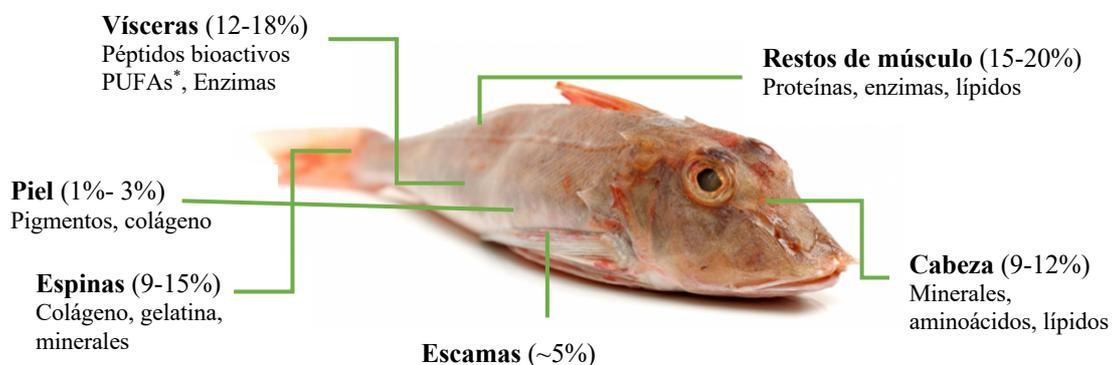


Figura 2.4. Porcentaje de subproductos derivados de la manipulación y transformación y elaboración, así como su principal composición. Elaboración propia. * PUFAs (siglas en inglés de Poly-Unsaturated Fatty Acids): Ácidos grasos poliinsaturados.

Históricamente la explotación de subproductos pesqueros se ha orientado hacia la obtención de harinas y aceite de pescado (Hasan and Halwart, 2009; FAO, 2020). Así, en la Península Ibérica, ya entre el siglo I antes de Cristo y principios del siglo VI existía cierta actividad relacionada con el procesado de pescado y el aprovechamiento de los subproductos pesqueros, como se ha evidenciado en las excavaciones arqueológicas realizadas en Algeciras (Cádiz), en las que se descubrió un barrio industrial de la ciudad romana de Iulia Traducta en la que se realizaba esta actividad, basándose en los hallazgos de utensilios de los que se sospecha que fueron utilizados para la elaboración de harina y aceite de pescado (Domínguez-Bella and Casasola, 2011).

Actualmente, ha aumentado la demanda de subproductos destinados a distintos procesos productivos, con preferencia en el área farmacéutica especialmente con relación a los ácidos grasos polinsaturados, carotenoides (antioxidantes) y fenoles que pueden servir como nutraceuticos de alto valor añadido (Shahidi and Ambigaipalan, 2015; Sánchez Sendra, 2019). En el área de nutrición se orienta hacia la extracción de enzimas proteolíticas, colágeno, péptidos bioactivos, hidrolizados proteicos, ácidos grasos omega-3 y minerales, para elaboración de productos “naturales” e ingredientes alimentarios funcionales (Gehring et al., 2011; Harnedy and FitzGerald, 2012; Bozaris, 2014). En el área de la cosmética, el colágeno y gelatina del pescado es una alternativa a su contraparte bovina (Al-Nimry et al., 2021). Además, en el área biomédica, la piel y mucosa del pescado se ha utilizado en el tratamiento de quemaduras de segundo y tercer grado, con un cierto potencial de uso como terapia novedosa gracias a sus propiedades antimicóticas y antibacterianas (Alam and Jeffery, 2019). Estos subproductos, además, han sido utilizados de forma extensa en la industria textil y del cuero (FAO, 2020).

Respecto a la industria alimentaria, su utilización puede dividirse en dos niveles de procesado. Uno primario, en el cual los subproductos y el pescado infrautilizado son directamente sometidos a procesos de salazón, secado, fermentación, fritura, asado o cocción y comercializados envasados al vacío o congelados en tiendas, pequeños supermercados y marisquerías particulares, para luego ser posteriormente utilizados en la elaboración de platos típicos/regionales o tradicionales. En un segundo nivel son utilizados para ser utilizados a nivel industrial, elaborando productos reestructurados de alto valor añadido (Tabla 2.2). Algunos de ellos confieren nueva imagen alimentaria y/o gastronómica, y que gracias al empleo de diversas tecnologías su venta también se realiza en grandes superficies comerciales.

Tabla 2.2. Aprovechamiento por parte de la industria alimentaria de los subproductos de la pesca.

Estructura usada	Producto reestructurado de valor añadido		Referencia
<i>Carne desmenuzada o Mince</i>	Embutidos, Nuggets, hamburguesas, jamón de atún, paté o crema untar, palitos de atún, fideos y ravioles		(Sánchez-Faure et al., 2017; FAO, 2020)
<i>Pescado entero</i>	Aderezos enlatados fermentados, ahumados, curados, salados secos, preparados a partir de pequeños peces pelágicos. Caldo de pescado semi y listo para el consumo		(Mol, 2005; Zhang et al., 2013; Fan et al., 2019)
<i>Harina de pescado</i>	Patatas fritas, galletas, bolas de pescado extrusionadas/secas, condimentos y pigmentos en polvo, sopa instantánea de pescado.		(Monteiro et al., 2014; Palmeira et al., 2016)
<i>Aceite de pescado</i>	Aceites refinados de alta calidad comestible, ricos en PUFAs extraídos del pescado azul y aceite de hígado de bacalao		(MAPAMA, 2012b)

2.1.3.3 *Desafíos y oportunidades del uso de subproductos pesqueros*

La cantidad de subproductos generados por las capturas, el procesamiento y descartes de especies de peces de bajo valor es muy elevada, sin embargo, el uso de tecnologías para recuperar los nutrientes, incluso para su uso directo es escaso en determinadas regiones del mundo. Se debe comentar adicionalmente, que es de especial importancia la aplicación y cumplimiento de las exigencias higiénico-sanitarias establecidas, basadas en normas de inocuidad y calidad como forma de garantizar la protección de los consumidores. Como se ha comentado anteriormente, los productos rechazados suelen procesarse como harina y aceite de pescado, para el consumo humano o producción de piensos para la cría de peces de acuicultura y de ornamentación, y para uso farmacéutico, entre otros (FAO, 2020). En el hogar y la industria alimentaria, un producto mediante el cual se puede aprovechar este tipo de productos es el caldo de pescado.

2.1.4 El Caldo de Pescado

2.1.4.1 *Producción y consumo*

Tradicionalmente, el caldo de pescado se define como un producto apto para todas las edades, elaborado de forma artesanal a partir las partes sobrantes del pescado y pescado entero infrautilizado, permitiendo aprovechar sus nutrientes, como lípidos y proteínas de alta calidad nutricional (Zhang et al., 2020). La denominación de caldo de pescado toma como referencia al ingrediente primario utilizado en su preparación y que tiene y confiere propiedades nutricionales y saporíferas características. En esta preparación culinaria tradicional con frecuencia se incorporan diferentes proporciones de otros ingredientes como el aceite, la sal, pimenta, variedades de vegetales y otras especias. Las pautas de elaboración en el método tradicional consisten en un lavado y remoción de impurezas del pescado y productos de la pesca, lavado y cortado de vegetales, cocción con o/no incorporación de condimentos o especias. Una vez finalizado el proceso de cocción los sólidos, pescado y vegetales, que se encuentran en el agua son extraídos y el caldo de cocción es filtrado (Institut Català de la Cuina, 2016).

A nivel industrial, el caldo se le define como un producto líquido claro y poco espeso que puede ser obtenido de dos formas: a) mediante la cocción con agua de productos pesqueros, vegetales, hidrolizados proteicos, condimentos, aromas y especias y sus extractos o destilados naturales, o otros productos alimenticios para mejorar su sabor, así como aditivos autorizados por la legislación y b) mediante la reconstitución de una mezcla equivalente de ingredientes deshidratados de acuerdo con las instrucciones de uso o utilización (Real Decreto 2452/1998, 1998).

El caldo se consume directamente como entrante o primer plato en los ágapes, o se destina a la preparación de más recetas culinarias como la paella y la fideuà. En 2020, en España se consumieron 0,20 litros de caldo comercial per cápita y se gastó 2,02 € (al precio de 10, 05€ el litro) por persona al año, un 14,5 % y un 20,5 %, más que en 2019, respectivamente. Si bien en el año 2019, el perfil de consumidores de este tipo de producto eran parejas con hijos, en el 2020 fue de adultos independientes, parejas adultas sin hijos, jóvenes independientes (con un consumo per cápita superior a la media nacional) y jubilados con 0,3 L/per cápita/año con una ingesta de un 62 % superior a la media nacional (MAPA, 2021).

Los estudios de mercado muestran que en las zonas urbanas de España, así como en la mayoría de otros países europeos, hay una mayor tendencia al consumo de productos con menos

conservantes, más saludables, de mayor valor agregado, más nutritivos y funcionales y cuya apariencia sea lo más parecida, en este caso a un caldo o sopa casera, y que además, sean estables a temperatura ambiente o en refrigeración, y sean rápidos de calentar incluso en el microondas (Euromonitor international, 2020). Por lo que, se ha producido un cambio en la tendencia de consumo pasando de caldos y sopas deshidratados a productos líquidos listos para consumir con o sin calentamiento previo (Research and Markets, 2020). Este proceso influye igualmente en la preferencia de los envases utilizados para su conservación en temperatura ambiente o refrigeración (Euromonitor international, 2020). Expertos del sector de ventas prevén un continuo crecimiento y expansión del mercado global de caldos y sopas, incluso en la etapa actual de pandemia de COVID-19. Pronostican un incremento de ventas de 885,68 millones de euros del año 2020 a 1.080,97 millones de euros a finales de 2025, periodo en el cual los productos tratados mediante el UHT (Ultra High Temperature) serán los de mayor crecimiento (Research and Markets, 2020).

2.1.4.2 *Características nutricionales*

La composición nutricional media del caldo de pescado puede variar en función de las especies de pescado (blanco y/o azul) utilizadas como ingrediente. Un referente de dicha composición podría ser el obtenido de la base de datos de referencia estándar para nutrientes de la *United States Department of Agriculture* (USDA) para caldo de pescado y que se muestra en las Tablas 2.3 y 2.4 (USDA, 2019).

Tabla 2.3. Valor energético y contenido de macronutrientes por cada 100 mL de caldo de pescado (USDA, 2019) y información a facilitar al consumidor respectivo a ingesta de referencia (IR) (UE, 2011).

Información nutricional media	Porción de 100 mL	% Ingesta de referencia*
Calorías	67 kJ / 16 kcal	1
Proteína	2,00 g	4
Grasa total	0,60 g	1
de las cuales saturadas	0,133 g	0,7
Ceniza	0,97 g	-
Carbohidratos ¹	0,40 g	0
Azúcares	0,09 g	0
Fibra alimentaria	0,00 g	0
Sodio	0,20 g	9
Agua	96,00 g	-

*: Ingesta de referencia de un adulto medio (8400 kJ /200 kcal)

¹: Calculado por diferencia (USDA, 2019).

Tabla 2.4. Nutrientes disponibles por cada 100 mL de caldo de pescado (USDA, 2019) y su proporción declarable en lo que respecta al valor de referencia de nutrientes (VRN) (UE, 2011).

Información nutricional media referente a:			Información nutricional media referente a:	
Minerales	Por 100 mL	VRN (%)	Ácidos grasos	Por 100 mL
Calcio	30 mg	3,8	Saturados total.	0,133
Hierro	0,21 mg	1,5	4:0	0
Magnesio	1 mg	0,3	6:0	0
Fosforo	30 mg	4,3		0
Potasio	86 mg	4,3	10:0	0
Sodio	200 mg	9	12:0	0 g
zinc	0,10 mg	1	14:0	0,022 g
Cobre	0,051 mg	5	16:0	0,089 g
Selenio	0,7 µg	1,3	18:0	0,022 g
Vitaminas			Monoinsaturados totales	0,108 g
Vitamina A-RAE	1 µg	0	16:1	0,026 g
Tiamina -B ₁	0,0 mg	0	18:1	0,060 g
Folato -DFE	4 µg	-	20:1	0,014 g
Colina - B ₇	9,2 mg	-	22:1	0,008 g
Riboflavina - B ₂	0,03 mg	2	Poliinsaturados totales	0,245 g
Niacina - B ₃	1,37 mg	9	18:2	0,006
Vitamina B ₁₂	0,10 µg	4	20:4	0,019 g
Vitamina B ₆	0,010 mg	1	20:5 (EPA)	0,095 g
Vitamina C	0 mg	0	22:5 (DPA)	0,018 g
Vitamina D	0 mg	0	22:6 (DHA)	0,101 g
Vitamina E(α-tocoferol)	0,15 mg	1	Colesterol	0,0 mg
Vitamina K (Filoquinona)	0,2 µg	0		

EPA: ácido eicosapentanoico; DPA: ácido docosapentanoico; DHA: ácido docosahexanoico

2.1.4.3 *Calidad del caldo de pescado*

La producción industrial del caldo de pescado se encuentra regulada bajo normas técnico-sanitarias cuyo objetivo es la producción de alimentos inocuos aptos para el consumo. En España, la disposición regulatoria es la Reglamentación técnico-sanitario para la elaboración, distribución y comercio de caldos, consomés, sopas y cremas (Real Decreto 2452/1998, 1998), y el Real decreto 3384/2000 por el que, se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas (Real Decreto 3484/2000, 2001). Ambas disposiciones han sido parcialmente derogados por el Real decreto 135/2010 y Real Decreto 176/2013 (Real Decreto 135/2010, 2010; Real Decreto 176/2013, 2013).

En la producción de los caldos, como en cualquier otro producto alimentario, dando cumplimiento de las normas, la legislación y a los requisitos de los organismos de certificación, es obligatoria la implementación del sistema de *Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos* (APPCC) y sus prerrequisitos, y que fue recomendado y desarrollado previamente por el Comité Asesor Nacional sobre Criterios Microbiológicos (NACMCF, 1998) y la Comisión del *Codex Alimentarius* (CAC, 2003).

En algunos casos los prerrequisitos se concretan en el Reglamento (CE), 178/2002 de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria (Reglamento (CE) 178/2002, 2008), y se desarrollan en el Reglamento (CE) 852/2004, de 29 de abril de 2004, relativo a higiene de los productos alimenticios (Reglamento (CE) 852/2004, 2004), y que se relacionan con la implantación de las buenas prácticas de manufactura o fabricación (BPM) y las buenas prácticas de higiene (BPH), enfocadas a la higiene y formación del personal, de las instalaciones, equipamientos y utensilios, mantenimientos y servicios, control de la limpieza y desinfección, control de plagas, control de las instalaciones y infraestructuras, almacenaje, distribución, transporte, así como la gestión de residuos, que son claves para evitar un el riesgo de introducción de un posible peligro al alimento. El sistema APPCC, además, contempla que de una forma sistemática se apliquen medidas preventivas y de control en todo el proceso productivo de un alimento. Engloba un conjunto de procedimientos y prácticas, conocidas como controles de proceso que aplicadas sobre el alimento son capaces de minimizar o prevenir significativamente la presencia de peligros biológicos, químicos y físicos. En las etapas clave o Puntos de Control Crítico (PCC) se vigilan los límites críticos de aceptación para aplicar las medidas correctoras en caso de que se produzca una desviación en el proceso de control (CAC, 2003).

La Tabla 2.5, muestra los peligros biológicos y químicos, en términos generales, así como algunos aspectos de calidad, relacionados con las fases de producción del caldo, basado en la guía de la Food and Drug Administration de orientación industrial para el análisis de peligros y controles preventivos aplicables a los productos alimentarios (FDA, 2018).

Tabla 2.5. Etapas de producción del caldo de pescado: peligros y efectos en la calidad, causa, control como punto de control crítico (PCC) o punto de control (PC) y su vigilancia.

<i>Etapa</i>	<i>Peligro</i>	<i>Causa</i>	<i>Control</i>	<i>Vigilancia</i>
<i>Recepción de productos</i>	Biológico	<ul style="list-style-type: none"> ▲ Carga microbiana ▲ Actividad enzimática ▲ Reacciones químicas ▲ Aditivos y metales pesados 	PC	<ul style="list-style-type: none"> - Temperatura recepción y conservación. - Indicadores microbiológicos y fisicoquímicos de deterioro - Sulfitos, plomo, cadmio y mercurio
<i>Incorporación Ingredientes</i>	Biológico	Contaminación cruzada	PC	<ul style="list-style-type: none"> - Temperatura de trabajo - BPH y BPF
<i>Formulación</i>	Químico	▲ Aditivos alimentarios	PC	<ul style="list-style-type: none"> - Límites aceptables
<i>Cocción y posterior envasado</i>	Biológico	Supervivencia de patógenos Contaminación cruzada	PCC	Control de proceso y de la temperatura necesaria para la reducción microbiana
<i>Cocción normal</i>	Biológico	Supervivencia de patógenos y de alteración	PC	Control de límites aceptables
<i>Tratamiento conservación</i>	Biológico	Supervivencia de patógenos y de alteración	PCC	Control límites legales para vida útil de productos
<i>Almacenamiento</i>	Biológico	Crecimiento de bacterias Productoras de toxinas	PC	Condiciones y temperatura de conservación necesarias

PCC: Punto de control crítico; PC: Punto de control.

Respecto a la recepción de la materia prima e incorporación de ingredientes, e caldo de pescado es uno de los pocos productos alimentarios en el que para su elaboración se puede aprovechar todo el pescado, incluidos los subproductos del procesado, eviscerado, recortes del fileteado, así como, los productos de la pesca de pequeño tamaño (menor al deseado) y las especies de bajo valor comercial (en términos económicos) considerados descartes o desperdicios de la industria pesquera.

La guía de orientación de la FDA (2020), sobre los peligros y los controles del pescado y los productos pesqueros, y la guía para la aplicación de la legislación de aditivos y contaminantes de la UE en productos pesqueros y acuícolas del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA, 2012), son herramientas que ayudan en la determinación de las estrategias de control para la prevención de peligros y de los factores limitantes de la vida útil de los productos de la pesca. Entre ellos se puede destacar a *Listeria monocytogenes*, histamina,

Yersinia enterocolitica, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, y las reacciones químicas que producen la pérdida de firmeza de la carne, olores y sabores desagradables (sulfuro, amoníaco), mucus lechoso superficial, cambios de coloración, la producción de compuestos nitrogenados (nitrógeno básico volátil, trimetilamina), de los lípidos (peróxidos, ácidos grasos libres), la degradación de ATP (alteración de nucleótidos, hipoxantina), y cambios en el pH.

El proceso específico de cocción puede ser controlado para prevenir, eliminar o reducir el riesgo de un peligro microbiológico para los consumidores (NACMCF, 2006). Por lo cual, sería un PCC siempre que no se prevea la aplicación de tratamientos posteriores, como la pasteurización o esterilización.

Respecto al producto final y su conservación, se debe considerar que para satisfacer las necesidades del mercado hay una amplia diversidad de formas de presentación del producto final, como: a) listos para el consumo que se presentan con o sin calentamiento previo, b) condensado y concentrado en forma líquida o semilíquida o pastosa, debiendo seguir las instrucciones de utilización para que se transforman en preparados alimenticios y c) deshidratados que necesitan que sean reconstituidos en agua y calentados previo a su consumo siguiendo las instrucciones de utilización (Real Decreto 2452/1998, 1998).

En el caso de alimentos listos para el consumo son factores limitantes de la vida útil, la aparición de cambios en las propiedades sensoriales, nutricionales y funcionales (esencialmente de las proteínas y lípidos), el crecimiento de microorganismos patógenos y de alteración, siendo de especial relevancia la aplicación eficaz de los procesos de conservación.

Respecto a la contaminación microbiana, diversos microorganismos “indicadores” pueden proporcionar información sobre su potencial deterioro y de su patogenicidad en comidas preparadas con tratamiento térmico (Grupo B), como es el recuento total de aerobios mesófilos cuyo el límite en su recuento deberá estar debajo de 10^5 ufc/g, de *Enterobacteriaceas* (lactosa positiva) con un recuento inferior a 10^2 ufc/g, de indicadores de proceso como *Escherichia coli* siendo el límite la ausencia/g y el de *Staphylococcus aureus* inferior a 10^2 ufc/g, que permiten determinar posibles malas condiciones de higiene empleadas durante el procesamiento, envasado o almacenamiento (Real Decreto 3484/2000, 2001). En relación a la presencia de patógenos, además de la ausencia/25g de *Salmonella* contemplado en el anterior Real Decreto, ya derogado, en el Reglamento (CE) n.º 2073/2005 (Reglamento (CE) 2073/2005, 2005), tiene como criterio la ausencia de *Listeria monocytogenes* en 25 g del producto antes de que el

alimento deje las instalaciones de producción, o que su presencia no supere el límite de 100 ufc/g durante la vida útil.

En relación con las proteínas y lípidos, los cambios que se producen son la desnaturalización proteica y oxidación lipídica. El calor es un agente físico promotor de cambios en las proteínas, capaz de transformar las estructuras secundarias, terciarias, cuaternarias a primarias (desnaturalización proteica parcial o completa). Dicho proceso, da lugar a alteraciones de sus propiedades hidrodinámicas aumentando la viscosidad, se disminuye el coeficiente de difusión y de la solubilidad al exponerse los grupos hidrofóbicos internos a la superficie, además de producirse cierta pérdida de sus propiedades biológicas (Messens et al., 1997).

Por otra parte, las altas temperaturas empleadas en la cocción pueden afectar a las características de los ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos (función estructural), triglicéridos (depósitos de grasa), lisofosfolípidos, ésteres y ácidos grasos libres (Falch et al., 2010), debido a reacciones de hidrólisis (saponificación) y oxidación (Juárez and Sammán, 2007). De hecho, la oxidación lipídica es el segundo factor limitante de la vida útil de los productos a base de pescado, después de la contaminación microbiológica. Los productos resultantes tienen un efecto negativo sobre el perfil organoléptico, incluso en bajas concentraciones, y pueden interactuar con otros compuestos como, proteínas, carbohidratos, y agua, por lo que, determinar el grado de oxidación y rancidez es de especial importancia en estos productos (Rustad, 2010). Sin embargo, los aditivos añadidos con funcionalidad como antioxidante (MAPA, 2012) y los presentes en el propio pescado pueden preservar la fracción de lípidos tan frágil y extremadamente importante en los productos de la pesca sometidos a procesos de cocción (Secci and Parisi, 2016). Los compuestos presentes en el propio pescado son enzimas como la catalasa, peroxirredoxina, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa y la glutatión S-transferasa, así como metabolitos de bajo peso molecular hidrosolubles como el ácido ascórbico y ácido úrico, o liposolubles como la vitamina E, carotenoides, coenzima Q, compuestos fenólicos, bilirrubina y fosfolípidos (Kalegeropoulos y Chiou, 2010).

El proceso de hervido del pescado se considera beneficioso con relación a la conservación de los nutrientes primarios, presentando en ciertas especies de pescado incluso cantidades mayores de proteínas y lípidos respecto al producto en estado crudo de, así como respecto a otros métodos de cocción, como el asado a la parrilla y la fritura (Nunes, Bandarra, Oliveira, Batista, & Calhau, 2006). Por otra parte, en el caso de las verduras en la preparación de caldos,

componentes tan importantes como las sustancias antioxidantes de tipo fenólico son lixiviados al agua de hervor, variando su cantidad según las características del alimento. En el caso de la remolacha, tallos de apio, coles, perejil y brócoli se observó que los caldos tenían una notable actividad antioxidante (Bilge Ertekin et al., 2017).

La cocción no solo tiene como finalidad que el alimento sea apto al consumo o la mejora de la asimilación y biodisponibilidad de los nutrientes, sino que en el caso del pescado también realza la aptitud sensorial del pescado incorporado (Daschner, 2016). La incorporación de pescado entero permite su aprovechamiento completo, sin embargo, si se utilizan especies con mayor contenido de grasa peritoneal y perivisceral rápidamente desprenden un fuerte y desagradable olor a rancio (kriton grigorakis, 2011). En el caso del pescado blanco, al tener cantidades despreciables de lípidos se prolonga la vida útil del caldo, confiriéndole un sabor característico debido a los péptidos y proteínas (Apesteguía, 2000), aunque un ligero aumento de 1 a 2 % de grasa, debido a factores externos y internos, puede afectar drásticamente a la calidad del pescado utilizado para la elaboración de caldos (Grigorakis, 2011). Por lo tanto, la distribución heterogénea de la grasa corporal no solo es importante en términos de clasificación del pescado sino también en la calidad (Aubourg, 2010), de forma que, el perfil olfativo-gustativo del caldo estará condicionado por las características proteicas y lipídicas de las especies de pescado seleccionado.

2.1.5 Procesos de conservación

Si bien el Comité Asesor Nacional sobre Criterios Microbiológicos para los Alimentos (NACMCF: The National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods) (NACMCF, 2006) consideró que ciertas temperaturas y condiciones de cocción aplicadas en las matrices alimenticias pueden ser consideraras equivalentes a la pasteurización, su eficacia debe ser evaluada con el objetivo de reducir o inactivar los patógenos de importancia para la salud pública hasta límites aceptables y que es variable en función de las características del alimento, como la actividad de agua, el pH, el contenido de grasa, proteínas y carbohidratos y el tamaño de partícula, (FDA, 2020).

La pasteurización térmica es un proceso eficaz para conservación de alimentos listos para el consumo que produce una pérdida mínima de la calidad deseada de los alimentos (Peng et al., 2017). Durante este proceso, generalmente se utilizan temperaturas inferiores a 100 °C, y su eficacia depende de la aplicación de una combinación tiempo y temperatura, que permita la

transferencia de calor a la matriz alimenticia actuando sobre el patógeno más resistente al calor y produciendo una reducción determinada o eliminación de la población microbiana (ECFF, 2006).

En caso de la pasteurización la recomendación es la eliminación de los microorganismos patógenos más resistentes y psicrotrofos como es *Listeria monocytogenes*, si no se envasa en condiciones de anaerobiosis. Sin embargo, si se envasan en condiciones de oxígeno reducido el peligro a controlar es *C. botulinum* no proteolítico tipo E, B o F (FDA, 2020) (Tabla 2.6), debiendo garantizar una reducción de 6 unidades logarítmicas según recomendaciones referidas a la pasteurización térmica aplicada a los productos a base de pescado (FDA, 2020).

Tabla 2.6. Recomendaciones de tratamientos térmicos de productos refrigerados envasados al vacío o atmosfera modificada con aceptación a nivel europeo y de los Estados Unidos (ECFF, 2006), FDA, 2020), y la vida útil (Peng et al., 2017).

Guía de Aceptación	Temperatura interna del producto y tiempo necesario	Reducción 6 log Microorganismo diana	Periodo caducidad
Europa y Estados Unidos	70 °C 2 min, $z=7,5^{\circ}\text{C}$	<i>L. monocytogenes</i>	≤ 10 días (5 °C)
Estados Unidos	90 °C 10 min, A < 90 °C $z=10^{\circ}\text{C}$; a > 90 °C $z=7^{\circ}\text{C}$	<i>C. botulinum</i> no proteolítico tipo E, B y F	≥ 6 semanas (5 °C)

Sin embargo, al tener poco o ningún efecto sobre las esporas bacterianas, lo adecuado es implementar controles preventivos adicionales. Uno de ellos es el envasado a temperaturas superiores a los 85 °C, con la finalidad de minimizar el riesgo de una recontaminación del producto y el crecimiento de bacterias como *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y cepas patógenas de *E. coli*. Otro factor importante sería su posterior conservación en refrigeración a temperaturas inferiores a 5 °C (FDA, 2018).

A diferencia de la pasteurización, también se utilizan en la industria alimentaria procesos que permiten la eliminación de los patógenos y de microorganismos de alteración esporulados, que permiten prolongar la vida comercial del producto, utilizando por lo general tratamientos térmicos superiores a los 100 °C (FDA, 2020). Entre ellos, cabe destacar uno de los más utilizados en el tratamiento de los caldos, el tratamiento UHT o ultra altas temperatura, que permite prolongar la vida comercial un mínimo de 6 meses. Sin embargo, la alta resistencia térmica de ciertas esporas del género *Bacillus* a los tratamientos UHT, demostrado en otras

matrices como la leche (Tabit and Buys, 2011), condiciona que en determinadas circunstancias deban aplicarse temperaturas muy altas, que puede contribuir a alterar las características nutritivas, sensoriales y físicas del producto. En este caso, en el Real decreto 3484/2000 (Real Decreto 3484/2000, 2001), las comidas preparadas sometidas a la esterilización (Grupo D) deben someterse a pruebas de estabilidad microbiológica o de esterilidad comercial.

Entre los tratamientos alternativos a la pasteurización que pueden ser aplicados de forma individual o combinados entre sí aplicables a este tipo de productos, se incluyen diferentes tecnologías basadas en el tratamiento térmico o calentamiento del producto, como el calentamiento a vapor y agua caliente, el calentamiento óhmico y inductivo, microondas, procesados por infrarrojos y la radiofrecuencia. Entre las tecnologías consideradas como no térmicas se puede mencionar el procesado a alta presión (HPP: High Pressure Processing), la homogeneización a ultra alta presión (UHPH: ultra-high pressure homogeneization), objeto de estudio de esta tesis, la radiación ultravioleta, la irradiación, los campos eléctrico pulsados, los pulsos electromagnéticos, los ultrasonidos, la filtración y la descarga de arco de alto voltaje, entre otros (FDA, 2018). Con alguna de tecnologías también pueden obtenerse la esterilidad comercial del producto y hacer que los alimentos sean seguros para ser almacenados y distribuidos a temperatura ambiente (Soni et al., 2021).

Los requisitos y parámetros científicos necesarios para establecer la equivalencia de algunos de estos métodos alternativos a los resultados de pasteurización o esterilización se describen en el documento publicado por el Comité Asesor Nacional sobre Criterios Microbiológicos para los Alimentos (NACMCF, 2006), en el que consideran diferentes factores para la validación del proceso tecnológico, como el tipo de alimento (forma, tamaño, volumen, composición, componentes, estado líquido/ sólido, frío/congelado, entre otros), el equipo el material de embalaje y la aplicación de medios fiables para monitorizar el proceso.

2.1.6 La homogenización a ultra alta presión (UHPH)

En la actualidad, en el sector alimentario se tiende a la elaboración de alimentos mínimamente procesados y con una disminución en la utilización de aditivos, lo que requiere, además de aplicar las medidas preventivas habituales en la producción de alimentos (FDA, 2018), la investigación de distintas tecnologías, algunas de ellas calificadas como emergentes, con claras ventajas respecto a los procesos clásicos, habitualmente térmicos, cuyo objetivo es la

reducción y eliminación de la carga microbiana en el producto elaborado (Comisión Europea, 2020; FAO, 2020).

Entre las tecnologías emergentes se encuentra la homogenización a ultra alta presión que deriva del convencional método de homogenización, aplicable en los productos líquidos (Guamis López and Escriu Justo, 2010). Esta técnica de procesado en continuo de fluidos bombeables ha sido objeto de numerosos estudios de investigación con el apoyo y financiación por parte organismos de la Unión Europea, y programas nacionales a través de diferentes proyectos de investigación, desarrollo tecnológico, innovación y demostración, además de en las industrias asociadas a un plan de formación de doctorados industriales.

En dichos estudios se ha demostrado que se consigue un producto en el que se conserva su equilibrio nutricional, su estabilidad física, así como su adecuada higienización, prolongando la vida útil de los productos listos para el consumo (Ferragut et al., 2015). Por lo tanto, se ha demostrado que es una alternativa capaz de satisfacer las expectativas del consumidor relacionadas con la adquisición de productos que presenten características nutricionales y organolépticas lo más parecidas a los productos mínimamente procesados, y que además permiten que sean comercializados durante periodos iguales o superiores a su análogos producidos con las tecnologías convencionales (Codina-Torrella et al., 2018).

2.1.6.1 Homogeneizadores a alta presión

2.1.6.2 Factores que impulsaron su desarrollo

El proceso de homogenización se aplicó inicialmente en la leche con el objetivo primario de retardar los fenómenos de desestabilización que se producen, como es la formación de crema (cremado) en la superficie del depósito, mientras la emulsión coloidal permanece en reposo (Dairy Engineering Company, 2010). El proceso se presentó por primera vez por Auguste Gaulin en el año de 1899 en Francia (Pandolfe, 1982), con un considerable éxito transfronterizo (Diels & Michiels, 2006), obteniendo la patente estadounidense (patente N° 756.953), en el año de 1904 (Gaulin, 1904). En el diseño original (Figura 2.6A), el equipo se construyó con dos secciones principales, la primera compuesta de una bomba de 3 pistones creada para forzar el paso del producto, a través de un conjunto de pequeños y delgados tubos capilares que formaban parte de la segunda sección, que sería la versión inicial de la válvula homogeneizadora (Pandolfe, 1982; Dairy Engineering Company, 2010). Al descubrir que tras

la homogenización los glóbulos de grasa se reducía el tamaño cientos de veces (500-600), siendo más pequeños que el diámetro real de los tubos, Gaulin consideró que los tubos solo actuaban como un medio de distribución uniforme de la leche contra una superficie sólida y reemplazó los tubos por una única gran abertura (Pandolfe, 1982).

Las variaciones en el diseño propuestas por Gaulin siguieron con los años. Se produjeron transformaciones significativas, como la introducción de la válvula homogeneizadora de 2 etapas patentada en 1925 por la compañía Manton-Gaulin, junto con la modernización del material construcción, presentando el modelo CGD (Figura 2.6B). Dicho modelo se comercializó desde los años 1947 (Dairy Engineering Company, 2010), siendo uno de los más populares (Guamis López & Escriu Justo, 2010). Con introducción de la válvula de micro-apertura (Micro-GAP™), se consiguió al menos un incremento de un 30% en su eficiencia en relación a cualquier válvula convencional con tasas de flujo elevadas (Pandolfe, 1982). Esta mejora, formó parte de las válvulas APV-Gaulin cuyas modificaciones han permitido su uso no sólo en la industria láctea (Dairy Engineering Company, 2010), además de ser la base para la investigación y mejora de las actuales válvulas de homogenización (Floury et al., 2004b; Ypsicon, 2018).

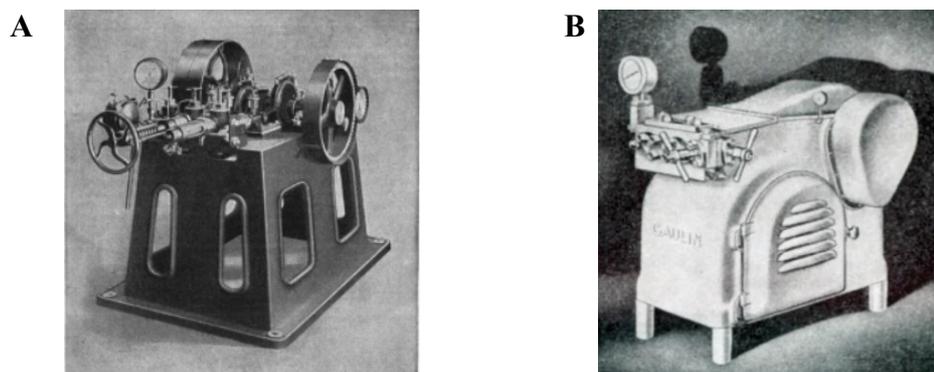


Figura 2.5. Prototipos del homogeneizador convencional de Gaulin. A) El primer equipo comercializado en los años 1900 accionado por correa Dairy Engineering Company, 2010). B) Modelo CGD, segundo equipo dotado de 2 válvulas (homogeneizador de 2 etapas (Guamis López and Escriu Justo, 2010).

2.1.6.3 Los equipos y sus características

El homogeneizador de Gaulin, actualmente referido como la homogeneizadora convencional en su característica de diseño y ejecución, lleva una bomba de desplazamiento positivo que va acoplada a un intensificador de presión, que actúa bombeando en fluido de forma axial hacia el asiento de la válvula (Figura 2.7), acelerándolo radialmente al entrar en la pequeña apertura de homogeneización ($\sim 10\text{-}30\ \mu\text{m}$) comprendido entre la parte inicial del asiento y el cabezal de esta. Tras pasar por esta apertura, el fluido se convierte en un chorro radial que se estanca en un anillo de impacto (Figura 2.7), antes de salir del homogeneizador a presión atmosférica (Kleinig and Middelberg, 1997). Tras impactar con el anillo de la válvula el fluido se expande debido al cambio brusco de presión al cual es sometido a la salida de la válvula (Kleinig and Middelberg, 1996). Como resultado de una combinación de fuerzas, entre ellas mecánicas, se produce una reducción en el diámetro de los glóbulos de grasa (Pandolfe, 1982; Flourey et al., 2004b). Las válvulas de retención fijadas por encima y debajo de cada pistón son responsables de mantener el fluido hacia delante durante el curso de succión y descarga del pistón (Dairy Engineering Company, 2010). La presión de funcionamiento se controla ajustando la distancia entre la válvula y el asiento (Kleinig and Middelberg, 1997).

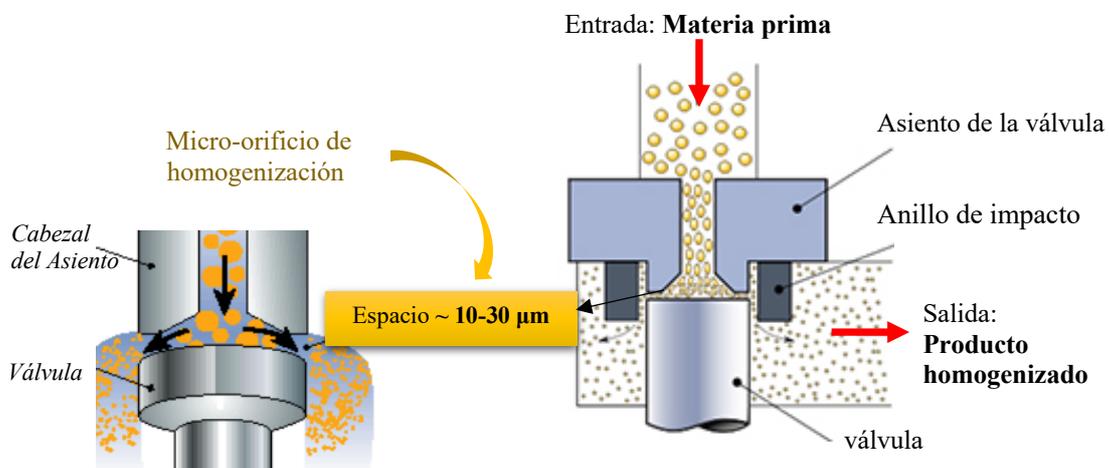


Figura 2.6. Esquema de los componentes de la válvula homogeneizadora de Gaulin (asiento de la válvula, anillo de impacto y válvula), adaptación del diagrama de de Flourey et al. (2004b) (Dairy Engineering Company, 2010).

La innovación tecnológica relacionada con el material y los elementos de construcción comenzó alrededor de los años 80 (Guamis López & Escripto Justo, 2010; Pandolfe, 1982). Debido a la mayor demanda de los consumidores de adquirir productos con una vida útil más

larga y productos con mejor estabilidad, se incentivó la investigación para la mejora y modernización de la construcción de las válvulas y de los equipos (Diels and Michiels, 2006), consiguiéndose fabricar de forma exitosa homogeneizadores de doble etapa a presiones de trabajo más elevadas (Paquin, 1999).

El homogeneizador de dos etapas, como características de diseño, posee dos válvulas conectadas en serie. En la primera válvula se trabaja a una mayor presión (primera etapa), y en la segunda la presión de homogenización es de un 10-20 % inferior a la anterior (Levy et al., 2021). Con ello se consigue los glóbulos de grasa reducidos en la primera etapa, se dispersen como gotas individuales (Figura 2.8), por lo tanto, su función es aumentar la dispersión de las partículas para obtener emulsiones físicamente mucho más estables.

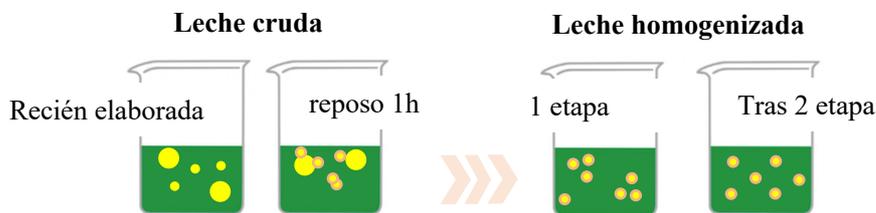


Figura 2.7. Efecto obtenido con la homogenización de la leche (reducción del tamaño partículas), y tras aplicar una segunda etapa de homogenización (mejora la dispersión de las partículas).

El término de homogenización *convencional* se utiliza para hacer referencia a condiciones de tratamientos presiones bajas cuando se aplican 5-20 MPa (Pandolfi, 1982), y medias a 20-60 MPa (Thiebaud et al., 2003; Dumay et al., 2013), habituales en el tratamiento de la leche. Sin embargo, los equipos actuales permiten el empleo de presiones equivalentes a 10-15 veces superiores (100-400-MPa) al convencional, y que se denomina homogeneización a altas presiones (Paquin, 1999; Diels and Michiels, 2006; Sevenich and Mathys, 2018).

Aunque no está establecido con exactitud los límites de presión para diferenciar los tratamientos a alta (HPH) y ultra alta presión (UHPH) (Diels and Michiels, 2006; Pereda et al., 2007), se considera que la homogeneización a alta presión se correspondería con tratamientos que como máximo alcanzan los 150-200 MPa (Dumay et al., 2013; Zamora and Guamis, 2015), mientras que la homogeneización a ultra alta presión (UHPH) se correspondería con presiones que varían de 200 a 600 MPa (Morata and Guamis, 2020), existiendo diferentes equipos que pueden trabajar a diferentes caudales, lo que permite su utilización a nivel de laboratorio o industrial (Tabla 2.7). La aplicación a más altas presiones ha permitido que se extendieran su

uso con diferentes objetivos, en el sector farmacéutico, químico y bioquímico, además de la industria alimentaria (Paquin, 1999; Guamis López & Escriu Justo, 2010).

Tabla 2.7. Sistemas de homogenización a ultra y alta presiones a escala piloto y semi-industrial (modelo, caudal, válvulas y su presión máxima de trabajo).

Corporación	Modelo	Presión (MPa)	Caudal (L/h)
Microfluidics (EEUU)	Microfluidizer M-7250	275	816
BEE International (EEUU)	DeBEE 2000P-250/45	310	1500
Avestin (Canadá)	EmulsiFlex-C1000	207	1000
Gea Niro Soavi (Italia)	Ariete NS5355	150	60000
APV (Reino Unido)	Rannie 75	150	8009
Stansted Fluid Power (Reino Unido)	SPF-nG11300	400	240
Ypsicon (España)	UHPH-A1	350	159

2.1.6.4 El sistema de homogenización de ultra alta presión

El homogeneizador de ultra alta presión utilizado en esta tesis fue de la empresa Stansted (Stansted Fluid Power, Ltd; Reino Unido). Concretamente, se utilizó el modelo de escala de laboratorio o sobremesa FPG12500, que constaba de dos intensificadores, accionados por una bomba hidráulica y una válvula de alta presión de cerámica capaz de soportar presiones de 400 MPa a caudales de 15 L/ h. Como características importantes a señalar es que el diseño de la válvula Stansted posee una geometría distinta a las de los homogeneizadores convencionales (Figura 2.8), lo que hace que la dirección del flujo a través de la válvula se invierta. Además, el espacio de homogenización es más estrecho, 2-5 μm , respecto a los 10-30 μm del diseño clásico de APV-Gaulin. En el proceso, el fluido fluye a alta velocidad a través del estrecho espacio existente entre el pistón y el asiento de la válvula, llegando en función del equipo, a presiones de hasta 600 MPa (Floury et al., 2004a).

Los ensayos de esta tesis se realizaron mediante un sistema y procedimiento en continuo de esterilización y estabilización física de fluidos bombeados mediante homogeneización a ultra alta presión (Figura 2.9), diseñado y patentado (patente N° PCT/EP2011/003572) (Guamis et al., 2012), por el grupo de investigadores de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).

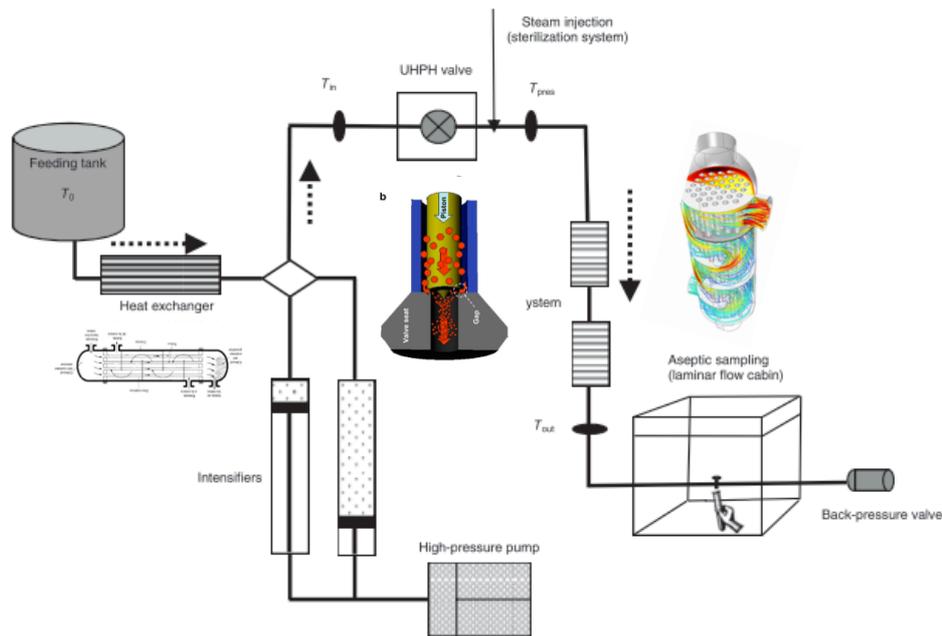


Figure 1. Schematic representation of UHPH system used in experiments.

Figura 2.8. Sistema UHPH (Guamis et al., 2012). Modelo esquemático del funcionamiento a escala piloto (Ferragut et al., 2015).

Dicho sistema consta de un tanque de recepción del producto, conectado a un intercambiador de calor tubular (Garvía, SA, Barcelona, España) con el propósito de ajustar la temperatura de entrada del producto a la válvula. Además, dispone de dos intensificadores propulsados por una bomba de alta presión que actúan de manera sincronizada bombeando el producto a un flujo constante hasta la válvula de homogenización. Tras el paso por esta, se conecta a un segundo intercambiador de calor tubular (Garvía, SA, Barcelona, España) que permite reducir de una forma rápida la temperatura del fluido saliente. Para minimizar la posible contaminación microbiana después del tratamiento aplicado, se adaptó una cabina de flujo laminar (instalación adaptada de Mini-V, Telstar Technologies, SL, Terrassa, España). Antes y después de cada proceso, todo el sistema puede esterilizarse en un circuito cerrado a contrapresión con vapor de agua a 140-150 °C durante 45-60 min. Las variables temperatura y presión se monitorizan mediante sondas, posicionadas a la entrada y salida del producto del equipo, así como también antes y después de la válvula de homogenización.

2.1.7 Aplicación de procesos a (U)HPH

2.1.7.1 *Fenómenos asociados al tratamiento*

En los equipos de Gaulin utilizados en la producción de leche, habitualmente se emplea un caudal de 20.000 L/h y una presión 14 MPa, lo que significa que en la brecha o espacio de homogenización la velocidad del fluido aumenta de 4 a 6 m/s, a aproximadamente 120 m/s en casi 0,2 milisegundos, de forma que el proceso de homogenización se completa en menos de 50 microsegundos, antes de que el fluido salga del equipo (Dairy Engineering Company, 2010). Como consecuencia, se produce, a medida que el producto pasa de forma forzada a través de la brecha o espacio de homogenización, la ruptura de los glóbulos de grasa a tamaños cien veces menos que el diámetro real del orificio (Kleinig and Middelberg, 1998). Diferentes autores, con el objetivo de determinar y evaluar las fuerzas responsables de esta homogeneización, han realizado estudios para modelizar el patrón de flujo, de forma numérica y computacional, simulando la geometría de distintas válvulas como APV-Gaulin y Stansted fluid Power (Kleinig and Middelberg, 1997; Floury et al., 2004b), sin embargo, experimentalmente no se ha conseguido determinar del todo los fenómenos que ocurren en el interior de la válvula.

Si bien, no se ha clarificado el orden de aparición y la importancia de los fenómenos que tienen lugar en la válvula de homogenización, sí que se tiene constancia de que como resultado del fenómeno de esfuerzo cortante, que representa la fuerza por unidad de superficie requerida para mantener una velocidad constante de movimiento de un fluido, ocurren siguiendo la termodinámica de fluidos acciones como fricción, torsión, entre otros. Derivado de este efecto, se crea un estrés por cizalla que es la tensión que se desarrolla por la compresión de los fluidos a través de la pared del canal. Además, se producen fenómenos de turbulencia, con cambios de dirección repentinos y a alta velocidad que provocan la formación de pequeños e intensos remolinos turbulentos en el líquido base, que producen la ruptura de los glóbulos más grandes, reduciendo el tamaño promedio general de los glóbulos. También se dan fenómenos de cavitación, debido al aumento de la velocidad que se produce a la entrada de la válvula, para luego disminuir de forma repentina dicha velocidad y la presión en la apertura/orificio, lo que hace que el líquido base se evapore repentinamente, de forma que las burbujas de vapor al ingresar en el líquido incrementan la ruptura de los glóbulos de grasa. Diferentes autores hacen referencia a la combinación de estas fuerzas como responsables de los efectos asociados a esta tecnología, como la ruptura de la grasa, ruptura celular, cambios estructurales en los nutrientes,

entre otros (Kleinig and Middelberg, 1997; Thiebaud et al., 2003; Flourey et al., 2004a; b; Cruz et al., 2007; Pereda et al., 2007; Ferragut et al., 2015).

En este proceso va asociado un aumento en la temperatura del producto como consecuencia de la energía cinética generada en el desplazamiento del fluido que tiende a disiparse por la fricción o rozamiento entre las moléculas, y que se transforma en energía calórica, produciéndose lo que se denomina calentamiento adiabático (Gencel, 2012). Diferentes autores, como Dumay et al.(2013), Dong et al. (2016) y Sevenich y Mathys (2018), reseñan que la compresión creada por el intensificador al incrementar la presión genera un calentamiento adiabático, que es capaz de producir un aumento de 2-3 °C por cada 100 MPa. Cuando se fuerza al fluido a pasar a través de la válvula, su velocidad aumenta debido a la reducción del tamaño de la tubería que se acompaña por la caída de presión, de forma que las fuerzas que actúan en el momento y la conversión parcial de energía mecánica en calor provocan que la temperatura aumente linealmente con la presión de homogeneización en 14-18 °C por cada 100 MPa. Por lo cual, justo a salida de la válvula se observa un incremento total de la temperatura de 17-21 °C por 100 MPa (Dumay et al., 2013). Este incremento, también ha sido observado por diferentes autores como parte del proceso UHPH aplicados en diferentes matrices alimenticias, generándose un aumento de la temperatura del fluido en su tránsito por la válvula de homogeneización de en torno a los 20 °C/100 MPa (Pereda et al., 2007; Poliseli-Scopel et al., 2012; Amador-Espejo et al., 2014; Ferragut et al., 2015), causado como se comentó anteriormente pelo calentamiento adiabático generado en la máquina y por los fenómenos de turbulencia, cizalla y cavitación que sufre el fluido en la válvula de homogeneización (Middelberg, 1995; Hayes and Kelly, 2003; Thiebaud et al., 2003; Donsi et al., 2009). Sin embargo, si se compara con los tratamientos térmicos convencionales (pasteurización y esterilización), dicho aumento se considera despreciable en cuanto a su efecto térmico en el producto, debido a que el tiempo de calentamiento es muy breve inferior < 0.7-1 s (Flourey et al., 2000; Picart et al., 2006). Además, este breve aumento de la temperatura parece tener un efecto positivo en la higienización del producto, especialmente cuando se aplican presiones ≥ 300 MPa cuando se pretende conseguir la esterilidad comercial del producto (Amador-Espejo et al., 2014; Poliseli-Scopel et al., 2014; Ferragut et al., 2015; Loira et al., 2018).

Muchas son las variables que pueden amplificar el efecto de los diversos fenómenos asociados a los tratamientos UHPH, como son el diseño de la válvula, la caída de presión, el contenido

de grasa, el uso de tensioactivos, la viscosidad, la temperatura entrada del producto y temperatura alcanzada en la válvula de homogenización (Middelberg, 1995; Tesch et al., 2003).

2.1.7.2 Aplicación en la industria: Ventajas

Los procesos (U)HPH han demostrado tener aspectos realmente aplicables a la producción de fluidos bombeables, como promover una mejora en la higienización y la prolongación de la vida útil de productos alimentarios (Floury et al., 2000; Diels and Michiels, 2006; Pereda et al., 2007; Dumay et al., 2013), con modificaciones en la estructura de las proteínas y reducciones en el tamaño de partícula que aumentan la estabilidad de producto (Amador-Espejo et al., 2014; Zamora and Guamis, 2015; Codina-Torrella et al., 2017). Además, puede tener una inmediata aplicación en el desarrollo de nuevos productos, con propiedades funcionales y bioactivos, asociada a su capacidad de formar partículas de tamaño micro y nanométrico en suspensión, con la posibilidad de que puedan ser micro y nano encapsulados (Fernandez-Avila & Trujillo, 2017; Guamis López & Escriu Justo, 2010; Hebishy, Buffa, Guamis, & Trujillo, 2013). Además, puede ser una alternativa a la adición de estabilizantes (Zamora and Guamis, 2015).

2.1.8 El efecto de los tratamientos (U)HPH

2.1.8.1 Efecto sobre los microorganismos

El potencial de la tecnología en reducción de la carga microbiana propia de los alimentos, así como de patógenos mediante estudios de *challenge test*, se ha demostrado en diferentes matrices alimenticias como la leche de vaca, licuado de soja y almendra, horchata de chufa, zumo de manzana, naranja, kiwi y mosto de uvas (Cruz et al., 2007; Pereda et al., 2007; Suárez-Jacobo et al., 2010; Poliseli-Scopel et al., 2012; Amador-Espejo et al., 2014; Ferragut et al., 2015; Codina-Torrella et al., 2018; Loira et al., 2018; Patrignani et al., 2019). El efecto obtenido es equivalente a los resultados deseables de una pasteurización convencional, consiguiendo incluso la prolongación de la vida útil. Además, cuando se aplican tratamientos a presiones ≥ 300 MPa y en combinación con determinadas temperaturas de entrada, se ha conseguido la esterilización de los productos, como se ha evidenciado en zumo de uva, licuados de soja y almendra y en leche de vaca (Amador-Espejo et al., 2014; Ferragut et al., 2015; Loira et al., 2018).

Son diferentes los factores que pueden favorecer esta inactivación microbiana, y se relacionan con las condiciones aplicadas en los tratamientos, como la adecuada combinación de presiones elevadas y temperaturas de entrada moderadas o elevadas (Thiebaud et al., 2003; Georget et al., 2014; Roig-Sagués et al., 2015), el aumento del número de pases (Thiebaud et al., 2003; Maresca et al., 2011), así como, la investigación del efecto sinérgico o de incremento de la efectividad de esta tecnología al combinarse con otras tecnologías (Donsì et al., 2009; Saucedo-Gálvez et al., 2019). Otro aspecto a considerar se relaciona con el tipo de microorganismos, determinándose que, por lo general, las bacterias Gram negativas son más sensibles que las Gram positivas (Diels and Michiels, 2006; Briñez et al., 2007; Georget et al., 2014; Velázquez-Estrada et al., 2020; Zhang et al., 2021). Respecto al producto, la composición del alimento puede afectar a la inactivación microbiana, aumentando su eficacia, por ejemplo, cuando se incrementa el contenido de grasa láctea al 10% (Roig-Sagués et al., 2009; Dong et al., 2016), siendo también un factor a considerar las propiedades reológicas, como la viscosidad, que parece tener un cierto efecto protector (Diels et al., 2005).

2.1.8.2 Efecto sobre los nutrientes y las propiedades fisicoquímicas

a) Proteínas

En el caso de las proteínas el efecto más destacable es la desnaturalización proteica, siendo los factores que lo favorecen los fenómenos físicos producidos en la válvula de homogenización (cavitación, cizalla, turbulencia, entre otros) y el aumento de la presión de homogenización (Desrumaux and Marcand, 2002; Flourey et al., 2002; Roesch and Corredig, 2003; Sandra and Dagleish, 2005; Bouaouina et al., 2006; Serra et al., 2009; Poliseli-Scopel et al., 2012)

En los diferentes estudios realizados en distintas matrices alimentarios se ha determinado que se producen cambios en la conformación de proteínas de suero de leche (Desrumaux and Marcand, 2002), la reducción del tamaño de las micelas de caseína en la leche (Kheadr et al., 2002), cambios en estructura macromolecular e interacciones de las proteínas de soja (Flourey et al., 2002), y de las proteínas de la leche (Serra et al., 2009). Como consecuencia, en los productos en los que se utilizaron como ingrediente, como en el queso y yogurt, se observó una mejora de las propiedades funcionales de las emulsiones, así como de la textura. La desnaturalización proteica producida se considerada en muchos casos positiva, ya que se favorece la interacción entre proteínas y lípidos.

En el estudio realizado por Bouaouina et al. (2006) en suero de leche tratado a presiones de 50 a 300 MPa, observaron que se conseguía la disociación de los agregados de proteína sérica, desenmascarando los grupos hidrófobos de forma que no se veía afectada su solubilidad. Cuando se encuentran en un interfaz de aceite-agua estos grupos se adsorben a la superficie de las gotas de grasa del producto de forma que se disminuyen o evitan los fenómenos de coalescencia mejorando la visco-elasticidad y estabilidad de los productos (Roesch and Corredig, 2003; Bouaouina et al., 2006; Poliseli-Scopel et al., 2012; Codina-Torrella et al., 2017).

b) Lípidos

En el caso de los lípidos, entre los principales efectos a destacar se relacionan con el tamaño de las partículas, y por lo tanto en la estabilidad física de las emulsiones, siendo los factores que favorecen la reducción del tamaño de partícula, la temperatura de entrada, la presión empleadas, el tipo de válvulas de homogeneización utilizadas y los fenómenos físicos producidos (Floury et al., 2000; Hayes et al., 2005; Pereda et al., 2007; Zamora and Guamis, 2015). En las partículas, la forma, diámetro y la conformación de la superficie expuesta, y la interacción entre ellas, determinan las características reológicas, estructurales, sensoriales, ópticas y incluso oxidativas en el alimento procesado (Schubert and Engel, 2004).

Si bien con la homogenización convencional se consigue la reducción del tamaño de las partículas de grasa en la leche, lo que conduce a una estabilización del producto (Paquin, 1999), en el caso de los tratamientos UHPH aplicados actualmente se obtienen reducciones del tamaño de los glóbulos de grasa mayores y a la vez una menor cantidad de agregados de partículas en suspensión, con lo cual, se mejora la dispersión y distribución de las partículas del producto, siendo las emulsiones físicamente mucho más estables en distintos productos, como la leche, horchata de chufa y licuado de soja (Poliseli-Scopel et al., 2012; Amador-Espejo et al., 2014; Codina-Torrella et al., 2017). Sin embargo, en estudios realizados en leche y licuados de soja, se ha descrito que cuando se aplican presiones superiores a los 300 MPa, hay una cierta tendencia a que se formen agregados, independientemente de la temperatura de entrada, pudiendo existir un límite crítico máximo de reducción del tamaño de partícula que al sobrepasarse puede favorecer un cierto incremento de tamaño globular (Amador-Espejo et al., 2014; Ferragut et al., 2015).

El hecho de que las emulsiones sean estables es de relevancia para preservar las propiedades nutricionales de los productos, así como la prolongación de su vida útil. Un patrón

característico asociado a la inestabilidad de las emulsiones agua/aceite, que además contienen otros componentes como las proteínas y los carbohidratos (sistema coloidal), es que inicialmente se produce la separación de glóbulos de grasa que se agregan, formando partículas de mayor tamaño de baja densidad que fácilmente migran hacia la superficie, produciendo el fenómeno denominado cremado. Posteriormente, debido al desequilibrio de fuerzas en el medio de las partículas de más densidad, como las proteínas, migran al fondo produciéndose el fenómeno de sedimentación. La tendencia hacia la agrupación espontánea de los coloides puede ser explicada por el mayor efecto de las fuerzas de atracción (Van der Waals) que las de repulsión. Por ello, en ocasiones, es necesario la adición de tensioactivos de moléculas que en la interfaz del aceite y agua facilita que se produzca la estabilidad termodinámica (Floury et al., 2000). La velocidad en que ocurren los cambios que llevan a la formación de agregados (por floculación o coalescencia) dependerá de la composición de la matriz alimenticia, concretamente de la proporción de agua/aceite y la presencia o no de tensioactivos.

En cuanto el efecto de la tecnología en el perfil de ácidos grasos, Rodríguez-Alcalá et al., (2009) observaron que la aplicación de tratamientos entre 50 y 350 MPa en leche de rumiantes (vaca, oveja y cabra), no afectó significativamente ni al contenido de ácidos grasos, ni al perfil de isómeros de ácido linoleico conjugado. Por otra parte, en licuados de soja y almendra tratados a 200 MPa, 55 °C y 300 MPa, 75 °C, tampoco se encontraron diferencias en el perfil de los ácidos grasos saturados totales (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) (Ferragut et al., 2015).

En cuanto a la hidrólisis y oxidación lipídica son diversos los efectos en función de la matriz y del tratamiento UHPH aplicado. En el caso de la leche tratada a 200 y 300 MPa, se observó que la cantidad de caseína presente tenía un efecto protector de la oxidación, que fue más limitante en las muestras tratadas a 300 MPa, que a 200 MPa, las cuales tuvieron más lipólisis, causado principalmente por inactivación solo parcial de la lipooxigenasa (Pereda et al., 2008). En los licuados de soja, cuando se aplicaron tratamientos UHPH con el objetivo esterilización, por lo tanto, presiones de 300 MPa y altas temperaturas de entrada (75 °C), se favoreció la formación de compuestos indicadores de la reacción primaria, hidroperóxidos, en el primer día de almacenaje del producto envasado asépticamente. Sin embargo, disminuyeron de una forma significativa durante su conservación durante 180 días, en comparación a los resultados obtenidos en los licuados de soja tratados por UHT. Tras el tratamiento inicial, la gran disrupción inicial de los glóbulos de grasa, que aumentó el número de gotas en dispersión, provocó que hubiera una mayor exposición de las superficies de las gotas de aceite, lo que

favoreció el ataque oxidativo. Durante el almacenamiento la mayor interacción entre las proteínas y los lípidos, tuvo un efecto protector en cuanto a la formación de nuevos radicales de hidroperóxidos (Poliseli-Scopel et al., 2014). En el caso de la horchata de chufa, en los que se aplicaron tratamientos a UHPH de 200 y 300 MPa, también se observó que se favorecía cierta estabilidad oxidativa debido a la formación de una fina capa de proteínas alrededor de las gotas de grasa que actuarían como una barrera entre la grasa y las sustancias reactivas oxidantes del medio (Codina-Torrella et al., 2017).

c) Antioxidantes

En los diferentes estudios realizados, sobre todo en zumos y extractos de frutas y diversos vegetales, se ha determinado que determinados tratamientos UHPH conservaron, incluso incrementaron, los compuestos bioactivos y la actividad antioxidante en relación al producto en crudo, y desde luego, respecto a su homólogo tratado mediante pasteurización térmica (Suárez-Jacobo et al., 2011; Velázquez-Estrada et al., 2013; Toro-Funes et al., 2014).

d) Interacción y formación de nuevos compuestos

Por efecto del tratamiento UHPH, se ha determinado que se forman cambios en los fluoróforos nativos de los alimentos. En el caso de la leche y productos lácteos se observó que cuando son tratados mediante (U)HPH entre 100 y 300MPa con temperaturas de entrada entre 23 a 83 °C, se producían compuestos de Maillard indicadores de los efectos térmicos entre los azúcares reductores y los aminoácidos de la leche, así como fluorescencia derivada del triptófano y la di-tirosina que son indicadores de cambios en las proteínas (estructurales, desnaturalización, agregación). Estos procesos fueron más relevantes cuando se aplicaron temperaturas superiores a 50 °C, independientemente de la presión aplicada (Liu et al., 2018a; b).

2.1.8.3 Efecto sobre los atributos de calidad del producto

Los cambios reológicos y en color, son dos de los atributos de mayor relevancia en cuanto al efecto de los tratamientos UHPH. Con relación a las características reológicas, si bien se producen ciertos cambios en los productos tratados por UHPH frente al control, en la mayoría de casos no solo no son percibidos como negativos, sino que favorece la buena aceptación del producto (Kheadr et al., 2002; Poliseli-Scopel et al., 2013; Codina-Torrella et al., 2018). También en el color, a nivel instrumental, se aprecia una cierta opacidad del producto tratado por UHPH, asociados a la reducción del tamaño de partículas, y, por lo tanto, al aumento el

número de partículas en suspensión o distribuidas en la fase continua, aumentando probablemente la interacción de la luz incidente con las partículas formadas (Cruz et al., 2007; Poliseli-Scopel et al., 2013; Codina-Torrella et al., 2018; Patrignani et al., 2019).

2.1.8.4 Interés de la aplicación de la tecnología UHPH en la producción de caldo de pescado

En el medio acuoso de los caldos coexisten partículas de diferente naturaleza procedentes del pescado (lípidos, proteínas, enzimas, colágeno, entre otros) y del resto de ingredientes empleados en la elaboración (aceite, vegetales y especias). Los componentes del pescado favorecen que se produzca rápidamente modificaciones nutricionales, una alta inestabilidad enzimática y física, y el rápido crecimiento de microorganismos, por lo que a nivel industrial es frecuente que se incorporen componentes naturales o artificiales, que permitan enmascarar el sabor y aroma causado por los ingredientes utilizados, sobre todo si hay vísceras, que causan rechazo en el consumidor. En los procesos actuales, aplicados tanto por pequeñas o grandes empresas, si bien garantizan la higienización del producto, el producto presenta cierta desestabilización física, siendo común encontrar en la etiqueta como sugerencia de consumo la expresión “*se recomienda agitar antes de consumir*”. Los procesos UHPH aplicado a la elaboración de caldo de pescado, podría permitir obtener productos seguros y estables microbiológica y físicamente, preservando sus características organolépticas.

CAPÍTULO 3

MATERIAL Y MÉTODOS

3 MATERIAL Y MÉTODOS

Capítulo 3. Material y Métodos

3.1 Recepción de la materia prima

Los productos de la pesca para la elaboración del caldo de pescado se adquirieron en la empresa Pescados Videla, S.A. (El Prat de Llobregat, Barcelona, España). Los productos se suministraron congelados en cajas de 6 kg, manteniéndose a -18 °C hasta su uso en los congeladores de la Planta de Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB). Los productos suministrados fueron: a) cabezas de rape (*Lophius spp*) capturado en la zona FAO Atlántico Noreste; b) trozos de merluza cortados en cubos (*Merluccius spp*) capturado en el mar Mediterráneo y c) pescado de roca para sopa constituido por peces pelágicos de diferentes tamaños, también capturados en el mar Mediterráneo, como el rubio (*Chelidonichthys spp*, y/o *Trigloporus lastoviza*, *Trigla lyra*), araña (*Trachinus spp*), congrio (*Conger conger*), pelaya (*Citharus linguatula*), gallineta (*Scorpaena spp*), salmonete (*Mullus spp*), cangrejo (*Pachygrapsus marmoratus*, *Panapeus africanus* y/o *Xantho spp*) y cigalas (*Nephrops norvegicus*), los términos científicos nombrados se consultaron en la base de datos terminológicos y de identificación de especies pesqueras de las costas de Andalucía (Arias-García et al., 2019). Los aderezos, especias y verduras, como la sal marina (Sal costa S.U.L, Barcelona), aceite de girasol (Borgesol, Borges Branded Foods S.U.L., Lleida), pimienta en grano (Alcampo, S.A.), orégano seco (Alcampo S.A.), cebolla, zanahoria, puerro, apio, perejil y limón se adquirieron en la cadena del grupo Auchan Retail (Alcampo, S.A., Sabadell, España). La compra de los productos vegetales se realizó el día anterior a la producción del caldo de pescado.

3.2 Elaboración del caldo de pescado

3.2.1 Producción de un caldo base

Se elaboró un caldo base con cabezas de rape (caldo 1) según la receta descrita por *Corpus del Patrimoni Culinari Català* (Institut Català de la cuina, 2016), sobre elaboración tradicional de caldo de pescado en Tossa de Mar (Girona). Las cantidades e ingredientes utilizados se muestran en la Tabla 3.1 (etapa-1, caldo 1). Para su producción, el pescado se puso a hervir en agua descalcificada junto al aceite de girasol, sal y limón. En los primeros 5 minutos se incorporaron las verduras (lavadas, peladas y troceadas) como la cebolla, zanahoria, puerro y apio. Sucesivamente, se agregaron las cabezas de rape (previamente descongeladas en el

frigorífico durante la noche en aproximadamente 16-18 h). Cuando se alcanzó la temperatura de ebullición (~ 100 °C), se mantuvo en cocción por un periodo de 30 min, eliminándose de forma continua toda la espuma formada durante su desarrollo. En los últimos 5 min de cocción se incorporó el perejil, orégano y la pimienta en grano. Al finalizar el proceso, con una espátula se retiraron los componentes de mayor tamaño, y los de menor grosor se separaron mediante filtración en un tamiz vibratorio de acero inoxidable de luz de malla de 100 μm (Figura 3.1).

Tabla 3.1. Formulaciones de caldo de pescado: ingredientes y cantidad.

Ingredientes	Cantidad (g) de ingredientes												
	Etapa-1			Etapa-2				Etapa-3			Etapa-4		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Sal	10	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
Aceite	24	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Rape	750	750	750	750	750	750	750	750	375	375	250	300	225
Roca	0	0	0	0	0	0	0	0	0	375	250	300	225
Merluza	0	0	0	0	0	0	0	0	375	0	250	0	0
Cebolla	30	40	55	80,3	30	30	30	55	55	55	55	55	55
Zanahoria	25	49	60	64,5	25	25	25	60	60	60	60	60	60
Puerro	15	13	15,8	15,5	15	15	15	15,8	15,8	15,8	15,8	15,8	15,8
Limón	10	8	9	8,1	10	10	10	9	9	9	9	9	9
Apio	7	7	10	7	7	7	7	10	10	10	10	10	10
Perejil	5	5	6,2	5	5	5	5	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2
Orégano	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pimienta	2	2	2	2	0,9	1,3	1,4	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3



Figura 3.1. Esquema de producción del caldo base: (a) ebullición de 1 L de agua, (b) cantidad total - 92 g, (c) 750 g de cabezas de rape, (d) Aderezos: cantidad total - 2,3 g, (f) tiempo transcurrido 35 min, (g) separación de los trozos de pescado y verduras, (h) Filtración y recogida del caldo en vasos de precipitados estériles de 2,5 L de capacidad, (i) conservación en botellas estériles de 500 mL.

3.2.2 Optimización de la cantidad de vegetales y especias

Siguiendo el procedimiento descrito en la preparación del caldo base (caldo 1), con la finalidad de mejorar sus propiedades gustativas, se ensayaron 6 nuevas formulaciones, variando la cantidad de vegetales y especias (Figura 3.2). En las primeras tres formulaciones de caldos 2,3 y 4 (etapa-2) se incrementó gradualmente la cantidad total de vegetales, y en las últimas tres (caldos 5, 6 y 7, etapa-2) se redujo gradualmente el contenido de especias. Las cantidades e ingredientes utilizados en las diferentes etapas de optimización del caldo de pescado se muestran en la Tabla 3.1.

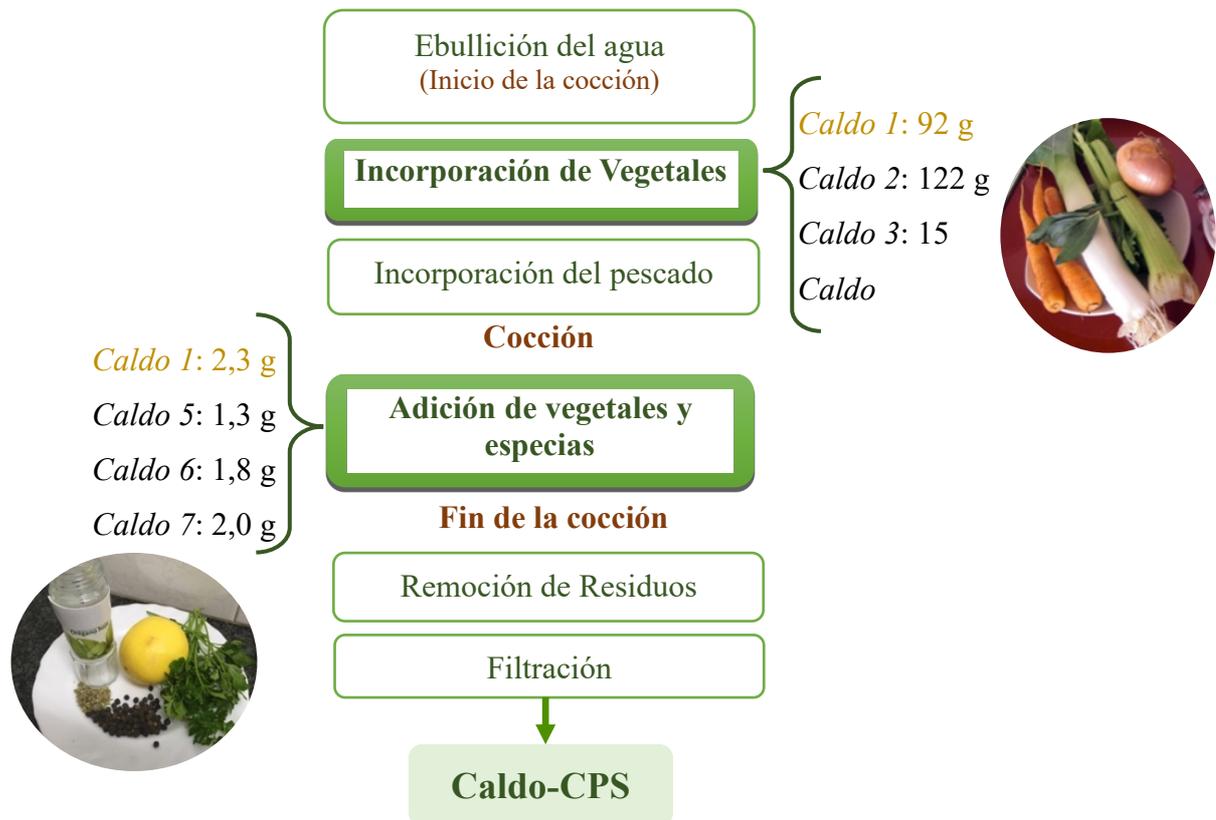


Figura 3.2. Diagrama de optimización del caldo de pescado con ajuste de la cantidad de vegetales y especias.

3.2.3 Optimización del caldo en función del tipo de pescado

Con la finalidad, de aumentar el sabor y olor a pescado se incorporaron nuevas especies de pescado, siempre considerando que se debían utilizar productos de la pesca de bajo coste económico. Teniendo como base la formula seleccionada en el apartado anterior, constituida por 156 g de vegetales y 1,8 g de especias, se ensayaron 4 nuevas formulaciones de caldo 8, 9, 10 y 11 (Tabla 3.1). Compuestas por: a) solo cabezas de rape; b) cabeza de rape y trozos de

merluza en una relación 1:1; c) cabeza de rape y surtidos de pescado para sopa/pescado de roca (peces pelágicos de pequeño tamaño, cangrejos y cigalas) en una relación de 1:1 y d) cabeza de rape, trozos de merluza y pescado de roca en una relación 1:1:1, respectivamente (Figura 3.3).

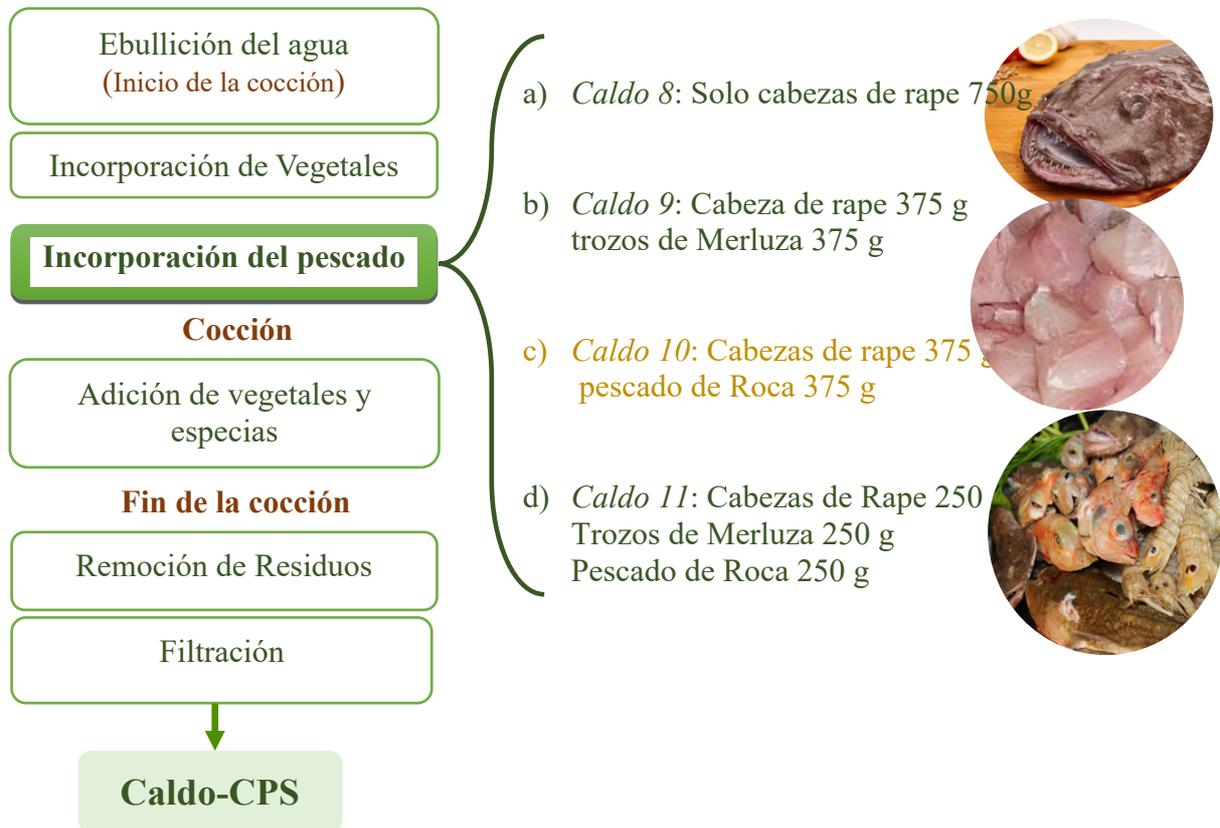


Figura 3.3. Optimización del caldo de pescado: uso de subproductos de la pesca para la intensificación del gusto.

3.2.4 Optimización y estandarización en función de la cantidad de pescado en el caldo

3.2.4.1 *Caldos seleccionados para su posterior tratamiento UHPH y/o UHT*

1) *Producción de un caldo con características similares al comercial.* A partir, de la fórmula del caldo 10, seleccionado en el apartado anterior en el que se utilizaba 750 g de pescado, el objetivo fue obtener un caldo con un menor coste. Para ello, se redujo la cantidad de pescado a 600 y 450 g. manteniendo una relación de 1:1 entre el pescado rape y roca en el caldo 11 y 12, respectivamente (Tabla 3.1).

2) *Producción de un caldo con mayor contenido proteico.* Tras determinar que el contenido proteico del caldo estándar (CPS) fue de un 1,11 % de proteína, se planteó la producción

de un caldo enriquecido con proteína (CPSP). Para obtención de un concentrado proteico que luego se incorporarían a la formulación estandarizada CPS, se evaluaron tres procesos (Figura 3.4, 3.5 y 3.6).

Proceso 1: La preparación del concentrado proteico según el método de Vidal-campello et al. (2021) con algunas modificaciones. A 100 g de secciones musculares de merluza (*Merluccius spp*) se le adicionó agua descalcificada en una proporción de (1:3). Se coció a 90 °C durante 15 min. La porción acuosa se descartó y las fibras musculares se separaron manualmente y se prensaron en un mortero. De forma inmediata, se deshidrató en un horno de circulación de aire forzado (Modelo: S400, Sveba-Dahlen, Fristad, Suecia) a 65 °C durante 3 h. Posteriormente, se trituroó, hasta obtener un producto pulverulento (Figura 3.4).



Figura 3.4. Imágenes del método 1 de elaboración del concentrado proteico de pescado.

Proceso 2: Tras la cocción de las secciones musculares de rape y merluza a temperaturas de 90 °C durante 15 min, se realizó la trituración del contenido total mediante Ultraturax (modelo: Heidolph DiAx900, 8000-2400 1/min, Alemania). Posteriormente, se filtró en un tamiz de 50 µm, y se deshidrató en el horno de circulación de aire forzado a 80 °C durante 10 h (Figura 3.4b).



Figura 3.5. Imágenes del método 2 de elaboración del concentrado proteico de pescado.

Proceso 3: Tras la cocción del pescado de roca se realizó la molturación con un homogeneizador electromecánico (Krupps/KB720, Barcelona, España), durante 5 min. Posteriormente se realizó una doble filtración usando un tamiz vibratorio de acero inoxidable de luz de malla de 100 µm (modelo FT-300, CISA, Barcelona, España) (Figura 3.6).



Figura 3.6. Imágenes del método 3 de elaboración del concentrado proteico de pescado.

3.3 Tratamientos (UHT y UHPH) y conservación del caldo

Con el objetivo de preservar o mejorar las calidad microbiológica, sensorial y nutricional del caldo de pescado, además de comparar dos tecnologías, se aplicaron tratamientos de conservación convencionales a ultra alta temperaturas (UHT, en sus siglas inglesas) y mediante la tecnología emergente de homogenización a ultra alta presión de (UHPH, en sus siglas inglesas).

Para los tratamientos UHT las muestras de caldo de pescado estándar (CPS) se acondicionaron a la temperatura de entrada de 65 °C, se homogeneizaron a 18 y 4 MPa en un homogeneizador de dos etapas con ajuste de presión hidráulica Tetra Alex® S05 (Tetra Pak, Lund, Suecia), y el tratamiento térmico se realizó en un equipo de sistema indirecto Flex UHT tubular Tetra Therm® Pilot (Tetra Pak, Lund, Suecia) a 142 °C durante 6 s, para posteriormente ser enfriada a 25 °C.

Los tratamientos UHPH, se realizaron en un equipo (Stansted Benchtop Homogenizer G12500 Stansted Fluid Power Ltd., Reino Unido), dotado de dos intensificadores impulsados por una bomba hidráulica y una válvula de cerámica con capacidad de soportar presiones de trabajo de hasta 400 MPa a caudales de 15 L/ h. Previo a realización de los tratamientos todo el circuito fue esterilizado a contrapresión con vapor a 150 °C durante 1 h. Al inicio se vertió el caldo de pescado en un tanque de alimentación conectado a un intercambiador de calor (Garvía, SA, Barcelona, España), apto para realizar un rápido precalentamiento del producto a las temperaturas de entrada elegidas de 45, 55, 65, 75 y 85 °C. Posteriormente, se trató a 300 MPa en su paso por la válvula de homogenización a alta presión, tras la cual, y de forma inmediata circuló a través de un segundo intercambiador de calor con la función de conseguir su enfriamiento instantáneo, recogiéndose a 25 °C. Para el muestreo aséptico, a la salida del equipo se acondicionó en una cabina de flujo laminar (adaptado de Mini-V, Telstar

Technologies, SL, Terrassa, España). Al finalizar el proceso, el equipo se limpió y desinfectó siguiendo un protocolo establecido. Para el control del proceso, se monitorizó la temperatura de entrada en el depósito/tanque de alimentación (T_0), la temperatura antes de la válvula de alta presión (T_1); la temperatura después de la válvula de alta presión (T_2) y la temperatura de salida del equipo del producto (T_3)

Aplicación de tratamientos UHPH y UHT en los estudios (Figura 3.7):

- a) *Efecto de la aplicación de la UHPH a temperaturas de entrada entre 45 y 75 °C (Capítulo 5)*, se aplicaron diferentes temperaturas de entrada ($T_0 = 45, 55, 65$ y 75 °C), 300 MP y una temperatura de salida de $T_3 = 25$ °C. Las muestras de caldo de pescado estándar (CPS) se conservaron a temperaturas de refrigeración de 4 y 8 °C, y a temperatura ambiente (20-25 °C) durante 20 días.
- b) *Evaluación del efecto de tratamientos UHPH en comparación a los de UHT (Capítulo 6)*, las muestras de caldo estándar CPS se trataron por UHPH ($T_0 = 75$ y 85 °C, 300 MPa, $T_3 = 25$ °C), y por UHT (142 °C, 6 s).
- c) *En el estudio de la vida útil de los caldos tratados por UHPH con interés en la esterilización comercial (Capítulo 6)*, se aplicaron temperaturas de entrada de $T_0 = 75$ y 85 °C en caldo estándar (CSP), y $T_0 = 85$ °C a muestras de caldo con mayor contenido en proteína (CPSP), con tratamiento a 300 MPa y temperatura de salida $T_3 = 25$ °C. Todas las muestras se conservaron a 20-25 °C durante 135 días.

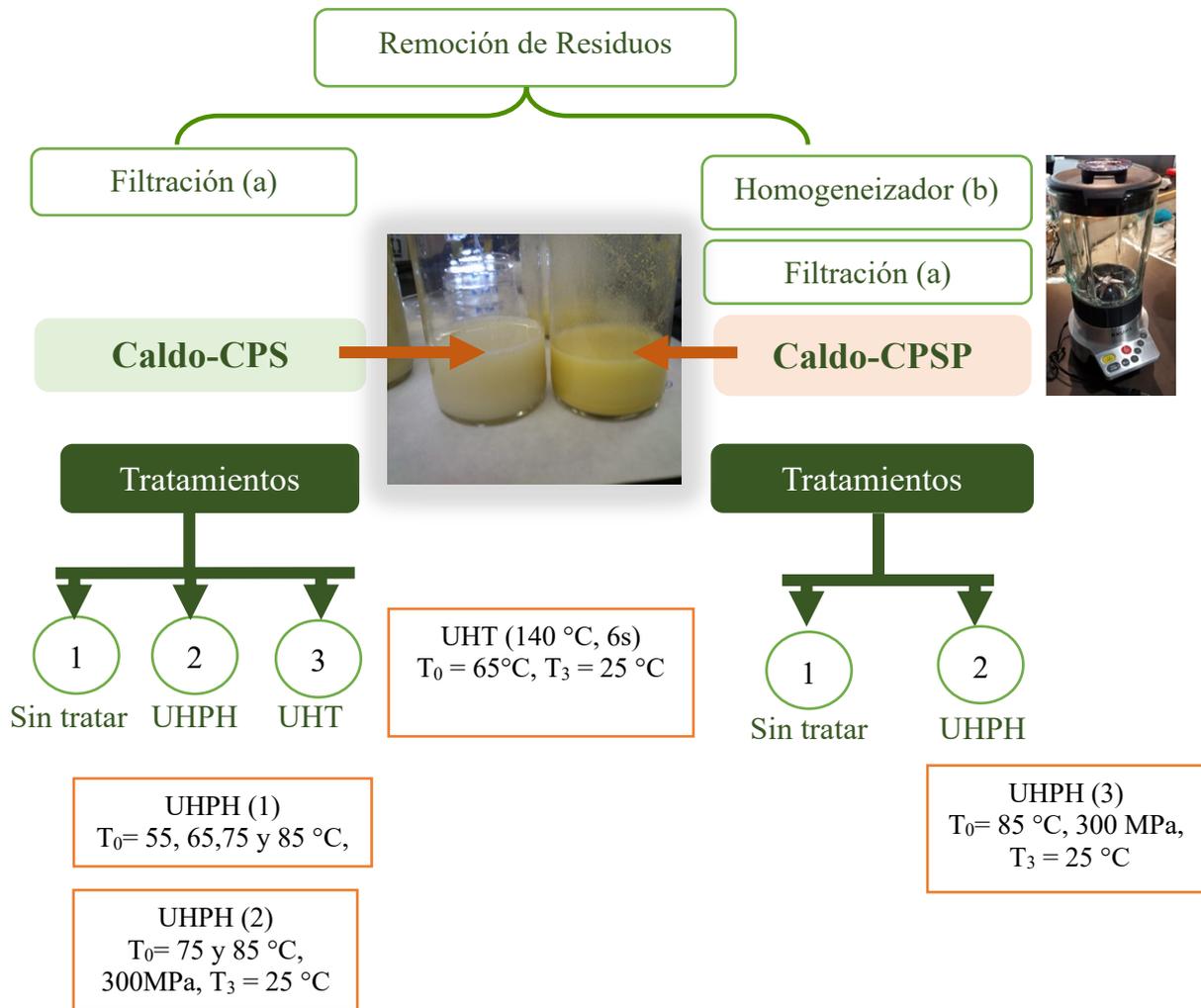


Figura 3.7. Tratamientos UHPH y UHT aplicados al caldo de pescado.

3.4 Análisis sensorial

Selección del panel catadores: El número de jueces o catadores seleccionados dependió del método de análisis sensorial aplicado. Entre el personal del Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Barcelona, se seleccionaron aquellos jueces que poseían experiencia en la evaluación de diferentes productos alimenticios en un intervalo de edad comprendida entre los 23 a 65 años.

Condiciones generales de las pruebas: los caldos producidos el mismo día de la cata se sirvieron a una temperatura de 65 °C, en un vaso traslúcido de 100 mL de capacidad, entre las 11 y 13 h, junto a las instrucciones para su evaluación

3.4.1.1 Establecimiento del perfil olfato-gustativo UNE-EN-ISO 87017: 1992

Para determinar las particularidades sensoriales del caldo base (caldo 1) se aplicó la norma UNE-EN-ISO 6564:1985 (AENOR, 2010a), con criterios que permiten describir y evaluar las propiedades olfativo-gustativas de un producto de forma reproducible.

Muestreo y técnica de la prueba: Un jurado constituido por 7 catadores recibieron instrucciones para la identificación de 4 parámetros relacionados con la percepción y definición de las cualidades olfativo-gustativas: 1) el grado de intensidad de los componentes presentes; 2) el regusto en el que se trata de apreciar las notas posibles de encontrar, después de que la muestra haya desaparecido de la boca, 3) la persistencia, es decir, la cuantificación de la duración de la percepción de estas notas, y 4) la impresión general, es decir, el procedimiento que permite la descripción del grado de armonía con el que se percibe el conjunto. Los tres primeros parámetros se evaluaron en una escala de intensidad de 0 a 5 y el cuarto parámetro en una escala de 3 puntos.

Condiciones del ensayo: Para su evaluación se utilizaron métodos independientes en los que se analiza las respuestas individuales de los participantes, sin necesidad de un acuerdo del equipo, aplicando el método estadístico de análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa SPSS versión 23 (IBM SPSS Statistics; IBM Corporation, Armonk, NY, EE. UU.). En todos los análisis, los valores de $p < 0.05$ se consideraron significativos.

3.4.1.2 Prueba triangular por diferencias (UNE-EN-ISO 4120:2008)

La norma UNE-EN-ISO 4120:2008, equivalente a la norma internacional ISO 4120:2004, permite la evaluación sensorial de dos productos bastante homogéneos (AENOR, 2010b). En este estudio, se aplicó para comprobar si existían diferencias sensoriales perceptibles entre los caldos CPS sin tratar (control) y el tratado con UHPH ($T_0=75$ °C, 300 MPa, $T_3=25$ °C). Con este método es posible determinar la dirección (qué atributos son relevantes) y su intensidad, con el apoyo del perfil-olfato gustativo.

Muestreo y técnica de la prueba: Un jurado constituido por 10 catadores evaluaron una de las siguientes triadas de muestras presentadas en las siguientes secuencias: ABB, BAA, AAB,

BBA, ABA, BAB donde dos eran similares y una distinta. En las instrucciones se demandó que señalaran únicamente la muestra distinta. Las triadas se presentaron aleatoriamente en tres sesiones distintas a los mismos miembros del jurado, realizando un total de 30 evaluaciones.

Condiciones del ensayo: La sensibilidad de la prueba se definió con un nivel de significancia de $\alpha=0,05$, $\beta=0,05$ y un $p_d= 50\%$, siendo p_d el porcentaje de probabilidad de que los jueces puedan ser capaces de detectar diferencias entre las muestras. Se aceptó la hipótesis “de que existen diferencias” entre los caldos CPS, sin tratar (control) y el tratado con UHPH, en los casos donde el número de respuestas correctas necesarias era mayor o igual al valor crítico tabulado, obtenido en la Tabla A.1 (*Número mínimo de respuestas correctas necesarias para concluir que existen diferencias perceptibles, basado en una prueba triangular*) de la metodología en análisis UNE-EN ISO 4120:2008 (AENOR, 2010b).

3.4.1.3 Metodología de ordenación (UNE-EN-ISO 8587:2010)

La norma UNE-EN-ISO 8587:2010 (AENOR, 2010c), se basa en ensayos descriptivos o de preferencia hedónica, para ordenación de muestras recibidas de forma simultánea y aleatoria, en función de la intensidad de un atributo o de la impresión general.

Muestreo y técnica de la prueba: Este método se utilizó:

- a) *En la optimización de la cantidad de vegetales y especias:* 12 catadores recibieron de forma aleatoria cuatro muestras de caldos con cantidades distintas de componentes vegetales, en la primera evaluación, y otras cuatro muestras con cantidades de especias variadas, en la segunda evaluación. Se solicitó la ordenación de las muestras según la intensidad del carácter vegetal o especias.
- b) *En la optimización del caldo en función del tipo de pescado:* 12 catadores recibieron cinco muestras de caldo de pescado. Cuatro de ellas se elaboraron en la Planta Piloto de Tecnología de Alimentos UAB, y la quinta fue un caldo comercial que se seleccionó por su semejanza en la composición y la cantidad de los ingredientes. Se les pidió que ordenasen las muestras según la intensidad del grado de distinción del sabor a pescado.
- c) *En la optimización y estandarización del caldo en función de la cantidad de pescado:* 12 catadores recibieron tres muestras de caldo elaborados con 750, 600 y 450 g pescado de cabeza de rape y roca. La ordenación de las muestras se realizó en base a la impresión

global, considerando la descripción del grado de armonía con el cual se percibe el todo (Apariencia/Aroma/Sabor/Consistencia) en una escala de 3 puntos.

- d) *En el estudio comparativo de los tratamientos de UHPH y UHT:* 15 catadores recibieron tres muestras de caldo de pescado, 2 tratadas por UHPH: $T_0=75$ y 85 °C, 300 MPa, $T_3=25$ °C, y 1 tratada por UHT: 140 , 6 s.

Condiciones del ensayo: Se aplicó la prueba de Friedman (análisis de varianza para ordenaciones), en un diseño de bloque completo, en la cual los miembros del jurado evalúan la serie completa de muestras en un experimento, para detectar si hay diferencias entre al menos dos de los productos estudiados. La prueba permite determinar el grado de probabilidad de que los jueces puedan reconocer diferencias entre las muestras. Los parámetros del ensayo se definieron considerando, el j número de jueces necesarios para los ensayos descriptivos (12 a 15), p el número total de muestras ($p > 2$), el riesgo asumido $\alpha=0,05$ y R_i la suma de las respuestas individuales de los jueces para un producto i . Se aceptó la hipótesis “de que existen diferencias” entre las muestras en los casos donde el número de respuestas correctas del experimento ($F_{test} > F$) era superior al valor crítico tabulado obtenido en la Tabla.4 (*Valores críticos - F del test de PAGE (0,05 y 0,01)* de la norma en análisis UNE-EN-ISO 8587:2010.

$$F_{test} = \frac{12}{j \cdot p (p+1)} (R_1^2 + \dots + R_p^2) - 3j(p + 1)$$

Para identificar qué muestras eran significativamente diferentes a las demás, se procedió al cálculo de la Mínima Diferencia Significativa (MDS), para un riesgo asumido de $\alpha= 0,05$ en diseño de bloques completos. Se aceptó la existencia de diferencias significativas entre 2 muestras, en los casos donde los valores absolutos de la diferencia entre ellas fueran superiores al cálculo del MDS.

$$MDS = z \sqrt{\frac{j \cdot p (p+1)}{6}}$$

El desempeño de los jueces también se evaluó, usando el test de PAGE, determinando el valor L para la confirmación de una ordenación predeterminada de las muestras. Se aceptó el orden predeterminado de las muestras cuando L era superior al valor crítico tabulado obtenido en la Tabla.3 (*Valores críticos del test de PAGE para el caso del diseño en bloques completos*) de la norma UNE-EN-ISO 8587:2010, para un $\alpha=0,05$,

$$L = R_1 + 2R_2 + 3R_3 + \dots + p \cdot R_p$$

3.4.1.4 Análisis microbiológicos

Para realizar los análisis microbiológicos, se prepararon las diluciones decimales pertinentes, en agua de peptona tamponada (Oxoid, Basingstoke-Hampshire, Reino Unido). Los análisis microbiológicos que se realizaron fueron: recuento de microorganismos aerobios mesófilos en agar PCA (Plate Count Agar) (Oxoid) que se incubaron a 30 °C durante 48-72 h. En el caso de los anaerobios se incubaron a 30 °C en una jarra de anaerobiosis con una bolsa AnaeroGen™ (Oxoid). Para el recuento de esporas aerobias mesófilas, previamente a la siembra en PCA, la muestra se trató a 80 °C durante 10 min, y después se enfrió rápidamente en agua con hielo. Posteriormente, se sembró en agar PCA y se incubaron a 30 °C durante 48-72 h. El recuento de enterobacterias se realizó en Agar Bilis Rojo Violeta Glucosado (VRBG, Oxoid), que se incubaron durante 24 h a 37 °C. El límite de cuantificación fue de 1 UFC/mL.

Además, también se realizaron pruebas de esterilidad, incubando la muestra de caldo de pescado (100 mL) a 30 y 55 °C durante 21 días. En este período, se realizó su reconocimiento visual para apreciar si se producía separación de fases, gelificación y/o formación de coágulos, Además, al finalizar el tiempo, se realizó el recuento en agar PCA (Plate Count Agar) (Oxoid) incubando a 30 y 55 °C durante 48-72 h.

3.5 Caracterización física de los caldos

3.5.1.1 Color

La caracterización de la tonalidad de las formulaciones se efectuó usando un colorímetro Hunter Lab (MiniScan XETM, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, EEUU). Se dispuso 5 mL de las muestras en un vaso translucido diseñado por HunterLab's, que se selló con un ensamblaje constituido por un disco de acero inoxidable y una arandela de goma. El colorímetro se calibró con los estándares de blanco y negro, empleando el iluminante de D65 y un observador estándar de 10°. Se evaluaron las coordenadas L^* , a^* y b^* , dentro del espacio de color CIELab propuesto por la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), donde el valor L^* define la luminosidad y sus valores oscilan de 0/negro a 100/blanco, los demás ejes oscilan en dirección negativa o positiva sin límites numéricos específicos para a^* (verde-rojo) y b^* (azul-amarillo). Con los datos obtenidos se calculó:

- La diferencia de color total ΔE^* entre las muestras, donde, ΔL^* , Δa^* e Δb^* representan las diferencias existentes entre muestras en las coordenadas triestímulo (XYZ),

$$\Delta E * = \sqrt{\Delta L *^2 + \Delta a *^2 + \Delta b *^2}$$

3.5.1.2 *Determinación del tamaño de partícula*

Para la determinación del tamaño de partícula se utilizó un equipo Beckman Coulter (LS 13 320 series, Beckman Coulter, Fullerton, CA, EEUU), para generar una difracción láser capaz de establecer la distribución y el tamaño de las partículas en las formulaciones de caldo. Las muestras se diluyeron previamente con agua destilada, para conseguir el porcentaje de obscuración láser apropiado (2-7 %) en la celda de difracción. Se aplicó un modelo óptico basado en la “teoría Mie” para la dispersión de partículas esféricas, aplicando las siguientes propiedades: a) índice de refracción real del producto CPS=1,36 y CPSP=1,39 obtenido mediante un refractómetro (Spectronic Instruments, Inc. Rochester, New York, EE. UU); b) índice de refracción del fluido (agua) = 1,332; c) índice de refracción imaginario = 0 y d) velocidad de la bomba al 20%. La distribución del tamaño de partícula se caracterizó según los parámetros $d_{3,2}$ diámetro medio de las partículas con relación al área de superficie y $d_{4,3}$ diámetro medio de las partículas con relación al volumen, y el diámetro bajo el cual se encuentran el 50 y 90 % de las partículas del producto del producto el D_{50} y D_{90} , respectivamente.

3.5.1.3 *Estabilidad coloidal: TurbiscanTM*

Los fenómenos de dispersión que conducen a precipitación y/o crema de las formulaciones de caldo se determinaron utilizando el equipo TurbiscanTM Classic MA 2000 (Formulation, Toulouse, Francia). Las muestras se depositaron en una celda de vidrio cilíndrica de borosilicato (27,5 × 50,0 mm), realizando la lectura hasta una altura de aproximadamente 40 mm. Una luz en el infrarrojo cercano ($\lambda= 880\text{nm}$) es emitida por un diodo electroluminiscente a la celda de ensayo con la muestra, que es captada por dos sensores ópticos que captan la luz transmitida (detector de transmisión) y la luz refractada (detector de retrodispersión) por la muestra. La determinación, se centró en este último, habitualmente referido por su designación inglesa backscattering (ΔBS), para el monitoreo de las alteraciones ocasionadas por la variación del tamaño de partículas (fenómeno de floculación o coalescencia), apareciendo fenómenos de migración de partículas, variando la concentración inicial de partículas localizadas en el extremo inferior y/o superior de la celda de ensayo, denominadas sedimentación o cremado, respectivamente. La señal backscattering- ΔBS se analizó mediante el software TurbiSoft 2.0

(Formulation Toulouse, Francia), lo que permitió determinar el índice de estabilidad de las formulaciones (TSI).

3.6 Caracterización química de los caldos de pescado

3.6.1.1 *Composición fisicoquímica de los caldos de pescado*

Los métodos analíticos utilizados fueron los propuestos por la AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). Los sólidos totales se realizaron mediante la determinación gravimétrica por desecado de las muestras en horno a 105 °C (Método 952.08), las cenizas en un Mufla a 550 °C (Método 938.08), el contenido de proteínas mediante la determinación inicial del nitrógeno total existente en la materia prima por el método Kjeldahl, seguida de la multiplicación por dos factores de conversión, el tradicional de 6,25. El pH se determinó usando un método potenciométrico (pHmetro Crison microPH 2001, Alella, España). Para la extracción y purificación lipídica, se utilizó el sistema de extracción acelerada por disolventes con el equipo ASE 200 (Dionex and Fisher Scientific, 2004). Para ello, se adicionaron 2 g caldo de pescado y arena de mar lavada en una relación de 2:1 en las celdas de extracción de acero inoxidable de 11 mL revestidas con un filtro de celulosa. El equipo se programó de la siguiente manera: 3 ciclos por vial a una temperatura de 120 °C, presión de 1500 psi y un tiempo total de 10 min. Tras la evaporación de los solventes (éter de petróleo e isopropanol en una relación 3:2) mediante inyección de nitrógeno, se colocaron en un bloque de calor con un gradiente de temperatura de 1 °C por minuto de 80 a 105 °C, durante 35-40 min. El cálculo del porcentaje de lípidos se realizó por diferencia de pesada.

3.6.1.2 *Determinación de fenoles totales y capacidad antioxidante*

Preparación del extracto. Se utilizó el procedimiento descrito por Ozgen et al. (2006). Inicialmente, las muestras se centrifugaron a 12000 g durante 30 minutos a 4 °C (Sigma 4K15 Rotor 12169-H Sigma). El sobrenadante se diluyó en agua destilada en una relación 1/5 para realizar de los análisis del contenido de fenoles totales y de la capacidad antioxidante-FRAP (en inglés, Ferric Reducing Antioxidant Power Assay), y en una relación 1/10 para la actividad antioxidante – TEAC (en inglés, Trolox equivalent antioxidant capacity).

Fenoles totales. Se determinó según el método descrito por Velioglu et al. (1998), con el uso del reactivo Folin-Ciocalteu, realizando la lectura a una absorbancia de 725 nm (Cecil Instruments, Cambridge, Reino Unido) utilizando como estándar ácido gálico (Sigma-Aldrich,

Louis, MO, EEUU). La curva de calibración se estableció en el intervalo de 10-250 mg/L, y los resultados se expresaron en miligramo equivalente de ácido gálico (mgEAG) por litro de caldo de pescado.

Capacidad antioxidante. Se evaluó mediante dos métodos espectrofotométricos: 1) la capacidad antioxidante equivalente Trolox-TEAC, determinó según el método descrito por van den Berg et al. (2000), realizándose la lectura a 734 nm de absorbancia (espectrofotómetro, Cecil Instruments, Cambridge, Reino Unido); 2) La capacidad antioxidante reductor del ion Férrico-FRAP, se determinó de acuerdo con el método descrito por Benzie and Strain (1996) y modificado por Velázquez Estrada (2011), adaptándolo a microplacas. La absorbancia se midió a 595 nm (ATTC 340, SLT Labinstruments, Salzburg, Austria), utilizando una curva de calibración entre 25-250 μ M con Trolox, que se corresponde al compuesto químico ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2-carboxílico (Sigma-Aldrich), expresando los resultados en mM de Trolox equivalente (TE) para ambos métodos analíticos.

3.6.1.3 *Valoración de la oxidación lipídica*

Los primeros compuestos derivados de las reacciones de oxidación de los lípidos son los peróxidos (primaria), que a medida que avanza la oxidación se descomponen en aldehídos y cetonas (secundaria), que se combinan con aminoácidos y/o proteínas (terciaria). En este proceso, también es importante la lipólisis, de forma que la acumulación de ácidos grasos libres interactúan con los subproductos de la oxidación (Aubourg, 2001).

Extracción de la grasa. aplicó el método descrito por Woyewoda et al. (1986a) con ciertas modificaciones. Se preparó una solución con una relación de 1:1:1 de cloroformo/metanol/caldo de pescado (50 mL) y se dejó en reposo a 4 °C durante toda la noche (> 12 h). Posteriormente, se centrifugó a 3000 g por 10 min (Sigma- 4K15, Rotor 12169-H Sigma). La fase clorofórmica (inferior) se separó con cuidado, y se adicionó en un tubo de ensayo en el que previamente se había añadido sodio sulfato anhidro, y se agitó durante 50 s. La solución se filtró en un matraz aforado de 100 mL y se enrasó con cloroformo.

Determinación del contenido en grasa. Para determinar la cantidad de grasa disuelta en el matraz se depositaron 10 mL en una capsula metálica tarada y desecada, eliminando el disolvente (cloroformo) en una estufa a 100 °C por 1 h. Los resultados se expresaron en porcentaje según la ecuación.

$$P (\% \text{ grasa}) = \frac{(D_2 - D_1) \times V}{V_2 \times m} \times 100$$

donde P se corresponde al porcentaje de grasa existente en el matraz, D₁ es el peso (g) de la capsula vacía, D₂ es el peso (g) de la capsula con muestra, V₂ volumen (ml) de muestra colocado a secar en la capsula de aluminio, V volumen (ml) del matraz volumétrico aforado, m peso (mL) inicial de la muestra usada para el análisis.

3.6.1.4 Ácidos grasos libres (AGL)

Se utilizó el método descrito por Woyewoda et al. (1986a), que se basa en la valoración de la acidez en el extracto clorofórmico con un álcali normalizado. El contenido de AGLt se determinó en $\mu\text{moles/mL}$ de caldo de pescado.

$$\text{AGLt } (\mu\text{moles/mL de caldo}) = \frac{1000 \times N \times (V_4 - V_5)}{Vm_2 \frac{V_2 \times Vm_2 \times A}{V}}$$

donde N, es la normalidad de NaOH, V₄ el volumen de NaOH utilizado en la valoración de la muestra, V₅ el volumen de NaOH utilizado en la valoración del cloroformo (blanco), Vm₂ los mL de muestra como extracto clorofórmico, A el número de cápsulas de aluminio empleadas en la determinación de la grasa, V₂ el volumen (mL) de muestra que se secó en la cápsula de aluminio, y V volumen del matraz volumétrico aforado con el extracto clorofórmico. Posteriormente, se calculó los AGL como ácido oleico en porcentaje (mg AGL/100 g de lípido), donde AGLt son los μmoles de AGL/mL de muestra, 2.82 expresa el peso molecular del ácido oleico en 100 mL, P es el porcentaje de grasa contenida en 100 mL de muestra de caldo de pescado.

$$\text{AGL} = \frac{\text{AGLt} \times 2.82}{P}$$

3.6.1.5 Oxidación primaria: Índice de peróxidos (IP)

La formación de peróxidos se determinó según el método de titulación yodométrica (Woyewoda et al., 1986b; Horwitz and Latimer, 2005), que se basa en la acción reductora de los peróxidos en medio ácido del yoduro potásico, liberándose yodo que es valorado con tiosulfato de sodio. El almidón recién preparado se utilizó como indicador de la reacción. Para su determinación, se partió del extracto clorofórmico descrito anteriormente. Para la formación de la solución ácido acético-cloroformo se mezclaron 3 volúmenes de ácido acético con 2 volúmenes del extracto clorofórmico. El índice de peróxido (IP) se expresó en miliequivalentes

de oxígeno activo por litro de muestra, donde V corresponde al volumen (mL) de tiosulfato sódico consumido en la valoración, N es la normalidad del tiosulfato sódico (0,01 N), P peso de la grasa (kg) existente en la muestra.

3.6.1.6 Oxidación secundaria: TBARs

Para la determinación de las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBARs), se utilizó el método descrito por Woyewoda et al. (1986c) con ciertas modificaciones. Se realizó la destilación de la muestra en presencia de agentes quelantes-EDTA y antioxidantes-galato de propilo. Posteriormente, se realizó la reacción con ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) en condiciones ácidas para producir complejos rojizos de reacción, con el TBA que se determinaron a una absorbancia de 538 nm (Espectrofotómetro, CECIL 9000, CECIL Instruments, Cambridge, Reino Unido). El resultado se expresó como μ moles malonaldehído/L de caldo.

$$\text{TBA } (\mu\text{moles/L}) = \frac{T \times V_2 \times 1000}{V_3 \times V_m}$$

Donde, T se corresponde a μ moles de malonaldehído (TEP: 1,1,3,3-tetraetoxipropano) equivalentes a la absorbancia obtenida previa realización de la recta de calibración, V_2 el volumen (mL) del destilado (50 mL normalmente), V_3 el volumen (5 mL normalmente) del destilado usado para reacción en el tubo de ensayo y, V_m los mL de muestra.

3.6.1.7 Oxidación terciaria: Compuestos fluorescentes

La oxidación terciaria se determinó mediante el método de fluorescencia descrito por Aubourg et al. (1997). La fluorescencia se determinó a partir de una solución preparada en una proporción de 2/2/1.8 con la mezcla de cloroformo/metanol/caldo de pescado. Para determinar el cambio de fluorescencia (δF) se utilizó un espectrofotómetro de fluorescencia (Perkin-Elmer LS 3B) del Laboratorio de Luminiscencia y Espectroscopia de Biomoléculas de la UAB con las siguientes lecturas: F1 (327/415 nm) y F3 (393/463 nm) de excitación/emisión máxima, en la fase acuosa y orgánica, como expresa la siguiente ecuación:

$$dF = \frac{(F3/F3_{st})}{(F1/F1_{st})}$$

Donde F_{3st} y F_{1st} es la intensidad de la solución estándar de sulfato de quinina (1 $\mu\text{g/mL}$ en una solución 0,05 M H_2SO_4).

3.6.1.8 *Determinación del perfil de ácidos grasos*

La determinación del perfil de ácido grasos se realizó por triplicado en caldos CPS-UHPH: $T_0=75$ y 85 $^\circ\text{C}$, 300 MPa, $T_3=25$ $^\circ\text{C}$, en los días 0, 45, 90, 135 de conservación a temperatura ambiente.

Extracción de esteres metílicos de los ácidos grasos-FAME (en sus siglas inglesas): Inicialmente se realizó una etapa de saponificación con metilato de sodio ($\text{NaOCH}_3/\text{MeOH}$) y esterificación con trifluoruro de boro en metanol (BF_3/MeOH) según el método descrito por Moltó-Puigmartí et al. (2007).

Cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID): Los FAME del caldo de pescado se analizaron mediante cromatografía de gases (Agilent Technologies 7890A Gc system, Palo Alto, EEUU) equipado con un inyector (split /splitless), una columna capilar CP-Sil 88 (100 m x 0,25 mm x 0,20 μm) y un detector de ionización de llama (FID). Se inyectó 1 μl de muestra en una proporción de split de 1:100; la temperatura del inyector fue de 250 $^\circ\text{C}$; el gas portador helio a una presión de 31,6 psi, con una velocidad de flujo de 18 cm/s; la temperatura en el detector fue de 270 $^\circ\text{C}$ con un flujo de H_2 de 30,0 mL/min y un flujo de aire de 400 mL/min. Para la separación del FAME, la temperatura del horno se ajustó a 70 $^\circ\text{C}$, se elevó a 220 $^\circ\text{C}$ a una velocidad de 4 $^\circ\text{C}/\text{min}$ y se mantuvo durante 5 min y finalmente se elevó a 240 $^\circ\text{C}$ a una velocidad de 4 $^\circ\text{C}/\text{min}$ y se mantuvo durante 10 min, siendo el tiempo de ejecución total de 55 min.

Identificación y cuantificación: Se efectuó la identificación confirmando por clavado “spiking”, los tiempos de retención de los picos del FAME de las muestras, junto a los ya identificados (tiempos de retención) procedentes de la mezcla estándar del FAME de 37 componentes y del 3-PUFA procedentes del aceite de menhaden o sáballo (*Brevoortia tyrannu*) (Supelco, inc., Bellefonte, EEUU). La cuantificación se llevó a cabo utilizando como estándar interno el éster metílico del ácido undecanoico (C11:0) en hexano (Sigma).

3.7 Análisis estadístico

Producciones: En el capítulo 4, se realizaron dos producciones individuales para cada tipo de caldo del experimento/etapas. En los subsecuentes capítulos 5,6 y 7, para cada estudio se realizaron tres producciones independientes, correspondientes al caldo estándar (CPS) y/o del caldo enriquecido con proteínas de pescado (CPSP).

Ensayos y análisis: Para el análisis y interpretación de las pruebas sensoriales de los capítulos 4, 5 y 7 se aplicaron las directrices incluidas en los diferentes procedimientos de normas UNE (la acrónimo- Una Norma Española) con su equivalente en el marco de la organización internacional de normalización – ISO (AENOR, 2010). Para los demás métodos analíticos se analizaron por triplicado.

Estadística: Todos los resultados se analizaron estadísticamente aplicando el análisis de varianza unidireccional (ANOVA), utilizando el programa estadístico IBM-SPSS v23 (IBM-SPSS Corp., Armonk, NY, EE. UU.) Para determinar las diferencias entre los valores obtenidos se realizó el test de Tukey, considerando que las diferencias eran significativas a un $p < 0,05$

CAPÍTULO 4

ELABORACIÓN, OPTIMIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL CALDO DE PESCADO

4 ELABORACIÓN, OPTIMIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL CALDO DE PESCADO

4.1 Introducción

En la industria de productos de la pesca es muy importante aprovechar aquellas especies y/o partes del pescado de menor valor comercial. Uno de los productos que se pueden elaborar, es el caldo de pescado, en el que es de relevancia, además de mantener su calidad nutricional, que sea estable física y microbiológicamente. En este caldo, además del propio pescado, se incorporan otros ingredientes como vegetales, aceite y especias. Para estudiar el efecto de la aplicación diferentes tecnologías, es necesario reducir la variabilidad derivada de estos ingredientes, por lo que es importante estandarizar tanto la formulación, especialmente en relación a la composición del pescado, como el proceso de elaboración (Cesarettin Alasalvar, Fereidoon Shahidi, Kazuo Miyashita, 2011; Falch et al., 2010; Nunes et al., 2006). Por ello, el objetivo de este capítulo fue seleccionar sensorialmente una fórmula estandarizada de caldo de pescado, que se abordó en cuatro etapas. Además, se caracterizaron fisicoquímicamente diferentes caldos, con el objetivo de determinar si la selección organoléptica era la adecuada para obtener un alimento nutricionalmente aceptable.

4.2 Resultados y discusión

4.2.1 Análisis sensorial

4.2.1.1 *Etapa 1: Evaluación del perfil olfato-gustativo de un caldo base*

En esta etapa se evaluó un caldo base elaborado a partir de cabezas de rape (750 g), vegetales (92 g) y de especias (2,3 g). Para ello, un jurado constituido por siete catadores determinó el perfil olfato-gustativo de los diferentes componentes según la norma UNE-EN-ISO 87017:1992 (AENOR, 2010a), que se explicó en la sección de Material y Métodos.

En la Figura 4.1 se muestran los resultados obtenidos con relación a cuatro atributos evaluados: 1) la intensidad del sabor, 2) el regusto o dejo (presencia de diferentes notas después de que la muestra ha desaparecido de la boca); 3) la persistencia (continuidad de la percepción de unas mismas propiedades olfato-gustativas después de que la muestra haya desaparecido de la boca) cuya

clasificación fue en una escala entre 0 y 5; y 4) la impresión general cuya escala fue de entre 1 y 3.

La sal, aceite y pimienta en grano fueron los elementos que tuvieron una percepción considerada como muy fuerte, seguido del rape con una fuerte percepción, los vegetales especialmente el limón y el puerro mostraron una moderada/favorable percepción mientras que los demás vegetales y especias se detectaron débilmente. Por otra parte, en la impresión general, en la que se considera si las notas identificadas son adecuadas o no, cómo se manifiestan y el grado de armonía con que se percibe el conjunto, se valoró como media/moderada (valor igual a 2) (AENOR, 2010a). Debido a lo cual, se consideró la posibilidad de ajustar la proporción de los tres grupos principales de componentes (verduras, condimentos y pescado) para lograr una sopa organolépticamente más aceptable.

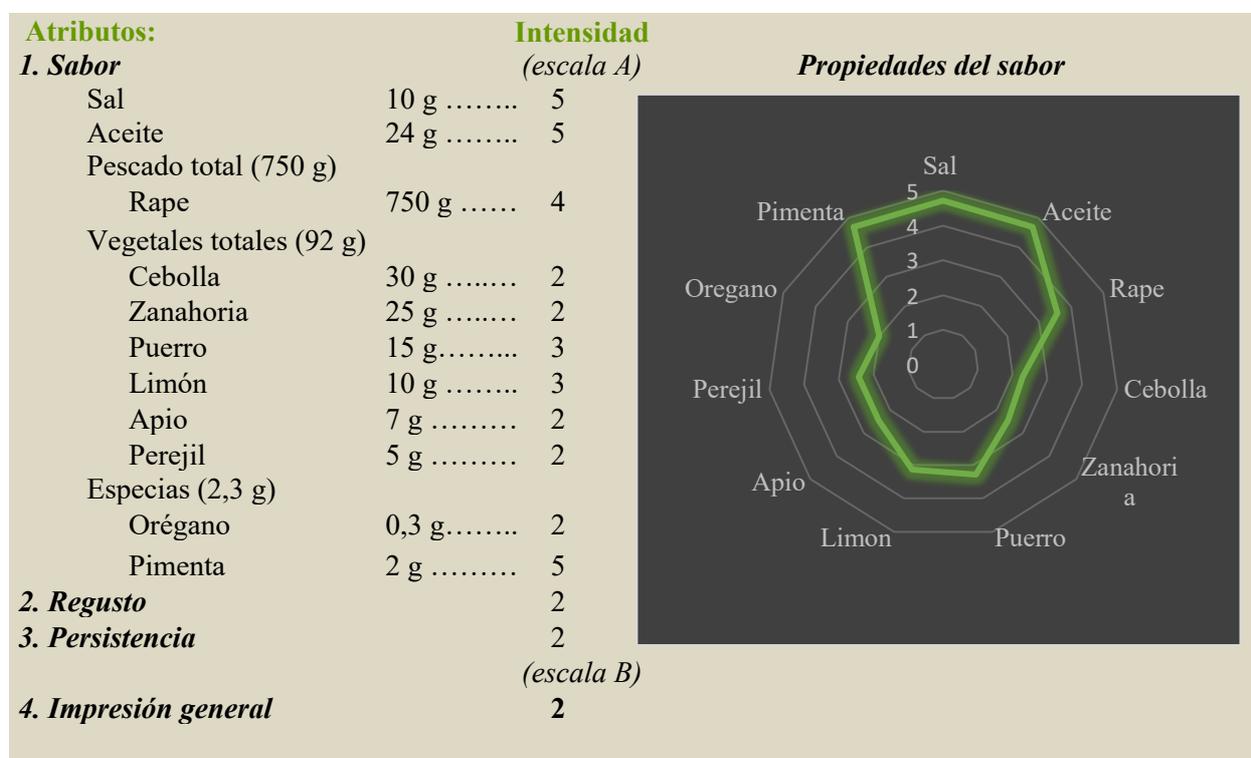


Figura 4.1. Diseño del Perfil olfato-gustativo de la formulación base del caldo de pescado. Evaluación de la intensidad de cada carácter del sabor, el regusto, la persistencia y de la impresión general del caldo.

4.2.1.2 Etapa 2: Optimización de la cantidad de vegetales y especias

En esta etapa se elaboraron 6 nuevas formulaciones de caldo de pescado con una cantidad fija de cabezas de rape (750 g). En las tres primeras formulaciones (caldo 2, 3, y 4) se incrementó, gradual y proporcionalmente, el contenido en vegetales de la formulación del caldo base con 92 g (caldo 1) a 122, 156 y 180 g, respectivamente. En los otros tres se redujo el contenido en especias de 2,3 g (caldo 1) a 1,3, 1,8 y 2,0 g (caldos 5, 6 y 7, respectivamente). Para seleccionar el caldo con mejores características, con relación a los vegetales y especias, se realizaron pruebas sensoriales con 12 catadores para establecer la preferencia, según la intensidad del atributo sabor. Se utilizó el método de ordenación con un diseño de bloques completo, según la norma UNE-EN-ISO 8587:2010 (AENOR, 2010b). En la Tabla 4.1 se muestran los resultados tras el estudio estadístico.

Tabla 4.1. Ordenación de las formulaciones de caldo de pescado en función de la aceptabilidad referente a la intensidad del sabor de los componentes vegetales y de las especias. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.

Caldos	Contenido de los ingredientes (g)	Suma de ordenación (R_i) ¹	F_{test} ² (calculado/crítico)	L Page ³ (calculado/crítico)	Ordenación MDS ⁴
<i>Vegetales*</i>					
(1)	92	19 ^a	11,10/7,70	332/317	
(2)	122	30 ^{ab}			
(4)	180	31 ^{ab}			
(3)	156	40 ^b			
<i>Especias*</i>					
(1)	2,3	18 ^a	11,20/7,70	332/317	
(7)	2,0	30 ^{ab}			
(5)	1,3	34 ^{bc}			
(6)	1,8	38 ^c			

¹ R_i , suma de las respuestas individuales de los jueces

² F_{test} : Coeficiente determinado por el test de *Friedman*

³ L page: Coeficiente de Page obtenido según el test de Page

⁴MDS: Mínima diferencia significativa

^{a-c} Diferentes letras en una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Previa a la ordenación definitiva, con la suma de las ordenaciones R_i , (suma de las respuestas individuales de los jueces para una determinada formulación de caldo de pescado), se aplicó el test de Friedman en la que se obtuvo en ambos casos un F_{test} calculado superior al valor crítico tabulado para las condiciones del ensayo, con 12 jueces y cuatro muestras, que fue de 7,70 (obtenido en la

Tabla 4 de la norma UNE-EN-ISO 8587:2010). Lo que significa, que en ambos tipos de caldo se percibieron diferencias entre las cuatro muestras de vegetales y las cuatro de especias con un riesgo de error menor o igual al 5%. Posteriormente, para identificar qué caldos fueron distintos entre sí, se realizó el cálculo de la mínima diferencia significativa (MDS), apreciándose en el caso de los vegetales que los caldos con 92 g (caldo 1) fueron significativamente diferentes que los de 156 g (caldo 4). La ordenación según la intensidad del sabor del vegetal sería los que tienen este componente en la siguiente cantidad $92 \text{ g} \leq 122 \text{ g} \leq 180 \text{ g} \leq 156 \text{ g}$. En este análisis es relevante determinar el desempeño de los jueces en relación con los resultados de ordenación realizado. Para ello, se aplicó el test de Page, obteniendo un valor de 332, que aceptó la ordenación predeterminada asumida, ya que el valor obtenido fue superior al valor crítico tabulado de 317 (obtenido en la Tabla 3 de la norma UNE-EN-ISO 8587:2010), para 12 jueces y cuatro muestras con un riesgo de error menor o igual al 5%. En el caso de las especias, siguiendo el mismo procedimiento, se determinó que tras calcular el MDS el caldo de 2,3 g fue significativamente diferente que los de 1,3 y 1,8 g, con la siguiente ordenación $2,3 \text{ g} \leq 2,0 \text{ g} \leq 1,3 \text{ g} \leq 1,8 \text{ g}$. Al igual que en los vegetales el desempeño de los jueces en relación con los resultados de ordenación realizado se confirmó con el test de Page. En función de los resultados obtenidos, según este análisis sensorial, el caldo seleccionado fue el que contenía 156 g de vegetales y 1,8 g de especias. Una vez determinado, se evaluó la influencia del tipo de pescado que conformará el caldo final.

4.2.1.3 *Etapa 3: Optimización del caldo de pescado en función del tipo de pescado*

Se planteó la mejora del sabor a pescado enalteciendo el deajo del rape en combinación con subproductos pesqueros de bajo coste económico. Si bien en las sopas comerciales se utilizan principalmente subproductos del rape (cabeza, espina...entre otros) como fuente de pescado, en este estudio nos planteamos usar otros subproductos de la pesca, algunos de menor coste económico, también utilizados para elaborar sopa, especialmente en la restauración colectiva y en el hogar. Para ello, se elaboraron cuatro caldos más, denominados caldos 8, 9, 10 y 11, incorporando 750 g de pescado en un litro de agua de la siguiente manera: a) solo cabezas de rape, b) cabeza de rape y trozos de merluza en una relación 1:1, c) cabezas de rape y surtido de pescados para sopa (peces pelágicos de pequeño tamaño, cangrejos y cigalas), que denominaremos pescado

de roca, en una relación 1:1 y d) cabeza de rape, trozos de merluza y pescado de roca en una relación 1:1:1.

Para seleccionar el caldo con las mejores características sensoriales se realizó la prueba con 12 catadores y se aplicó el método de ordenación según la norma UNE-ISO 8587:2010 (AENOR, 2010b), considerando los parámetros intensidad del sabor y olor, y la impresión global. En el análisis sensorial adicionalmente se incluyó un caldo comercial, que se seleccionó porque en su descripción parecía tener una mayor similitud con nuestros caldos. En la Tabla 4.2 se muestran los resultados tras el estudio estadístico.

Como se realizó anteriormente, previa a la ordenación definitiva, se aplicó el test de Friedman en la que se obtuvo un F_{test} calculado superior al valor crítico en la intensidad de sabor, olor e impresión global, que con 12 jueces y cinco muestras fue de 9,29 (obtenido en la Tabla 4 de la norma UNE-ISO 8587:2010). Lo que significa que se percibieron diferencias ($P < 0,05$) entre los cinco caldos de pescado. Posteriormente, para identificar qué caldos eran distintos entre sí, se realizó el cálculo la Mínima diferencia significativa (MDS), determinando que los caldos con pescado de roca fueron significativamente diferentes al resto de caldos, especialmente en la percepción de la intensidad del olor y sabor.

Tabla 4.2. Ordenación de los caldos con distintas combinaciones de tipos de pescado en función de la aceptabilidad de la intensidad del sabor, olor y la impresión global. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.

Caldos ¹ / Estadísticos	Suma de ordenación (R_i) y Ordenación MDS ² de los parámetros			Valor crítico
	Olor	Sabor	Impresión global	
Caldo comercial	22,5 ^a	21,5 ^a	19,0 ^a	-
(8) CR	30,0 ^{ab}	25,0 ^{ab}	19,5 ^a	-
(9) CR/TM	31,0 ^{ab}	34,0 ^{bc}	42,5 ^b	-
(11) CR/TM/PR	41,5 ^{bc}	45,0 ^{cd}	43,0 ^b	-
(10) CR/PR	54,0 ^c	54,5 ^d	56,0 ^b	-
F_{test}^2	17,52	25,28	35,08	9,29
L_{Page}^4	611,5	626	637,5	570

¹ Caldo con 750g/L de pescado, CR: cabeza de rape; TM: Trozos de merluza 1:1:1; PR: Pescado de roca

²MDS: Mínima diferencia significativa; R_i , suma de las respuestas individuales de los jueces

³ F_{test} : Coeficiente determinado por el test de *Friedman*,

⁴ L_{page} : Coeficiente de page obtenido según el test de Page

Los caldos menos apreciados fueron los que contenían únicamente rape, incluido el caldo comercial. La ordenación considerando la impresión global fue: comercial \leq cabeza de rape $<$ cabeza de rape-trozos de merluza \leq cabeza de rape-trozos de merluza-pescado de roca \leq cabeza de rape-pescado de roca. Al igual que en la etapa anterior el desempeño de los jueces con relación a los resultados de ordenación realizado fue confirmado con el test de Page (Tabla 4.2), siendo el valor obtenido superior al valor crítico tabulado de 570 (obtenido en la Tabla 3 de la norma UNE-EN-ISO 8587:2010). Por lo que, en función de los resultados obtenidos según este análisis sensorial, el caldo seleccionado fue el que contenía cabezas de rape y pescado de roca en una relación 1:1. Por último, y con la finalidad de obtener un caldo de características organolépticas excelentes a menor coste de producción, se evaluó la influencia de la cantidad de pescado en la conformación del caldo final.

4.2.1.4 Etapa 4: Optimización y estandarización del caldo en función de la cantidad de pescado: Selección del caldo para posterior tratamiento por UHPH y/o UHT

Con el objetivo de obtener un caldo de pescado procesado de una manera estandarizada, atendiendo a sus tres componentes principales, y que su coste sea óptimo para poder ser industrializado, a partir de la combinación de rape y roca anteriormente seleccionada, se elaboraron los caldos 12 y 13. La cantidad total de pescado utilizada fue de 750 g (caldo 10), 600 y 450 g en un litro de agua, para el caldo 12 y 13, respectivamente. Para seleccionar el caldo con las mejores características sensoriales se aplicó el método de ordenación según la norma UNE-EN-ISO 8587:2010 (AENOR, 2010b). En la Tabla 4.3 se muestran los resultados del estudio estadístico tras realizar prueba con 12 catadores considerando la intensidad de los atributos de sabor y olor, y la impresión global.

Tabla 4.3. Ordenación de los caldos elaborados con distinta cantidad de la combinación de cabezas de rape y roca, en función de la aceptabilidad de la intensidad del sabor, olor y la impresión global. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.

Caldo ¹ / estadística	Suma de ordenación (R_i) y Ordenación MDS ²			Valor crítico
	Olor	Sabor	Impresión global	
(10) 750 g	27,0 ^a	26,5 ^a	25,0 ^a	
(12) 600 g	33,5 ^a	30,0 ^a	30,0 ^a	
(13) 450 g	29,5 ^a	33,5 ^a	35,0 ^a	
F_{test}^3	1,43	1,63	3,33	6,17

¹ Caldos elaborados a partir de cabezas de rape y pescado (g/L),

² MDS: Mínima diferencia significativa; R_i , suma de las respuestas individuales de los jueces

³ F_{test} : Coeficiente determinado por el test de *Friedman*,

Como se realizó anteriormente, previa a la ordenación definitiva, se aplicó el test de Friedman en la que se obtuvo un F_{test} calculado, con 12 jueces y tres muestras, inferior al valor crítico tabulado en la intensidad de sabor, olor e impresión global que fue de 6,17 (obtenido en la Tabla 4 de la norma UNE-ISO 8587:2010). Lo que significa que no se percibieron diferencias sensoriales ($p \geq 0,05$) entre los tres caldos de pescado. En base a este resultado la composición por litro del caldo de pescado estandarizado (CPS) seleccionado (caldo 13) fue el siguiente:

Ingredientes

Agua.....	1 L
Sal.....	5,3 g
Aceite.....	12 g
Pescado total (450g)	
Rape.....	225 g
Roca.....	225 g
Vegetales totales (156 g)	
Cebolla.....	55 g
Zanahoria.....	60 g
Puerro.....	15,8 g
Limón.....	9 g
Apio.....	10 g
Perejil.....	6,2 g
Especias (1,8 g)	
Orégano.....	0,5 g
Pimenta.....	1,3 g



Figura 4.2. Formulación estándar del caldo de pescado seleccionado para los tratamientos de conservación UHPH y/o UHT.

El sabor/aroma es una de las características más importantes de la calidad de los alimentos, en particular para las sopas o caldos. En general, la mayoría de los componentes aromatizantes son solubles en agua, sobre todo por nucleótidos, aminoácidos, péptidos, ácidos orgánicos, bases orgánicas e iones inorgánicos. Es bien sabido que los péptidos y los aminoácidos son los ingredientes principales que contribuyen al sabor del pescado (Shah et al., 2010), como se determinó en un estudio del efecto de la cocción en el análisis sensorial de sopa de carpa (*Carassius auratus*) (Zhang et al., 2013).

4.2.2 Análisis fisicoquímicos

Adicionalmente a la selección basada en el análisis sensorial, se caracterizaron fisicoquímicamente los diferentes caldos, con el objetivo de evaluar su perfil nutricional y la actividad antioxidante de sus componentes, cuyos resultados obtenidos del análisis por triplicado se muestran en la Tabla 4.4.

La formulación del caldo comercial presentó los valores de composición significativamente más bajos ($p < 0,05$), mientras que el pH fue el más elevado. Entre los caldos elaborados durante el estudio, el pH fue muy similar, presentando un valor aproximado de 6,20. No hay muchas

referencias bibliográficas relativas a la composición del caldo de pescado, posiblemente por la gran variabilidad que puede haber en su proceso de elaboración. Una posible comparación sería con la base de datos de nutrientes en caldo de pescado ofrecidos por la USDA, en el que el contenido medio en materia seca es de un 4%, el de proteína de un 2%, el de lípidos de un 0,6 % y el de minerales un 0,9 % (USDA, 2019). En referencia a estos datos, el caldo elaborado con cabezas de rape y trozos de merluza es el que más se asemeja al porcentaje de proteína y lípidos del caldo de referencia de la USDA. Sin embargo, se observó que la materia seca fue superior en aquellos a los que se incorporó trozos de merluza y/o pescado de roca, cuando el total añadido fue de 750 g, disminuyendo en los caldos con 600 y 450 g. Adicionalmente, se observó un aumento significativo ($p < 0,05$) del contenido de lípidos totales al incorporar pescado de roca (Tabla 4.4).

Habitualmente las especies de pescado suelen agruparse en tres categorías, grasas, semigrasas y bajas en grasas (magras), en función del porcentaje de grasa muscular por 100 g de su peso húmedo (Nunes et al., 2011; Silva and Chamul, 2000). Se consideran especies grasas las que tienen $> 10\%$ de lípidos, semigrasa entre >10 a $1\% <$, bajas en grasas o magras, las que tienen menos del 1% de grasa muscular (Oehlenschläer, 2010). Si bien es cierto, que el contenido de lípidos musculares es variable dentro de un mismo individuo y/o especie, y se ve influenciada por factores endógenos (sexo, edad, localización muscular, entre otros) o exógenos (localización geográfica, época del año, entre otros) (Aubourg, 2010). En nuestro caso, tanto el rape (*Lophius piscatorius*) como la merluza (*Merluccius merluccius*) son especies consideradas magras o de pescado blanco, es decir, con un contenido de lípidos a nivel muscular inferior al 1% de su peso húmedo (Soriguer et al., 1997), siendo relevante su adición en el caldo por su aporte proteico. El aporte de lípidos en los caldos elaborados con pescado de roca, se asociaría principalmente al salmonete (*Mullus spp*), que posee entre un $5,32\%$ y $8,32\%$ de grasa muscular y que es usualmente consumido en el territorio español (Kocatepe and Turan, 2012; Soriguer et al., 1997), siendo su aporte significativo en el caldo final seleccionado, en el que sólo se utilizó 450 g de pescado.

Como se puede observar, los tres principales grupos de componentes (pescado, verduras y condimentos) constituyentes de las formulaciones de caldo de pescado, tienen componentes con actividad antioxidante, evaluándose para ello tres parámetros: polifenoles totales, FRAP (Capacidad antioxidante reductor del ion Férrico) y TEAC (Capacidad antioxidante equivalente Trolox). Como se observa en la Tabla 4.4, los resultados obtenidos en el contenido total de polifenoles no muestran correlación con la actividad antioxidante, como ya han observado otros

autores en vegetales frescos tratados térmicamente (Ismail et al., 2004), existiendo otras sustancias, además de los fenólicos totales, que pueden desempeñar un papel importante en la actividad antioxidante (Fu et al., 2011; Velioglu et al., 1998).

En el caldo comercial, el contenido en polifenoles totales fue significativamente inferior a los otros caldos, mientras que en las otras formulaciones se apreció que, tanto en los polifenoles como los otros parámetros de determinación de la actividad antioxidante, pero sobre todo en el TEAC, fue determinante el que hubiera o no pescado de roca, así como también de cabeza de rape. Cuando en la formulación se incluyó pescado de roca el contenido total de fenoles y TEAC fueron en general significativamente mayores, en especial en las fórmulas con 750 y 600 g de pescado, y en menor medida en el caldo con 450 g de pescado, o el elaborado exclusivamente con cabeza de rape (Tabla 4.4).

En las especies marinas las sustancias antioxidantes tienen su origen enzimático (catalasa, glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y tioredoxina) y de metabolitos liposolubles o hidrosolubles, de baja masa molecular, como el ácido ascórbico, tocoferoles, carotenoides, coenzima Q, glutatión-GSH, tioles, bilirrubina y ácido úrico (Jooyandeh and Aberoumand, 2011; Kalegeropoulos, N.; Chiou, 2010), siendo superior el contenido de antioxidantes liposolubles en el músculo rojo que en el blanco (Petillo et al., 1998). Además, componentes del pescado de roca, como las cigalas, los triglidos, escorpénidos y múlidos contienen sustancias carotenoides, como la astaxantina que podrían contribuir al incremento del contenido antioxidante (Venugopal and Gopakumar, 2017; Yanar et al., 2012).

Los vegetales y especias utilizados en el caldo también tienen componentes con fuerte actividad antioxidante como el ácido ascórbico, tocoferoles, caroteno y/o compuestos fenólicos (García, 2011; Ismail et al., 2004; Makris and Rossiter, 2001; Turkmen et al., 2005), estando presentes en la cebolla, perejil, zanahoria, apio y puerro (Bilge Ertekin et al., 2017a) y el orégano y pimienta negra (Redondo-Cuevas et al., 2017), aunque su actividad puede verse afectada por los tratamientos térmicos empleados en el proceso de elaboración de los caldos. Así, en estudios realizados en diferentes verduras frescas y después de la cocción, se ha demostrado que la capacidad antioxidante podría reducirse debido a los tratamientos térmicos (Faller and Fialho, 2009), o no alterarse, o bien aumentar (Turkmen et al., 2005) debido a que se incrementa su extracción (Bernhardt and Schlich, 2006). Entre los compuestos con actividad antioxidante, los

que presentan una mayor estabilidad a los tratamientos térmicos son los flavonoides (Ismail et al., 2004; Makris and Rossiter, 2001), perteneciendo a este grupo, los flavonoles como la quercetina presente en la cebolla y las flavonas como la apigenina y luteolina presentes en el perejil, apio y orégano (Pérez-Jiménez et al., 2010). La preparación de los vegetales previa a la cocción, también tiene efecto en el contenido de sustancias antioxidantes, debido a las modificaciones estructurales ocasionada en su procesado (Faller and Fialho, 2009). La disrupción celular ocasionada por el corte, afecta no solo la cantidad, sino también a la composición de los polifenoles (Makris and Rossiter, 2001). La cantidad de compuestos antioxidantes lixiviados durante la ebullición varía en función de las características de los productos, por lo que el caldo en función de la materia prima utilizada, puede retener un alto contenido en fitoquímicos (Bilge Ertekin et al., 2017b).

Los caldos elaborados tuvieron una baja actividad antioxidante y un reducido contenido de compuestos fenólicos, si se compara con los productos frescos, debido a diferentes factores como: la reducida cantidad de los ingredientes con mayor concentración de sustancias antioxidantes (vegetales y especias), el efecto del tratamiento térmico, y la posibilidad de que se produzcan interacciones entre componentes complejos, especialmente en el caldo con trozos de merluza, que pueden causar una variación en la respuesta antioxidante (Ozgen et al., 2006; Pérez-Jiménez and Saura-Calixto, 2006). Sin embargo, si se compara con otros caldos, especialmente de origen vegetal (Bilge Ertekin et al., 2017b), los valores que se han obtenido son similares o incluso mayores, posiblemente por la contribución del pescado en estos parámetros.

Tabla 4.4. Perfil nutricional (Composición química y pH), determinación de la capacidad antioxidantes (FRAP y TEAC) y componentes fenólicos de las diferentes formulaciones de caldo de pescado.

Caldo ¹	Parámetros determinados ²							
	pH	Proteína ³ (g/100 mL)	Lípidos (g/100 mL)	Cenizas (g/100 mL)	Materia seca (g/ 100 mL)	FRAP ⁴ (mM)	TEAC ⁵ (mM)	Fenoles ⁶ (mg EAG/L)
<i>Comercial (322 g)</i>	6,54 ± 0,03 ^d	0,81 ± 0,05 ^a	0,45 ± 0,13 ^a	0,36 ± 0,01 ^a	2,31 ± 0,86 ^a	1,13 ± 0,45 ^a	2,04 ± 0,08 ^a	272,35 ± 17,02 ^a
<i>CR (750 g)</i>	6,20 ± 0,02 ^a	1,08 ± 0,06 ^b	0,86 ± 0,09 ^b	0,92 ± 0,23 ^b	3,19 ± 0,59 ^b	1,33 ± 0,06 ^{ab}	2,52 ± 0,18 ^{bc}	630,06 ± 16,48 ^c
<i>CR-TM (750 g)</i>	6,26 ± 0,01 ^c	2,14 ± 0,52 ^f	1,06 ± 0,10 ^b	1,71 ± 0,21 ^c	5,61 ± 0,14 ^f	1,09 ± 0,03 ^a	1,96 ± 0,10 ^a	384,34 ± 32,15 ^b
<i>CR-TM-PR (750 g)</i>	6,25 ± 0,01 ^b ^{bc}	1,78 ± 0,52 ^e	1,63 ± 0,84 ^c	1,45 ± 0,11 ^d	5,34 ± 0,10 ^e	1,30 ± 0,23 ^{ab}	2,20 ± 0,07 ^{ab}	589,52 ± 24,23 ^c
<i>CR-PR (750 g)</i>	6,22 ± 0,00 ^{3ab}	1,57 ± 0,36 ^d	2,19 ± 0,83 ^c	1,31 ± 0,04 ^{cd}	5,12 ± 0,45 ^e	1,62 ± 0,1 ^b	2,84 ± 0,11 ^c	817,93 ± 09,31 ^c
<i>CR-PR (600 g)</i>	6,25 ± 0,01 ^{bc}	1,29 ± 0,26 ^c	1,97 ± 0,44 ^{de}	1,26 ± 0,12 ^{cd}	4,75 ± 0,56 ^d	1,34 ± 0,25 ^{ab}	2,83 ± 0,16 ^c	755,52 ± 10,38 ^d
<i>CR-PR (450 g)</i>	6,23 ± 0,02 ^{bc}	1,11 ± 0,34 ^b	1,73 ± 0,11 ^{cd}	1,19 ± 0,32 ^c	4,23 ± 0,18 ^c	1,28 ± 0,09 ^{ab}	2,75 ± 0,26 ^c	635,35 ± 21,35 ^c

¹ Formulaciones CR: cabeza de rape; TM: Trozos de merluza; PR: Pescado de roca y cantidades totales de pescado incorporado (g/L).

² Media ± desviación estándar de tres replicados analíticos

³ Proteína bruta: calculada como % N total x 6,25

⁴FRAP: Capacidad antioxidante reductor del ion Férrico

⁵TEAC: Capacidad antioxidante equivalente Trolox

⁶ EAG: equivalentes de ácido gálico

^{a-c}: Diferentes letras minúsculas en las columnas de datos indican diferencias significativas (P <0,05) entre los caldos

4.3 Conclusión

Tras la evaluación en la contribución organoléptica de las diferentes materias primas, sobre todo del pescado, pero también de los vegetales, condimentos y especias, el caldo con mejores características organolépticas, basado en su perfil olfato-gustativo, y más económico contenía, esencialmente, pescado en un 45% con cabeza de rape y pescado de roca en la misma proporción, vegetales en un 15,6 % (especialmente de cebolla, zanahoria, puerro y apio,) especiado con orégano y pimienta (0.18 %). En dicho caldo, el contenido en proteína, lípidos, minerales y componentes antioxidantes fueron los apropiados para este tipo de producto, incluso fueron superiores al caldo comercial analizado.

CAPÍTULO 5

EFECTO DE LA APLICACIÓN DE LA UHPH A TEMPERATURAS DE ENTRADA ENTRE 45 Y 75 °C

5 EFECTO DE LA APLICACIÓN DE LA UHPH A TEMPERATURAS DE ENTRADA ENTRE 45 Y 75 °C

5.1 Introducción

En la actualidad, hay una gran variedad de productos elaborados a base de pescado con un alto valor añadido. En el desarrollo y presentación comercial de estos productos se debe tener en consideración diversos factores, como las condiciones de procesado, las necesidades culturales, nutricionales y la innovación tecnológica (Bombardelli et al., 2005; Lee, 2010). En su desarrollo, un objetivo claro es aumentar su durabilidad, lo que implica conocer todos los aspectos químicos, enzimáticos y microbiológicos, que lo condicionan, para aplicar las medidas de control adecuadas para mantener las características óptimas para consumo (Rustad, 2003). Una de las estrategias o medidas de control es la aplicación de la tecnología emergente de la ultra alta presión de homogenización-UHPH (en sus siglas en inglés), que ha sido ya evaluada con buenos resultados, desde el punto de vista microbiológico, nutricional, químico y físico, en diferentes matrices alimenticias líquidas como el huevo, leche, licuados vegetales a base de soja y almendra, horchata de chufa y zumo de manzana, naranja y uva, (Codina-Torrella et al., 2018; Loira et al., 2018; Ferragut et al., 2015; Pereda et al., 2007; Suárez-Jacobo et al., 2010; Velázquez-Estrada et al., 2012, 2008). El presente estudio tiene como objetivo determinar las condiciones de tratamiento UHPH óptimas, que permitan obtener un caldo de pescado estable desde el punto de vista microbiológico, físico y fisicoquímico, y con unas características organolépticas adecuadas. Para ello, las condiciones de tratamientos UHPH seleccionados a estudiar fueron el de 300 MPa, a cuatro temperaturas de entrada de 45, 55, 65 y 75 °C, que se aplicaron tras la elaboración del caldo de pescado estándar. Los parámetros evaluados fueron: pH, tamaño de partícula, color y el análisis microbiológico. El estudio de durabilidad microbiológica se realizó a temperaturas de refrigeración de 4 y 8 °C y ambiental de 20-25 °C durante 20 días, con analíticas efectuadas en los días 1, 3, 5, 10, 15 y 20. En la evaluación organoléptica se valoró el posible cambio en el perfil gustativo perceptibles por parte de los consumidores causados por la aplicación del tratamiento UHPH a 75 °C de temperatura de entrada, empleando una prueba sensorial de juicio forzado UNE-EN-ISO 4120:2008. Todos los parámetros analizados se describen con mayor detalle en la sección de Material y Métodos.

5.2 Resultados y discusión

5.2.1 Control de proceso de la ultra alta presión de homogenización

En la Tabla 5.1 se presenta el registro de temperaturas observadas durante el procesado de las muestras por UHPH. Las mediciones se realizaron antes (T_1), después (T_2) del paso por la válvula de ultra alta presión homogeneización y a salida del fluido del equipo (T_3).

Tabla 5.1. Registro de las temperaturas durante tratamiento UHPH a 300MPa a diferentes temperaturas de entrada del caldo de pescado.

Temperaturas registradas en los tratamientos UHPH (°C) ¹			
Entrada (T_0)	Antes de la válvula de alta presión (T_1)	Después de la válvula UHPH (T_2)	Salida (T_3)
45	45,33 ± 0,58	110,00 ± 1,00	24,33 ± 0,58
55	53,00 ± 1,00	114,00 ± 1,15	24,63 ± 0,78
65	64,67 ± 0,58	118,67 ± 0,58	27,37 ± 1,15
75	75,30 ± 0,61	128,00 ± 1,00	25,33 ± 3,51

¹: valores medios ± desviación estándar obtenidos de 3 experimentos independientes.

Como en numerosos estudios realizados en diferentes matrices alimenticias líquidas (Codina-Torrella et al., 2018; Ferragut et al., 2015; Loira et al., 2018; Pereda et al., 2007; Suárez-Jacobo et al., 2010; Velázquez-Estrada et al., 2012, 2008), se produjo un incremento de la temperatura de aproximadamente 20 °C/100 MPa, variando entre 17 y 21 °C/100 MPa, siendo este valor superior cuanto menor era la temperatura de entrada. La elevación de la temperatura del producto al pasar por la válvula de alta presión se atribuye a los fenómenos físicos que experimentaron los fluidos, como consecuencia del calentamiento adiabático (Floury et al., 2000; Hayes and Kelly, 2003). Este efecto, se atribuye al calor generado en el equipo como consecuencia de fenómenos físicos de turbulencia, esfuerzo cortante, cavitación... cuando el líquido pasa a través de la válvula de homogeneización (Thiebaud et al., 2003).

5.2.2 Efecto de la UHPH en la calidad microbiológica

El recuento microbiológico se realizó tras el proceso de cocción y tratamiento UHPH, obteniendo en todos los grupos microbianos estudiados (aerobios y anaerobios mesófilos y esporas aerobias mesófilas y enterobacterias), recuentos por debajo del límite de detección < 1 ufc/mL, lo que demuestra la eficacia del proceso de cocción en la disminución de la carga

microbiana habitualmente encontrada en este tipo de materia prima. La temperatura utilizada en el proceso de cocción de los productos pesqueros habitualmente son suficientes para una reducción sustancial de cualquier microorganismo presente, siendo la contaminación posterior al proceso de cocción o por las esporas presentes en el producto (Gram, 2009). Sin embargo, al realizar el análisis tras 24 h, se determinó la presencia y recuento de los diferentes grupos microbianos, a excepción de las enterobacterias que se mantuvieron en todos los tratamientos por debajo del límite de cuantificación (1 ufc/mL). En las Figuras 5.1 y 5.2 se muestra la evolución de los recuentos microbiológicos (ufc/mL) y del pH durante el periodo de conservación de 20 días en refrigeración a 4 y 8 °C y a temperatura ambiente de 20-25 °C.

El recuento de microorganismos aerobios y anaerobios mesófilos en los caldos mantenidos en condiciones de refrigeración fue superior en el caldo control. Los recuentos, tras 15 y 10 días en refrigeración a 4 °C y 8 °C, se mantuvieron por debajo de 10^5 ufc/mL, que se consideró el valor de referencia límite en comidas preparadas con tratamiento térmico, descritas como grupo B para comidas preparadas con tratamiento térmico en el derogado Real Decreto 3484/2000 (Real Decreto 3484, 2000). En los caldos tratados por UHPH y conservados a 4 °C, el recuento de ambos parámetros microbianos alcanzó en el día 20 recuentos iguales o superiores a 10^5 ufc/mL en los caldos UHPH-45, mientras que los caldos UHPH-55 y 65 se mantuvieron con recuentos inferiores a los 5 log ufc/mL, alcanzando un valor máximo de aproximadamente 2 log ufc/mL en los caldos UHPH-65 (Figura 5.1A). En los caldos conservados a 8 °C, se obtuvo una evolución similar, aunque la velocidad de crecimiento de los microorganismos aerobios y anaerobios mesófilos fue mayor, alcanzándose recuentos de 5 log ufc/mL en el día 15 en los caldos UHPH-45 y en el día 20 en los UHPH-55, mientras que en los UHPH-65 °C, el recuento alcanzado fue de alrededor de 3 log ufc/ml (Figura 5.1 B). Durante la conservación a 20-25 °C, se observó un rápido incremento en el recuento, de forma que los caldos UHPH-45 y 55 alcanzaron el límite de rechazo en menos de 3 días, mientras que los UHPH-65 se prolongó hasta los 10 días (Figura 5.2). El crecimiento de los microorganismos se reflejó en una disminución paulatina del pH, de forma que un pH de 5,9-6 se relacionaría con el límite de rechazo microbiano de 10^5 ufc/mL. El recuento de esporas a ambas temperaturas fue muy limitado, con recuentos máximos de 1,5-2,5 log esporas/mL a 4 y 8 °C en los caldos control o los tratamientos UHPH-45 y 55, coincidiendo su presencia con el inicio de la fase exponencial del recuento de los microorganismos aerobios mesófilos (Figura 5.1 y 5.2). En los caldos UHPH-75 se consiguió un producto estable desde el punto de vista microbiológico, ya que en todas las temperaturas de conservación se determinó que el recuento fue inferior al límite de

cuantificación (< 1 ufc/mL). Además, en la prueba de esterilidad tras la incubación a 30 y 55 °C durante 21 días, no se determinó la presencia de microorganismos.

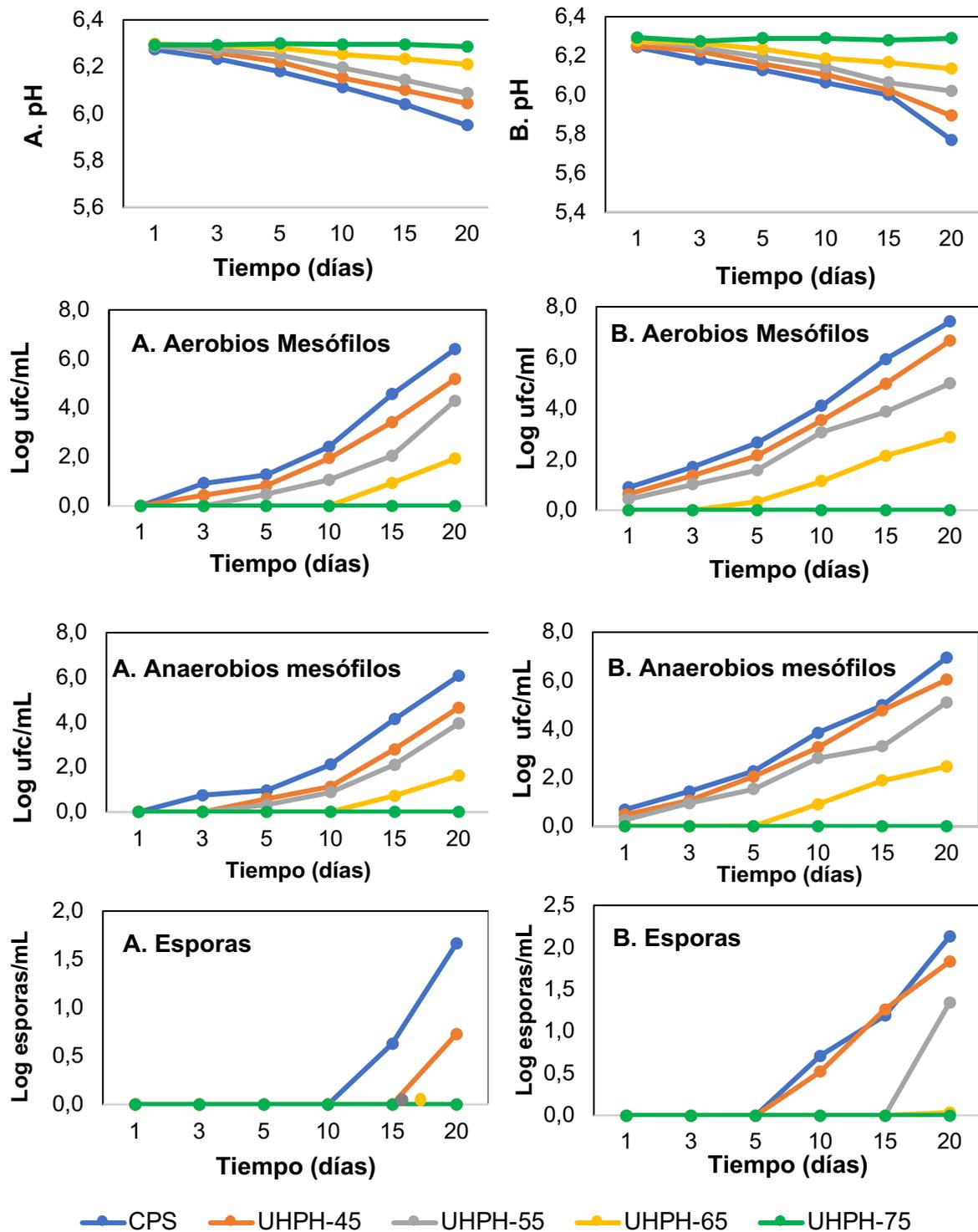


Figura 5.1. Determinación del pH y recuentos microbiológicos (ufc/mL) efectuados a muestras de caldo estándar-CPS y tratados por UHPH-300 MPa a Temperatura de entrada de 45, 55, 65 y 75 °C conservados en refrigeración a 4 °C (grupo A) y 8 °C (grupo B).

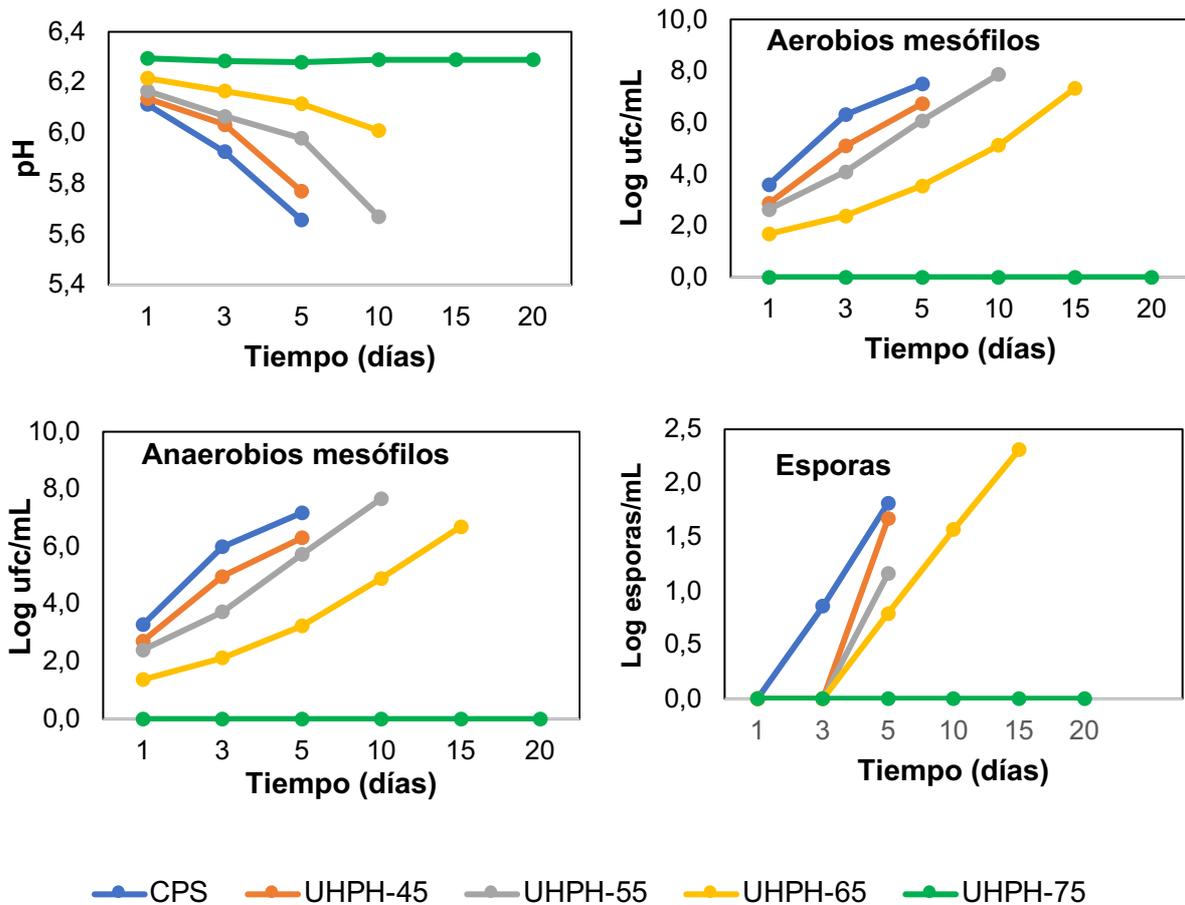


Figura 5.2. Determinación del pH y recuentos microbiológicos (ufc/mL) efectuados a muestras de caldo estándar-CPS y tratados por UHPH-300 MPa a Temperatura de entrada de 45, 55, 65 y 75 °C, conservados a temperatura ambiente 20-25 °C.

La microbiota presente en el caldo, procede de la materia prima así como de la contaminación ambiental durante la producción del caldo (Gram, 2009). En el caso del pescado, la microbiota depende de la temperatura del agua y el microbiota dominante en su hábitat, de forma que en el pescado capturado en aguas superficiales suelen tener menor contaminación microbiana que el pescado capturado en el fondo marino (Nychas and Drosinos, 2010). El caldo se elaboró a partir de pescado de roca, capturados zonas rocosas del mediterráneo y el rape propio de profundidades de hasta más de 500 m, capturado en el Atlántico. Consecuentemente, la presencia de microorganismos esporulados explicaría la persistencia a las temperaturas de cocción empleadas en el estudio (ebullición ~ 100 °C, ~ 35 min), que posteriormente se desarrollarían durante su conservación en refrigeración y a temperatura ambiente.

La inactivación microbiana obtenida en este estudio es muy similar a la obtenida por otros autores en otras matrices líquidas. Por una parte, Poliseli-Scopel et al. (2012) al evaluar el efecto de los tratamientos UHPH en licuado de soja a 200 y 300 MPa con temperaturas de entrada de 55, 65 y 75 °C, y Amador-Espejo et al., (2014), en leche de vaca al aplicar tratamientos de UHPH a 200 y 300 MPa con temperaturas de entrada de 55, 65, 75 y 85°C, obtuvieron la esterilidad del producto al aplicar 300 MPa a temperaturas iguales o superiores a 75 °C. Sin embargo, Valencia-Flores et al. (2013), también obtuvieron licuados de almendra estériles a 300 MPa y una temperatura de entrada de 65 °C. En todos los estudios se subraya como factor de letalidad microbiana al efecto de fenómenos de cavitación, esfuerzo cortante, cizalla, cambios en la energía cinética, etc. al pasar a través de la válvula de alta presión, así como al incremento de la temperatura como consecuencia del calentamiento adiabático (Tabla 5.1), aunque con un tiempo menor de 0.5 s. En el caso del licuado de soja y almendra, el incremento fue de $T_2 \sim 135$ °C en el tratamiento de 300 MPa con T_1 de 75 °C (Ferragut et al., 2015). Sin embargo, en el caldo de pescado la temperatura alcanzada fue de $T_2 \sim 128$ °C (Tabla 5.1). La temperatura que se alcanza, así como los efectos físicos asociados, varía de un equipo al otro asociado al diseño de las válvulas, así como de la fluidez-viscosidad del producto, siendo determinante en la letalidad obtenida, así como las características de la microbiota propia del producto (Ferragut et al., 2015).

En consonancia con lo obtenido en otras matrices líquidas como leche, licuado de soja, horchata de chufa o zumo de manzana y que se trataron a 200 y 300 MPa (Codina-Torrella et al., 2018; Cruz et al., 2007; Pereda et al., 2007; Suárez-Jacobo et al., 2012), cuando se aplicaron tratamientos UHPH a 300 MPa en el caldo de pescado a temperaturas de entrada inferiores a 65 °C, se consiguió una reducción notable de la microbiota, prolongando la vida útil del producto, aunque debe conservarse a temperaturas de refrigeración.

5.2.3 El efecto de la UHPH sobre las propiedades físicas

5.2.3.1 *Evaluación del tamaño de partícula*

El estudio de la distribución del tamaño de partícula de los caldos de pescado obtenidos tras el momento de producción del caldo estándar-CPS y tras los tratamientos UHPH a 300 MPa con temperaturas de entrada T_0 de 45, 55, 65 y 75 °C, realizó mediante el análisis de las curvas de distribución de tamaño de partícula y la evaluación de los parámetros D_{50} , D_{90} , $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, que se presentan en la Figura 5.3 y la Tabla 5.2. Los dos primeros parámetros (D_{50} y D_{90}) hacen

referencia al diámetro bajo el que se encuentran el 50% y 90% del total de partículas del producto, respectivamente. Los parámetros $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$ se relacionan con el diámetro medio de las partículas, en base al área de su superficie y a su volumen.

El caldo estándar-CPS presentó una distribución polidispersa con un pico principal entre los 0-10 μm de diámetro, en el que se concentraron el 77,1% de partículas, seguido de un conjunto de picos de menor intensidad y mayor diámetro de partícula que se encuentran entre los 11-120 μm . En la bibliografía encontramos resultados similares descritos en licuados vegetales de soja y almendra crudos, homogenizados convencionalmente y tratados mediante la tecnología de UHPH (Codina-Torrella et al., 2017; Cruz et al., 2007; Poliseli-Scopel et al., 2012; Valencia-Flores et al., 2013). A la par, se apreció un desplazamiento en las curvas de distribución de los caldos tratados por UHPH debido a la reducción del tamaño de partícula, concentrándose en la mayoría de los casos dentro del rango de menor diámetro de partículas, de forma que el 98% de las partículas poseen un diámetro $< 10 \mu\text{m}$ (Figura 5.3). Sin embargo, se apreciaron ciertas diferencias en la forma en función de la temperatura de entrada. Concretamente, en los caldos UHPH-45 y 55, la curva de distribución monomodal se caracterizó por tener un pico principal de mayor anchura y menor altura que en los tratamientos a $T_0 = 65$ y 75°C , que se convierten en curvas bimodal y trimodal, produciéndose una redefinición del pico principal, con mayor volumen de partículas bajo un mismo diámetro medio, y una cola de picos minoritarios compuesto por partículas de mayor diámetro, debido a la formación de agregados de partículas con mayor variabilidad de tamaños, y que se comentará en el parámetro $d_{4,3}$.

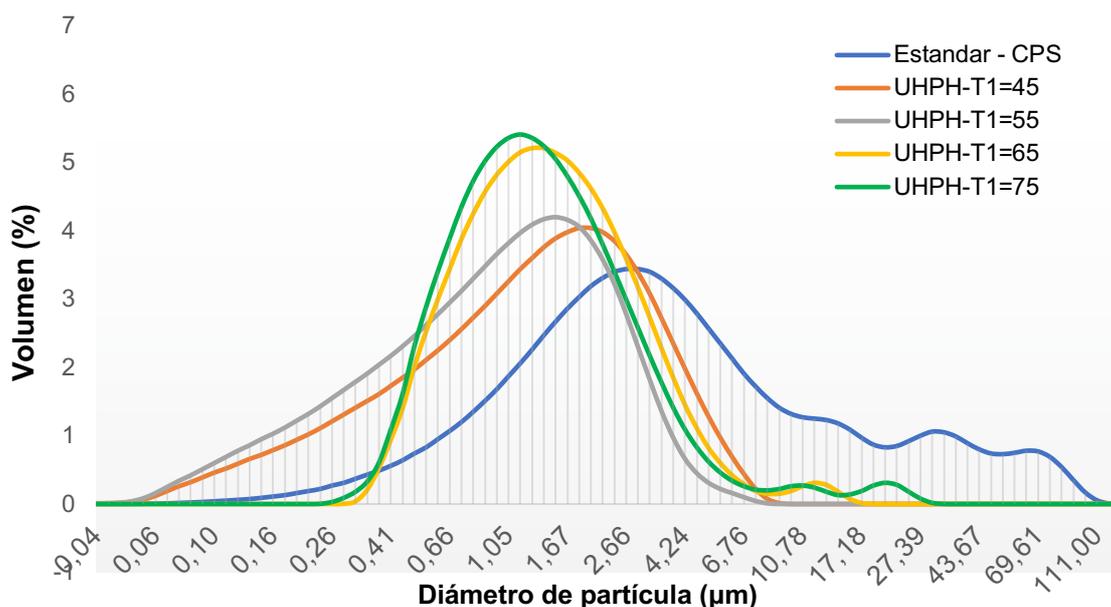


Figura 5.3. Distribución del tamaño de partículas de caldos de pescado estándar y tratados por UHPH diferentes temperaturas de entrada T_0 : 45,55, 65 y 75 °C.

En los caldos tratados por UHPH disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) los valores correspondientes a cada uno de los parámetros D_{50} , D_{90} , $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, (Tabla 5.2). En el caldo de pescado estándar los valores de los parámetros D_{50} y D_{90} fueron de $\sim 3,5$ y ~ 14 μm de diámetro, mientras que en los caldos tratados por UHPH no superaron los valores de 1,45 μm y 3,70 μm , respectivamente (Tabla 5.1). En comparación con el caldo CPS, la aplicación de los tratamientos UHPH redujeron significativamente ($p < 0,05$) el tamaño de las partículas en el producto, aunque los parámetros $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, aumentaron al incrementar la temperatura de entrada, especialmente a la temperatura de 65 y 75 °C, siendo el orden de menor a mayor tamaño UHPH-45=UHPH-55 < UHPH55=UHPH65 < CPS.

El incremento de la temperatura pudo causar una mayor desnaturalización de la proteína y un cambio conformacional de éstas, lo que implica una disminución de su solubilidad. En consecuencia, se establecen nuevas interacciones entre la proteína y las demás partículas en suspensión del producto, con la consiguiente formación de agregados de partículas y posiblemente minimizando la coalescencia entre gotas de grasa (Codina-Torrella et al., 2018, 2017; Cruz et al., 2007; Pereda et al., 2007; Poliseli-Scopel et al., 2012), debido a que la relación proteína/grasa es de sólo 0,65, valor insuficiente para evitar estos fenómenos (Poliseli-Scopel et al., 2012).

Tabla 5.2. Evaluación de los parámetros de tamaño de partícula (μm), en caldo de pescado control (CPS) y homogenizado a ultra alta presión a diferentes temperaturas de entrada (45,55, 65 y 75 °C).

Caldos	Parámetros de tamaño de partícula (μm) ¹			
	$d_{4,3}$	$d_{3,2}$	D ₅₀	D ₉₀
CPS	5,85 ± 0,17 ^d	1,17 ± 0,20 ^b	3,67 ± 0,11 ^b	14,85 ± 1,53 ^b
UHPH-45 °C	1,89 ± 0,13 ^b	0,65 ± 0,08 ^a	1,35 ± 0,24 ^a	3,70 ± 0,82 ^a
UHPH-55 °C	1,62 ± 0,07 ^a	0,53 ± 0,06 ^a	1,04 ± 0,37 ^a	3,10 ± 0,62 ^a
UHPH-65 °C	1,96 ± 0,04 ^{bc}	1,23 ± 0,01 ^b	1,45 ± 0,12 ^a	3,59 ± 0,51 ^a
UHPH-75 °C	2,10 ± 0,08 ^c	1,17 ± 0,03 ^b	1,35 ± 0,14 ^a	3,49 ± 0,20 ^a

¹ valores medios ± desviación estándar obtenidos de 3 experimentos independientes

D₅₀ = diámetro bajo el cual se encuentra el 50% del volumen de las partículas; D₉₀ = diámetro bajo el cual se encuentran el 90% de las partículas; $d_{3,2}$ = diámetro medio con relación al área de la superficie de las partículas; $d_{4,3}$ = diámetro medio en relación con el volumen de las partículas.

^{a-c}: Diferentes letras en una misma columna son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

5.2.3.2 Color

Con relación a los parámetros del color, en la Tabla 5.3 se muestran los valores del L*, a*, b* referentes al espacio de color CIELAB y el parámetro ΔE^* obtenidos en el caldo estándar-CPS y tras los tratamientos UHPH a diferentes temperaturas de entrada. Como se puede observar, el valor de luminosidad (L*) del caldo CPS control fue inferior (menos blanco) al obtenido en los caldos UHPH 65 y 75, diferencia que se mantiene en el parámetro b*, pero en este caso con valores superiores (más amarillo), mientras que en el valor a* se determinaron diferencias con todos los tratamientos UHPH, mostrando una mayor tendencia al rojo. Posiblemente, los ingredientes con componentes carotenoides agregados al caldo son los responsables de esta coloración. El betacaroteno derivado de la zanahoria confiere el tono amarillo-anaranjado mientras que la astaxantina de las cigalas, trígidos, escorpénidos y múlidos (pescado de roca) posiblemente contribuyó al tono rojo anaranjado (Venugopal and Gopakumar, 2017; Yanar et al., 2012).

Entre los distintos tratamientos UHPH, se apreció que la luminosidad aumentaba y el valor b*, disminuía gradualmente al aumentar la temperatura de entrada, aunque no se observaron diferencias en el valor a*. El incremento de luminosidad (L*) de los caldos UHPH al aumentar la temperatura de entrada se podría explicar, por el efecto de la homogenización de la grasa, que a la vez afecta a la tonalidad amarilla, y/o las partículas en suspensión del producto. Cuando la luz interacciona en la superficie de una emulsión, una parte de la luz incidente es refractada, mientras que el resto se transmite en la misma emulsión (Codina-Torrella et al., 2018). El efecto

de la UHPH en el color, y especialmente en la luminosidad, depende mucho de la matriz y del tratamiento UHPH, así mientras que en leche, horchata y en licuado de soja con tratamientos de variables de 200-300 MPa a temperaturas de entrada entre 20 y 85 °C (Amador-Espejo et al., 2014; Codina-Torrella et al., 2017; Pereda et al., 2007; Polisel Scopel, 2012), obtuvieron similares resultados, en otro estudio realizado con soja se produjo una disminución de la luminosidad (Cruz et al., 2007).

Tabla 5.3. Evaluación de los parámetros¹ de color L*, a*, b* y ΔE* dentro del espacio CIELAB, para muestras de caldo de pescado estándar y tratadas por UHPH.

Caldos¹	L	a*	b*	ΔE*²
CPS	48,43 ± 0,27 ^a	1,28 ± 0,23 ^b	15,25 ± 0,23 ^d	-
UHPH-45 °C	48,86 ± 0,57 ^a	-0,40 ± 0,03 ^a	14,89 ± 0,11 ^{cd}	1,76 ± 0,17 ^a
UHPH-55 °C	49,44 ± 0,54 ^{ab}	-0,23 ± 0,05 ^a	14,47 ± 0,10 ^{bc}	1,93 ± 0,28 ^{ba}
UHPH-65 °C	50,20 ± 0,56 ^{bc}	-0,24 ± 0,03 ^a	14,27 ± 0,12 ^b	2,48 ± 0,39 ^b
UHPH-75 °C	51,09 ± 0,15 ^c	-0,16 ± 0,05 ^a	13,43 ± 0,12 ^a	3,45 ± 0,11 ^c

¹: valores medios ± desviación estándar obtenidos de 3 experimentos independientes;

² ΔE*: se calculó tomando como referencia el caldo estándar CPS;

^{a-d}: diferentes letras en una misma columna son significativamente diferentes (p < 0,05)

Las diferencias determinadas entre el caldo CPS control y en los caldos UHPH en la luminosidad y en el valor b* se refleja en el parámetro ΔE*. Con este parámetro también se obtuvo una idea de cómo el tratamiento aplicado contribuyó al color global del producto. En comparación con el caldo CPS, las muestras homogenizadas a ultra alta presión con mayor temperatura de entrada fueron las más diferentes, siendo el orden de estas diferencias en T₀ 45°C = 55 ≤ 65 °C < 75 °C. En este estudio, el valor del parámetro ΔE* fue de 3,45 en el tratamiento UHPH-75, diferencias que según estudios realizados ya serían apreciables por el ojo humano (ΔE* > 3) (Francis and Clydesdale, 1975), como se demuestra en la Figura 5.4

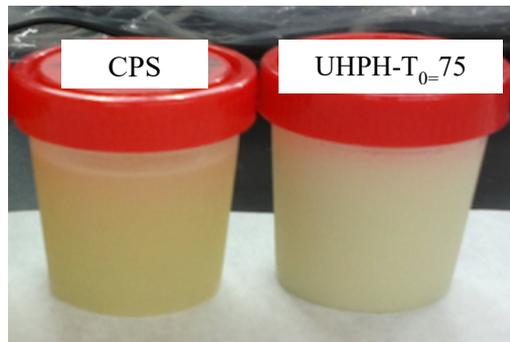


Figura 5.4. Imagen de la variación de color entre el caldo estándar-CPS y UHPH-T₀=75 °C a 300 MPa.

5.2.4 El efecto de la UHPH sobre el perfil organoléptico

Con el objetivo de valorar si en el tratamiento UHPH-75 se producían cambios perceptibles en la impresión general (grado de armonía con el que se percibe el conjunto del perfil olfato-gustativo), se utilizó una prueba triangular por similitud según la norma UNE-EN-ISO 4120:2008 (AENOR, 2010). De los 18 jueces solo 3, identificaron correctamente la diferencia. En este caso, se determinó que con un 90% de certeza, al menos un 10% de los consumidores serían capaces de detectar diferencias entre el caldo CPS y el caldo tratado por UHPH. Sin embargo, serían necesarias pruebas posteriores para identificación del atributo e intensidad de los parámetros.

5.3 Conclusión

La aplicación de tratamientos de homogenizado a ultra alta presión de 300 MPa con una temperatura de entrada de 75 °C permitió la obtención de un caldo de pescado microbiológicamente estéril, en el que se disminuyó de forma significativamente el tamaño de partícula, con mayor luminosidad y menor tonalidad amarilla, aunque con un valor ΔE^* muy elevado, que permiten diferenciarlo visualmente de caldo de pescado sin tratar. Sin embargo, si no se tiene en cuenta esta característica en la impresión general, no se apreciaron diferencias. En los otros tratamientos aplicados a temperaturas de entrada inferiores a 65 °C, se consiguió una reducción notable de la microbiota, especialmente a 55 y 65 °C, prolongando la vida útil del producto, aunque debe conservarse a temperaturas de refrigeración. En todos ellos, el tamaño de partícula se redujo notablemente, aumentando la luminosidad y disminuyendo el color amarillo al aumentar la temperatura.

CAPÍTULO 6

APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS UHPH EN CALDO DE PESCADO CON INTERÉS LA ESTERILIZACIÓN COMERCIAL

6 APLICACIÓN DE TRATAMIENTOS UHPH EN CALDO DE PESCADO CON INTERÉS LA ESTERILIZACIÓN COMERCIAL

6.1 Introducción

Una de las expectativas del consumidor en relación al consumo de alimentos es la adquisición de productos que presenten características nutricionales y organolépticas lo más parecidas a la elaboración artesanal, y que además mantenga sus características higiénico-sanitarias por periodos superiores a su análogo (Codina-Torrella et al., 2018). Dentro del perfil nutricional poblacional, también existe un interés de que se consuma pescado y productos derivados, por su valor nutritivo, asociada a la alta calidad de proteínas y lípidos presentes, en especial en cuanto a la composición de los ácidos grasos insaturados omega-3, EPA y DHA (Falch et al., 2010). También, la proteína de pescado es uno de los elementos apreciables en una dieta saludable (de Boer et al., 2020, FAO, 2020), que se puede utilizar como sustituto de la carne relativamente eficiente en los países que consumen mucha carne, porque causa menos presión ambiental que otros animales aptos para el consumo humano (Perignon et al., 2016). Una de las barreras más importantes para el consumo de pescado son el desagrado sensorial por el pescado, , la falta de confianza en la propia capacidad para seleccionar y preparar pescado por parte del consumidor, los riesgos para la salud, la falta de disponibilidad de pescado y los precios demasiado altos (Carlucci et al., 2015). El caldo de pescado puede ser un producto con el que pueden superar algunas de estas barreras, incorporando además productos y subproductos de bajo coste comercial, y pudiendo reaprovechar los residuos del propio caldo para incrementar su contenido proteico. Sin embargo, la composición de los caldos, pueden favorecer la rápida y alta inestabilidad del producto final por causas químicas, y microbianas, afectando a la calidad y durabilidad del alimento procesado, de forma que la tecnología aplicada a la conservación de alimentos como la UHPH puede proporcionar una similar efectividad a la esterilización comercial de productos similar al proceso homólogo UHT (Amador-Espejo et al., 2014; Poliseli-Scopel et al., 2014; Ferragut et al., 2015).

El presente estudio tiene como objetivo conocer el potencial de esta tecnología emergente (UHPH) para garantizar la estabilidad microbiológica y fisicoquímica con el objetivo de obtener productos estériles en dos tipos de caldo de pescado, el producto estándar (CPS) y de un segundo caldo al que se le añadió un concentrado proteico para incrementar el contenido en dicho componente (CPSP). Las condiciones de tratamiento UHPH seleccionadas, se basaron en los resultados obtenidos en el estudio preliminar (Capítulo 5). Se aplicaron tratamientos UHPH de 300 MPa y dos temperaturas de entrada de $T_0=75$ y 85 °C para el caldo de pescado estandarizado (CPS) y de $T_0= 85$ °C para el caldo con mayor contenido proteico (CPSP). En

todos los tratamientos la temperatura de salida del producto fue de $T_3=25\text{ }^\circ\text{C}$. En la comparativa con el tratamiento UHT, la determinación se realizó con caldo de pescado estándar evaluándose el efecto de dicho tras el tratamiento tecnológico. Posteriormente, las muestras tratadas mediante UHPH se conservaron a temperatura ambiente ($20\text{-}25\text{ }^\circ\text{C}$) durante 135 días. Los análisis se realizaron los días 1, 45, 90 y 135, en el caso de la estabilidad microbiológica se prolongó hasta los 210 días. Los parámetros evaluados fueron: el análisis microbiológico, el pH, la estabilidad física de la emulsión por Turbiscan, color, índice de peróxidos, TBARS y compuestos fluorescentes y análisis organoléptico. Además, se evaluó el perfil de los ácidos grasos para muestras de CPS durante 90 días, con analíticas efectuadas en los días 1, 45, 90 de almacenaje. Finalmente, también se realizó el análisis sensorial.

6.2 Resultados y discusión

6.2.1 Obtención del concentrado proteico y producción del caldo mayor contenido en proteína

Para el incremento de la concentración proteica de los caldos, se utilizaron 3 métodos de obtención de concentrado de proteínas a partir de los residuos de pescado propios del caldo. En los dos primeros se les realizó un secado, a $60\text{ y }80\text{ }^\circ\text{C}$, y el tercero un tamizado. En la Tabla 6.1, se observa el porcentaje de proteína alcanzado mediante los tres procesos de obtención del concentrado proteico de pescado y que se detalla en el apartado de material y métodos.

La proteína de los concentrados en los procesos 1 y 2 mediante secado, se encuentran dentro de los parámetros recomendados por [Bombardelli et al. \(2005\)](#), que mencionan que el concentrado proteico de pescado que se destine al consumo humano debería contener entre un 60-88% de proteínas y un 0,75% de lípidos y que clasificaría como de tipo A. En el caso que los valores sean de entre 70-75% de proteína y un 10 % de lípidos, se clasificarían como de tipo B, tomando la consideración de una harina de pescado y, por lo tanto, no apta consumo humano. Empleando métodos químicos, y no físicos como el utilizado en este estudio, [Vidal-campello et al. \(2021\)](#), obtuvieron mediante tres procesos de extracción un porcentaje de proteínas y lípidos superiores de un 87,36 y 3,28% en el método I, de un 88,76 y 9,49 % en el método II y de un 89,26 y 8,12% en el método III, respectivamente. El mejor rendimiento, se relaciona no sólo con la diferencia del método aplicado, sino también con las especies de pescado que se utilizaron como materia prima.

Al incorporarse, los concentrados de proteína al caldo de pescado base, en un nivel máximo aceptable de un 10% en alimentos, según [Bombardelli et al. \(2005\)](#), los caldos enriquecidos

con los concentrados obtenidos mediante el proceso 1 y 2 presentaron una menor concentración de proteína y de lípidos en el caldo final, en comparación al del proceso 3, motivo por el cual se optó por este método (Tabla 6.1).

Tabla 6.1. Determinación del contenido proteico en los concentrados proteicos de pescado obtenidos en el proceso 1, 2 (deseccación) y 3 (tamizado).

Procesos	Concentrado proteico de pescado (CPP)		Caldo con CPP (CPSP)
	Proteína %	Lípidos %	Proteína %
1 (60 °)	82,0 ± 0,83 ^a	0,72 ± 0,02 ^a	1,60 ± 0,23 ^a
2 (80 °C)	78,4 ± 1,06 ^b	0,93 ± 0,02 ^b	1,50 ± 0,12 ^a
3 (Tamizado)	8,0 ± 1,66 ^c	2,70 ± 0,03 ^c	2,11 ± 0,33 ^b

^{a-c}: Diferentes letras en una misma columna son significativamente diferentes (p <0,05)

Se debe comentar que tras la elaboración del caldo CPSP se observó visualmente que debido a la adición de proteínas musculares del pescado se produjo una alteración en el color del caldo de pescado, mostrando una tonalidad demasiado blanca, que se acentuó tras los tratamientos UHPH. Por lo que, se optó para la mejora visual del caldo adicionar 20 g de vegetales obtenidos del proceso de elaboración del caldo en el momento que se realizaba la trituration del pescado cocido recuperado. Los vegetales contuvieron preferentemente zanahoria y puerro. Con dicha adición se mejoró la tonalidad del caldo de pescado CPSP (Figura 6.1).

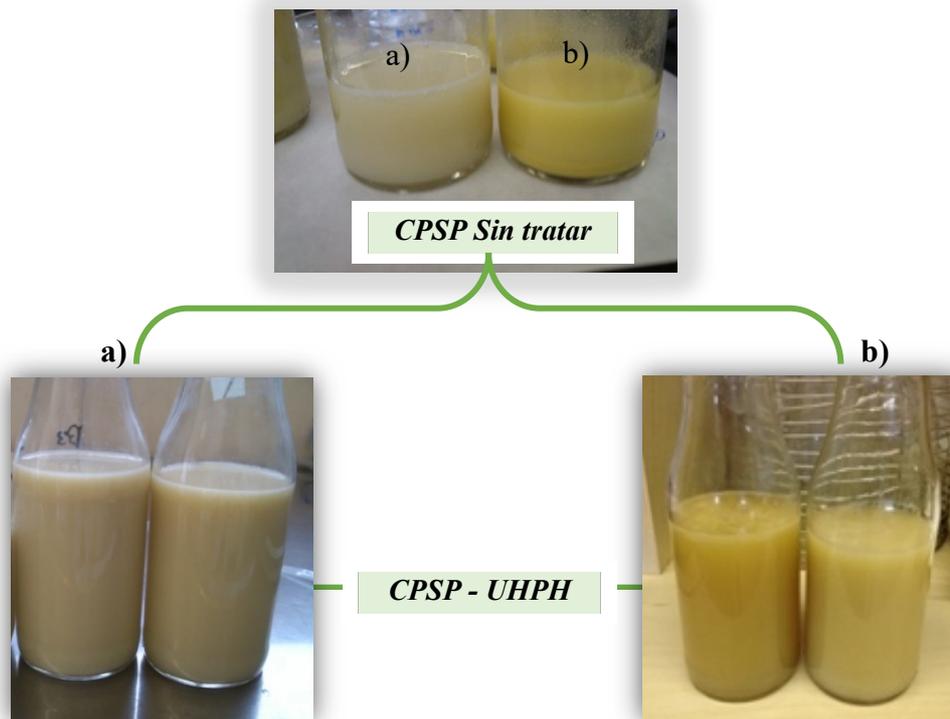


Figura 6.1. Cambio de color en caldos con mayor contenido en proteína CPSP tras la elaboración y tratamiento UHPH. a) Imagen del caldo sin incorporación de vegetales y b) imágenes del caldo con adición de vegetales.

6.2.2 Control de proceso de la ultra alta presión de homogenización

En la Tabla 6.2 se muestra los valores de temperaturas en las diferentes etapas del tratamiento UHPH. Como se puede observar, a una misma temperatura de entrada $T_0 = 85\text{ }^{\circ}\text{C}$, en el caldo con mayor contenido en proteína (CPSP) la temperatura tras pasar la válvula de homogeneización fue de $T_{2=} 137\text{ }^{\circ}\text{C}$, superior a la alcanzada el caldo estándar (CPS) que fue $T_{2=} 135\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posiblemente, dicha diferencia puede ser atribuida a la diferencia tanto en el contenido de proteína como de lípidos, ya que dicha temperatura se ve condicionada por diversos factores, como los relacionados con la constitución del alimento que son variables que amplifican el efecto de las fuerzas resultantes sobre el producto base (Middelberg, 1995; Tesch et al., 2003).

Tabla 6.2. Registro de las temperaturas durante tratamiento UHPH a 300MPa a diferentes temperaturas de entrada del caldo de pescado estándar CPS y con mayor contenido en proteína CPSP.

Temperaturas registradas en los tratamientos UHPH (°C)¹			
Entrada (T₀)	Antes de la válvula de alta presión (T₁)	Después de la válvula UHPH (T₂)	Salida (T₃)
<i>CPS UHPH 75 °C</i>	75,31 ± 0,58	128,33 ± 0,56	24,00 ± 1,00
<i>CPS UHPH 85 °C</i>	85,00 ± 0,78	134,67 ± 0,53	24,67 ± 0,58
<i>CPSP UHPH 85 °C</i>	85,10 ± 0,61	137,00 ± 1,10	26,67 ± 1,53

¹: valores medios ± desviación estándar obtenidos de 3 experimentos independientes.

6.2.3 Estabilidad microbiológica y pH

El recuento microbiológico realizado tras el proceso de cocción y tratamiento UHPH (75 y/o 85 °C) en muestras de CPS y CPSP estuvieron por debajo del límite de detección (< 1 ufc/mL) para los parámetros de microorganismos aerobios y anaerobios mesófilos, esporas aerobias mesófilas y enterobacterias. Estos resultados demuestran la eficacia del proceso de cocción en la reducción de la microbiota propia, aunque al realizar la prueba de esterilidad tras la incubación a 30 y 55 °C durante 21 y 15 días, respectivamente, en ambas muestras de caldo CPS y CPSP sin tratar se determinó crecimiento microbiano posiblemente asociado a la presencia residual de microbiota esporulada. Sin embargo, todas las muestras de caldo tratadas mediante UHPH, CPS y CPSP, se mantuvieron microbiológicamente estables, es decir, sin crecimiento microbiano, tras la prueba de esterilidad y durante el periodo de estudio de 135 días de almacenamiento, que se prolongó hasta los 210 días. Estos resultados coinciden con lo ya observado en el estudio preliminar (Capítulo 5), así como con los resultados de otros autores en diversas matrices alimentaria, como en leche de vaca a una temperatura de entrada igual o superior a 75 °C (Amador-Espejo et al., 2014), licuado de soja a 75 °C (Poliseli-Scopel et al., 2012; Ferragut et al., 2015), y licuado de almendra a 65 °C (Valencia-Flores et al., 2013). Como ya se comentó en el anterior capítulo, esta efectividad se asocia a la acción combinada de las fuerzas físicas ocurrentes en la válvula de homogenización (fricción cavitación, turbulencia, entre otras), al calentamiento adiabático generado, así como, al incremento de temperatura alcanzado al paso por la válvula de homogenización (T₂) durante un tiempo reducido (< 0.5 s) (Poliseli-Scopel et al., 2012; Valencia-Flores et al., 2013; Amador-Espejo et al., 2014). Recientemente, Loira et al. (2018) consiguieron el mismo efecto en una matriz ácida como el mosto, aplicando tratamientos UHPH a 300 MPa con T₀=20 °C que alcanzó una temperatura tras la válvula de T₂= 98 °C con un tiempo de 0,02 s, partiendo en este caso de un

recuento de mohos y levaduras de 6 log ufc/mL y de bacterias nativas de cerca de 4 log ufc/mL, no apreciándose que la muestra fermentara tras mantenerla 8 días a 18 °C.

Diferentes autores han investigado el potencial del tratamiento UHPH para la inactivación de esporas de patógenos inoculados en productos estériles, mencionando que entre las características favorables para la inactivación microbiana está la adecuada combinación de presiones y temperaturas de entrada, las características del equipo, el aumento del número de pases de homogenización, el tipo de microorganismos presentes y la matriz alimenticia (Diels et al., 2005; Briñez et al., 2007; Donsì et al., 2009; Roig-Sagués et al., 2009, 2015; Saucedo-Gálvez et al., 2019; Velázquez-Estrada et al., 2020; Zhang et al., 2021). De todas maneras, la inocuidad del del caldo de pescado relacionada con la esterilidad comercial debería ser comprobada mediante estudios de *Challenge test*, inoculando *C. botulinum* proteolítico o un microorganismo esporulado con similar comportamiento como *C. sporogenes* (NACMF, 2010)

Respecto al pH, y coincidiendo con la estabilidad microbiológica, se observó que el pH inicial los valores de pH fueron muy similares, siendo en los caldos UHT de $6,13 \pm 0,12$, en los caldos CPS UHPH a $T_0= 75$ y 85 °C de $6,14 \pm 0,10$ y en los caldos CPSP UHPH $T_0= 85$ °C de $6,36 \pm 0,07$. Durante la vida útil de 135 días los caldos UHPH de T_0 75 y 85 °C tuvieron una ligera variación de $\sim 0,2$ unidades y $\sim 0,4$, respectivamente, aunque no estadísticamente significativa. Resultados similares en la medición del pH, sin apreciar cambios significativos ($p > 0,05$), se obtuvieron por Poliseli-Scopel et al. (2014), en la evaluación de la vida útil de 180 días del licuado de soja tratado a 300 MPa con $T_0=75$ °C y envasado asépticamente.

6.2.4 Estabilidad fisicoquímica

6.2.4.1 *Composición química de caldos CPS y CPSP tratados por UHPH*

6.2.4.1.1 Análisis composicional

En la Tabla 6.3 se muestra los resultados del análisis composicional de los caldos CPS y CPSP sin tratar y una vez tratados con tratamientos, UHT, UHPH de 300 MPa a una temperatura de entrada de 75 y/o 85 °C. Como se comentó anteriormente, en los caldos CPSP se consiguió doblar la concentración de proteína. En relación con el efecto de los tratamientos UHT y UHPH se observó una ligera disminución en los diversos componentes, aunque no se apreciaron cambios significativos ($p < 0,05$), en los de mayor relevancia como son el contenido de proteína, lípidos y materia seca. Durante su almacenamiento durante 135 días a temperatura

ambiente, la concentración de los diferentes componentes fue muy similar en el caso de los productos tratados mediante UHPH (datos no mostrados).

Tabla 6.3. La composición química del caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteína (CPSP) antes y tras el tratamiento UHT y UHPH a 300 MPa a temperaturas de entrada de T₀ de 75 y/o 85 °C.

Caldo	Parámetros determinados ¹ en g/100 mL de caldo				
	Proteína	Lípidos	Cenizas	Materia seca	
CSP	<i>Sin tratar</i>	1,02 ^a ± 0,16	1,11 ^a ± 0,23	1,05 ^a ± 0,06	2,89 ^a ± 0,44
	<i>UHT</i>	0,99 ^a ± 0,13	1,06 ^a ± 0,16	0,92 ^a ± 0,05	2,80 ^a ± 0,30
	<i>UHPH 75 °C</i>	0,97 ^a ± 0,18	1,04 ^a ± 0,24	0,93 ^a ± 0,04	2,75 ^a ± 0,38
	<i>UHPH 85 °C</i>	0,99 ^a ± 0,15	1,07 ^a ± 0,17	0,96 ^a ± 0,04	2,77 ^a ± 0,35
CPSP	<i>Sin tratar</i>	2,06 ^b ± 0,12	1,52 ^b ± 0,14	1,65 ^c ± 0,01	5,25 ^b ± 0,26
	<i>CPSP UHPH 85 °C</i>	1,92 ^b ± 0,13	1,41 ^b ± 0,15	1,46 ^b ± 0,01	4,97 ^b ± 0,21

¹ Media ± desviación estándar de tres replicados analíticos.

^{a-c}: Diferentes superíndices (letras minúsculas) en la misma columna de datos indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los caldos.

6.2.4.1.2 Determinación del perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos se realizó únicamente en el caldo estándar de pescado (CPS), determinándose en el caldo sin tratar, así como en los tratados a 300 MPa con T₀ de 75 y 85°C, así como su evolución en los días 0, 45 y 90. Los resultados detallados del caldo sin tratar y justo después de ser tratados se presentan en la Tabla 6.4, mientras que la evolución de los principales ácidos grasos hasta los 90 días se presenta en la Figura 6.2.

Como se puede observar en la Tabla 6.4, no se apreciaron diferencias significativas en cuanto a la composición de los ácidos grasos entre las muestras no tratadas y las sometidas a UHPH T₀= 75 y 85 °C. Resultados similares se obtuvieron por Rodríguez-Alcalá et al.(2009), tras el tratamiento de leche de rumiantes (vaca, oveja y cabra) en el intervalo de presión de 50 a 350 MPa con T₀= 10 °C, donde el contenido de ácidos grasos y el perfil de isómeros de CLA (ácido linoleico conjugado). Tampoco, Ferragut et al. (2015) encontraron diferencias en el perfil de los ácidos grasos en bebida de soja y almendra tras tratamientos equiparables a la pasteurización UHPH 200 Mpa con T₀= 5 °C, y de esterilización comercial a 300 MPa con T₀= 75 °C.

En los caldos del presente estudio, tratados y sin tratar, los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP) se encuentran distribuidos en el orden siguiente AGP < AGS < AGM con un contenido relativo alrededor del 14%, 20% y 66%,

respectivamente. Cuantitativamente el ácido palmítico (C16:0) y el ácido esteárico (C18:0) constituyen los principales entre los AGS, el ácido oleico (C18:1 n9), seguido del ácido vaccénico (C18:1 n7) y ácido palmitoleico (C16:1 n7) para los AGM, y el ácido linoleico (C18:2 n6), el DHA (C22:6 n3) y el EPA (C20:5 n3) son los principales para los AGP. Dicho perfil es muy similar al obtenido por de Castro et al. (2007) en un estudio durante el almacenamiento de pescado cocido. El porcentaje alto determinado en nuestro estudio de los ácidos oleico, palmítico y linoleico encontrados se relacionan tanto con las especies de pescado incorporados, evidenciado por la presencia de EPA y DHA, cuya única fuente son los alimentos marinos (Nollet y Toldra, 2010b), como del aceite vegetal que forma parte del proceso de elaboración del caldo.

Durante el periodo de conservación a temperatura ambiente, el perfil de ácidos grasos se mantuvo estable en los principales ácidos grasos del caldo de pescado. En el día 45 se apreciaron, ligeras variaciones en el ácido eicosapentanoico (C20 :5 n3) en el caldo CPS-UHPH $T_0=85$ °C, aunque no fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Figura 6.2).

Tabla 6.4. Perfil de ácidos grasos del caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteína (CPSP) antes y tras el tratamiento UHPH a 300 MPa a temperaturas de entrada de T₀ de 75 y/o 85 °C.

Ácidos grasos	<i>CPS sin tratar</i>	<i>CPS UHPH 75 °C</i>	<i>CPS UHPH 75 °C</i>
C14:0	0,66 ± 0,20	0,44 ± 0,09	0,77 ± 0,05
C15:0	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,04	0,18 ± 0,07
C16:0	14,26 ± 0,42	14,64 ± 1,04	15,08 ± 0,52
C17:0	0,22 ± 0,01	0,21 ± 0,10	0,24 ± 0,02
C18:0	3,34 ± 0,08	3,57 ± 0,39	3,49 ± 0,12
C20:0	0,42 ± 0,02	0,44 ± 0,08	0,43 ± 0,01
C22:0	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,02
C16:1 n7	2,40 ± 0,40	2,29 ± 0,53	2,70 ± 0,08
C18:1 n9	59,51 ± 1,87	60,76 ± 1,17	60,55 ± 1,55
C18:1 n7	2,81 ± 0,12	2,91 ± 0,18	2,85 ± 0,08
C20:1 n9	0,49 ± 0,09	0,40 ± 0,08	0,34 ± 0,02
C20:1 n11	0,56 ± 0,12	0,60 ± 0,08	0,54 ± 0,02
C24:1 n9	0,16 ± 0,02	0,32 ± 0,06	0,15 ± 0,09
C18:2 n6	9,08 ± 0,47	7,92 ± 1,56	8,06 ± 0,74
C18:3 n3	0,61 ± 0,02	0,39 ± 0,15	0,48 ± 0,09
C18:4 n3	0,26 ± 0,01	0,40 ± 0,15	0,38 ± 0,06
C20:4 n6	0,22 ± 0,05	0,20 ± 0,08	0,16 ± 0,09
C20:5 n3	1,15 ± 0,51	,95 ± 0,18	0,93 ± 0,46
C22:5 n3	0,36 ± 0,08	0,18 ± 0,06	0,22 ± 0,10
C22:6 n3	2,57 ± 0,67	1,79 ± 0,54	1,84 ± 0,92
AGS	19,19 ± 0,63	19,60 ± 1,70	20,34 ± 0,68
AGM	65,93 ± 1,37	67,28 ± 1,28	67,13 ± 1,75
AGP	14,24 ± 0,76	11,83 ± 2,52	12,07 ± 2,43
Σn-3	5,24 ± 1,18	2,70 ± 0,99	3,84 ± 1,61
Σn-6	9,30 ± 0,43	8,13 ± 1,64	8,22 ± 0,82
n-3/n-6	0,56	0,33	0,46

AGS: ácidos grasos saturados, AGM: ácidos grasos monoinsaturados y AGP: ácidos grasos poliinsaturados

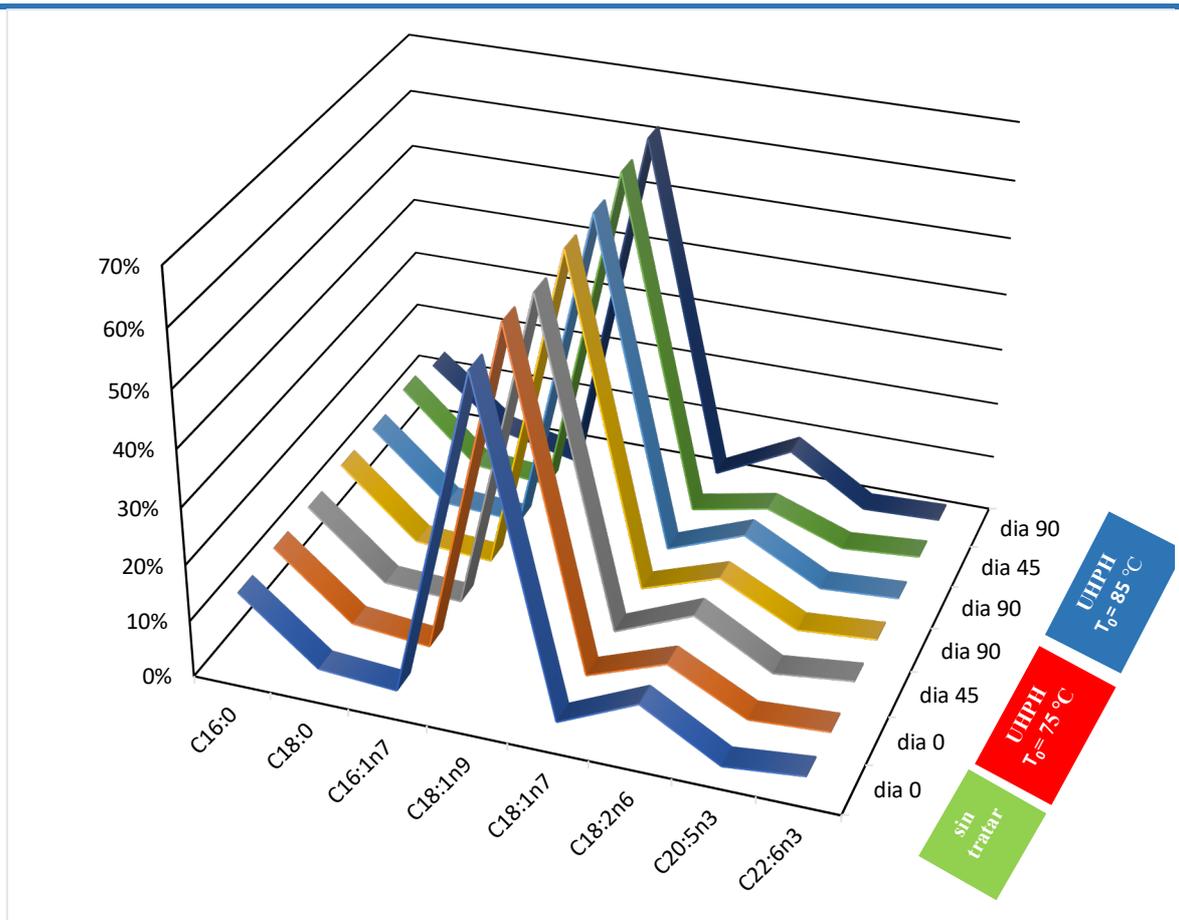


Figura 6.2. Evolución en el porcentaje de los ácidos grasos principales presentes en el caldo de pescado estandarizado (sin tratar) y tras tratamiento UHPH temperaturas de entrada (T_0) de 75 y 85 °C durante su conservación durante 90 días.

6.2.4.1.3 El valor nutricional de los caldos de pescado

La composición en proteínas, lípidos y ácidos grasos del caldo CPS es un buen reflejo del pescado incorporado con especies calificadas de magras y semigrasas, con < 1% y entre 1-10% de lípidos corporales, respectivamente (Soriguer et al., 1997; Nunes et al., 2011). Por lo tanto, la utilización del pescado entero y subproductos infrautilizados tiene como ventaja el aprovechamiento de estas fuentes lipídicas (Aubourg, 2010; Grigorakis, 2011).

La Agencia Española de seguridad alimentaria y nutrición, AECOSAN (2019), en referencia al Reglamento (CE) N° 1924/2006 (UE, 2006), hace mención que para establecer las declaraciones nutricionales autorizadas en un producto alimentario, como condición para que se declare que un alimento es fuente de proteína es necesario que aporten como mínimo el 12 % del valor energético del alimento, aspecto que cumple tanto el caldo CPS y CPSP con un valor superior al 20%. Además, la mención de mayor contenido en un nutriente, en este caso de proteína del caldo CPSP debe cumplir que dicho incremento sea de como mínimo un el 30

% en comparación con un producto similar, siempre que el producto cumpla las condiciones previstas para la declaración “fuente de”, requisito que se cumple en dicho caldo.

Por otra, parte en el caso de la mención de un alto contenido de grasas insaturadas, el requisito es que al menos un 70 % de los ácidos grasos presentes en el producto procedan de grasas insaturadas y las grasas insaturadas aporten más del 20 % del valor energético del producto, hecho que, en caldo de pescado estandarizado, lo cumple pues supone alrededor de un 80% de los ácidos grasos presentes en el producto tratado por UHPH, aportando cerca de un 60 % de valor energético del producto.

Entre los objetivos nutricionales para la población española es de especial relevancia la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Además, se ha descrito que, los AGM deberían suponer alrededor del 50% de la grasa total ingerida. Por otra parte, para juzgar la calidad de la grasa, la fracción de AGP+AG /AGS debe ser superior o igual a 2 y la AGP/AGS superior o igual a 0,5 (SENC, 2011; AESAN, 2012; Moreiras Tuni et al., 2015). En el caldo de pescado estándar tratado mediante UHPH el contenido de AGM fue de aproximadamente de un 66%, la relación AGP+AGM/AGS fue de 4.2, y la relación de AGP/AGS de 0,74, lo que demuestra la buena calidad de grasa en el producto elaborado.

6.2.5 Degradación lipídica

Los procedimientos de cocción promueven una cascada de reacciones fisicoquímicas adversas, entre las cuales la oxidación de lípidos es una de las más pronunciadas. A la peroxidación lipídica primaria le siguen una serie de transformaciones químicas, incluida la descomposición de los hidroperóxidos y la formación de una amplia gama de productos secundarios de oxidación lipídica, incluidas las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) y los compuestos volátiles, que imparten sabores desagradables a productos que tienen como base pescado (Aubourg, 2010). Tanto la temperatura como el tiempo de cocción tienen un efecto sobre las reacciones de oxidación de lípidos en los productos pesqueros (Cropotova, Mozuraityte, Standal y Rustad, 2019).

La degradación de lípidos generalmente se ha evaluado mediante métodos de análisis convencionales que se centran en la detección de los productos de oxidación primarios (hidroperóxidos, dienos conjugados, etc.) y secundarios (TBARS, etc.) Sin embargo, también se ha demostrado que ambos tipos de productos de oxidación de lípidos pueden reaccionar con

otros constituyentes de los alimentos (fosfolípidos, aminoácidos libres, péptidos, etc.) para producir compuestos fluorescentes (Aubourg, 1999). Los lípidos y las grasas oxidados emiten luz en la región ultravioleta cercana. Esta autofluorescencia específica se ha estudiado principalmente espectrofotométricamente para estimar la tasa de oxidación de los alimentos que contienen lípidos poliinsaturados. Por lo tanto, la investigación de dichas estructuras de interacción mediante métodos de espectrometría de fluorescencia se ha convertido en una herramienta complementaria para la estimación de la oxidación de lípidos (Aubourg, 1998 y 1999; Cropotova, Mozuraityte, Standal y Rustad, 2019)

En la Tabla 6.5 se muestran los resultados de los parámetros de degradación lipídica, como son los ácidos grasos libres, índice de peróxidos, TBARS (sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico) y los compuestos fluorescentes en la fase acuosa y orgánica en el caldo de pescado estándar (CPS) y con contenido mayor en proteína (CPSP). Al evaluar el efecto en dichos parámetros tras el tratamiento UHT y los diferentes tratamientos UHPH, no se apreciaron diferencias estadísticas en el contenido de ácidos grasos libres y en el índice de peróxido entre los caldos sin tratar, ni en función del tratamiento aplicado. Sin embargo, en el caso de los parámetros TBARS y fluorescencia en la fase acuosa, se observó que se produjo un aumento significativo ($p < 0,05$) en el caldo de pescado CPSP, lo que implica que en esta fase inicial ya se produce una mayor formación de compuestos secundarios, y sobre todo terciarios de la oxidación posiblemente debido a una mayor interacción de los compuestos amino de las proteínas con los compuestos derivados de la oxidación lipídica, ya iniciada en el proceso de ebullición del caldo de pescado. Debido a estas diferencias entre los caldos sin tratar, se apreciaron diferencias estadísticas entre los resultados obtenidos entre el CPS tratado mediante UHT y UHPH, respecto al caldo CPSPS tratado mediante UHPH. En los caldos de pescado estandarizado sólo se obtuvieron diferencias estadísticas en los parámetros de degradación lipídica en el parámetro TBARS en el caldo CPS con tratamiento UHPH a T_0 75 °C que fue significativamente menor y en el caldo CPS con tratamiento UHPH a T_0 85 °C en la relación de los compuestos fluorescentes orgánicos, que fue significativamente superior.

Durante la vida útil, también se observaron diferencias asociadas al contenido de proteínas de los caldos, especialmente en el contenido de ácidos grasos libres, índice de peróxidos y TBARS. Así, mientras en el caldo CPSPS tratado con UHPH T_0 85 °C, los valores de los tres parámetros se mantuvieron estables durante su conservación a temperatura ambiente durante los 135 días, en el caldo CPS, en ambos tratamientos UHPH, mostraron una evolución gradual ascendente llegando a su máximo el día 135 ($p < 0,05$) en el caso de los AGL e índice de

peróxidos, y en TBARS, si bien aumenta significativamente en los primeros 45 días, posteriormente los valores disminuyeron manteniéndose constantes en los días 90 y 135.

La evolución variable de los compuestos primarios y secundarios de la oxidación se vio reflejada en ambos caldos en un aumento durante la vida útil pero especialmente en el día 45, de los compuestos fluorescentes en la fracción acuosa, aunque también en la orgánica, posiblemente debido a que ambos tipos de productos de oxidación de lípidos pueden reaccionar con otros constituyentes de los alimentos para producir compuestos fluorescentes. Ello ratifica la teoría general sobre la formación de compuestos fluorescentes como resultado de la interacción entre compuestos de carbonilo (moléculas electrofílicas), formados durante la oxidación de lípidos, y compuestos de aminos libres (moléculas nucleofílicas) (Aubourg, 1999), que estarían presentes en este caso en el caldo de pescado. Además, en ambos caldos, independientemente de tratamiento aplicado, se observó una disminución significativa con relación al día 0, en la relación de compuestos fluorescentes de la fracción orgánica y acuosa, asociada al mayor incremento, ya en el día 45 de los compuestos de la fracción acuosa.

Diferentes autores han observado en licuados vegetales que el proceso de UHPH favorece la formación de compuestos indicadores de las reacciones primarias de oxidación de la grasa, en comparación con el producto crudo o bien el licuado homogenizado convencionalmente, debido a la mayor superficie que se genera con este proceso al aumentar el número de gotas en dispersión (Poliseli-Scopel, 2012; Valencia-Flores et al., 2013). En otras matrices alimentarias como la leche, Pereda et al. (2008) observaron una menor susceptibilidad a la oxidación de la grasa del producto UHPH, probablemente debido a la suficiente cantidad de caseína existente para el recubrimiento de las nuevas gotas de grasa formadas (Pereda, 2008). El proceso de homogenización suele tener una repercusión directa en el incremento del grado de oxidación de la grasa del producto. Con la homogenización, el tamaño de las gotas de grasa reduce, por lo que incrementa el número total de gotas en suspensión y, en consecuencia, la superficie total de grasa expuesta a los fenómenos de oxidación, siendo mayor este proceso al incrementar la presión o temperatura de entrada en los procesos UHPH (Codina-Torrella et al., 2017).

Tabla 6.5. Determinación del daño lipídico tras la cocción y tras el tratamiento UHPH a T0 75 y/o 85 °C de caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido proteico (CPSP), y tras su posterior conservación durante 135 días a temperatura ambiente (20 – 25°C).

Formulaciones de Caldos ¹		Día	Parámetros evaluados ¹					
			AGL [*]	Índice de peróxido	TBARs	δ F3/F1 aq	δF3/F1 org	δ Forg/Faq
CPS	Sin tratar	0	3,92 ^X ± 0,74	0,27 ^X ± 0,16	0,85 ^{XY} ± 0,04	7,54 ^X ± 0,76	1,75 ^X ± 0,09	0,24 ^X ± 0,03
	UHT	0	3,90 ^X ± 0,63	0,29 ^x ± 0,07	0,91 ^y ± 0,09	7,93 ^X ± 0,55	1,88 ^X ± 0,11	0,24 ^X ± 0,02
	UHPH 75 °C	0	3,46 ^{aX} ± 0,44	0,22 ^{aX} ± 0,02	0,69 ^{ax} ± 0,04	7,03 ^{aX} ± 1,31	1,97 ^{aX} ± 0,12	0,28 ^{cXY} ± 0,04
		45	3,72 ^a ± 0,14	0,42 ^b ± 0,11	0,99 ^b ± 0,09	29,06 ^c ± 1,20	3,27 ^b ± 0,56	0,11 ^a ± 0,02
		90	4,06 ^a ± 0,90	0,44 ^b ± 0,13	0,77 ^a ± 0,04	23,40 ^b ± 1,46	4,60 ^c ± 0,44	0,19 ^b ± 0,02
		135	5,49 ^b ± 0,30	0,61 ^c ± 0,05	0,71 ^a ± 0,04	31,31 ^c ± 1,46	4,67 ^c ± 0,36	0,15 ^a ± 0,01
	UHPH 85 °C	0	3,40 ^{aX} ± 0,23	0,30 ^{aX} ± 0,01	0,78 ^{axy} ± 0,06	7,63 ^{aX} ± 0,57	2,49 ^{aY} ± 0,32	0,33 ^{bY} ± 0,07
		45	4,29 ^{ab} ± 0,58	0,64 ^b ± 0,09	1,06 ^b ± 0,07	42,18 ^d ± 2,71	3,26 ^a ± 0,31	0,07 ^a ± 0,02
		90	4,57 ^{ab} ± 0,41	0,70 ^b ± 0,30	0,76 ^a ± 0,05	29,82 ^b ± 1,81	4,67 ^b ± 0,34	0,16 ^a ± 0,02
		135	5,28 ^b ± 1,19	0,91 ^b ± 0,21	0,71 ^a ± 0,04	38,55 ^c ± 1,10	4,80 ^b ± 0,60	0,13 ^a ± 0,02
CPSP	Sin tratar	0	2,75 ^X ± 0,17	0,27 ^X ± 0,15	3,13 ^x ± 0,12	10,71 ^X ± 0,73	2,03 ^{aX} ± 0,56	0,19 ^X ± 0,02
	UHPH 85 °C	0	3,52 ^{aX} ± 0,19	0,39 ^{aY} ± 0,01	3,87 ^{aY} ± 0,21	10,23 ^{aX} ± 1,53	2,62 ^{aX} ± 0,23	0,26 ^{bY} ± 0,02
		45	3,22 ^a ± 0,21	0,39 ^a ± 0,05	4,41 ^a ± 0,40	47,63 ^c ± 2,21	5,59 ^c ± 0,88	0,11 ^a ± 0,01
		90	2,89 ^a ± 0,31	0,43 ^a ± 0,05	4,38 ^a ± 0,34	33,75 ^b ± 1,81	4,10 ^b ± 0,67	0,12 ^a ± 0,02
		135	2,90 ^a ± 0,52	0,37 ^a ± 0,02	3,82 ^a ± 0,34	44,78 ^c ± 2,12	5,63 ^c ± 0,51	0,13 ^a ± 0,01

AGL (Ácidos grasos libres, g AGL/100 g grasa), valor peróxido (meq de O₂/kg grasa), TBA (sustancias reactiva con ácido tiobarbitúrico, mg de malondialdehído/L de caldo), δFaq (cambio de fluorescencia en fase acuosa), δForg (cambio de fluorescencia en fase orgánica).

¹Media ± desviación estándar de tres replicados analíticos

^{a-c}: Diferentes superíndices en la misma columna de datos indican diferencias significativas (P < 0,05) durante el almacenaje

^{x-z} diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0,05) entre tratamientos al día 0.

6.2.6 Estabilidad física de los caldos de pescado

6.2.6.1 Estabilidad coloidal

En el caldo de pescado coexisten un gran número de partículas diferentes, por lo que su estabilidad durante la vida útil se verá condicionada por la interacción entre estas partículas. La baja relación entre el contenido en grasa y proteína y la baja densidad del producto favorecerán la migración de estas partículas hacia la superficie o base del envase, por lo que es frecuente observar en estos caldos la aparición de dos fenómenos de desestabilización coloidal principales: la sedimentación y el cremado de las partículas en suspensión. Por todo ello, es importante para la industria optimizar la estabilidad coloidal de estos productos después de su elaboración y durante su vida comercial, para satisfacer la demanda de un consumidor.

El estudio de la distribución del tamaño de partícula de los caldos de pescado obtenidos tras el momento de producción del caldo de pescado estándar (CPS) tras los tratamientos UHPH a 300 MPa con temperaturas de entrada T_0 de 75 y 85 °C y UHT, así como de los caldos con mayor contenido en proteínas (CPSP) tratado con UHPH a T_0 de 85 °C se realizó mediante el análisis de las curvas de distribución de tamaño de partícula y la evaluación de los parámetros D_{50} , D_{90} , $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, que se presentan en la Figura 6.3 y la Tabla 6.6.

El caldo estándar-CPS tratados con UHPH a ambas temperaturas de entrada presentaron la distribución polidispersa, de tipo bimodal con un pico principal entre 0 y 7 μm de diámetro, en el que se concentraron el 90% de partículas, llegando a un máximo en el diámetro de partícula de entre 11 y 22 μm , apreciándose un desplazamiento de la curva hacia la izquierda, con una fracción importante de partículas entre 0 y 0,5 μm . En los caldos tratados por UHT y en el caldo CPS sin tratar, la curva tuvo un aspecto monomodal, con un pico principal que osciló 0 y 14 μm , en el que se concentraron el 90% de partículas. En el caso del caldo tratado por UHT también se observó un cierto desplazamiento hacia la izquierda, que no fue tan evidente en los caldos de pescado sin tratar. En ambos casos, el volumen de partículas bajo un mismo diámetro medio fue mayor, con una cola de picos minoritarios compuesto por partículas de mayor diámetro, debido a la formación de agregados de partículas con mayor variabilidad de tamaños, y que se comentará en el parámetro $d_{4,3}$.

En los caldos con mayor contenido en proteína, se evidenció el efecto del tratamiento UHPH en el tamaño de partícula, con un comportamiento prácticamente monomodal con una curva baja y ancha, cuyo pico principal de 0 y 9 μm en el que concentraron el 90% de partículas,

mientras que en el caldo sin tratar se apreciaron dos picos, concentrándose en el 90% de las partículas, aquellas con un tamaño inferior a 24 μm . En ambos casos, una fracción de las partículas llegaron a tener un tamaño superior a 100 μm , siendo más notable en el caldo CPSP sin tratar en los que la formación de agregados proteicos ($d_{4,3}$) fueron considerables, mientras que en el tratado UHPH presentó una cola de picos minoritarios compuesto por partículas de mayor diámetro.

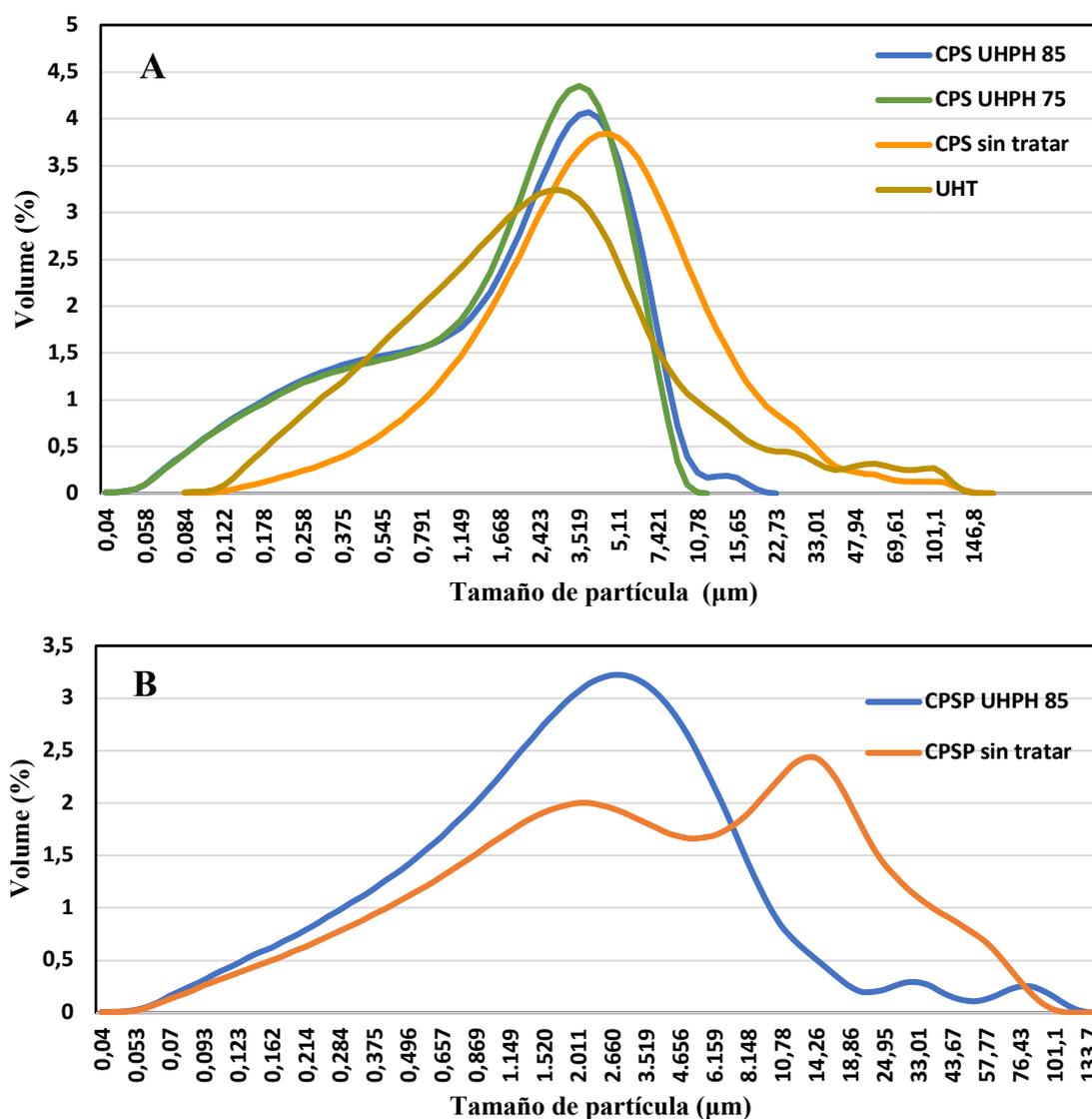


Figura 6.3. Distribución del tamaño de partículas de caldos de pescado estándar CPS (A) sin tratar y tratados por UHPH a $T_0=75$ y 85°C y tratado por UHT, (B) caldo de pescado con mayor contenido en proteína sin tratar y tratado UHPH a $T_0=85^\circ\text{C}$.

Si bien no se apreciaron diferencias en los diferentes parámetros entre el caldo CSP sin tratar y los tratados por UHT, en los caldos tratados por UHPH disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) los valores correspondientes a cada uno de los parámetros D_{50} , D_{90} , $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, (Tabla 6.6). En el caldo de pescado estándar los valores de los parámetros D_{50} y D_{90} fueron de $\sim 3,5$ y

~ 14 μm de diámetro, mientras que en los caldos tratados por UHPH no superaron los valores de 4,45 μm y 7 μm , respectivamente. En los caldos con mayor contenido en proteína (CPSP) se observó el mismo efecto, con valores de los parámetros D_{50} y D_{90} de ~ 4,2 y ~ 24 μm de diámetro, mientras que en los caldos tratados por UHPH no superaron los valores de 2,6 μm y 9,5 μm , respectivamente, hecho que se reflejó en el valor $d_{4,3}$ muy elevado asociado a una agregación de las partículas. Este hecho, se reflejó en la evolución de los diferentes parámetros durante su conservación a temperatura ambiente, así, mientras que en los caldos CSP tratados a 75 y 85 °C se apreció una cierta desestabilización, observando un ligero incremento en todos los parámetros D_{50} , D_{90} , $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$, asemejándose a los obtenidos en el caldo UHT, y a los del caldo sin tratar, a excepción del valor D_{90} . En los caldos de pescado CPSP la desestabilización se apreció ya en el día 45. Los valores en los diferentes parámetros D_{50} , D_{90} , $d_{3,2}$ y $d_{4,3}$ aumentaron de forma significativa con relación a aquellos obtenidos en el día 0 e incluso con respecto al caldo sin tratar. Los resultados del caldo CSP tratado por UHPH son relativamente similares a los obtenidos por Polisel-Scopel et al (2014) en licuado de soja. En cambio, en los caldos CPSP, aunque tras el tratamiento UHPH se mejoraron sus características coloidales, al añadir proteínas desnaturalizadas del pescado cocido previamente, durante el período de conservación y posiblemente debido a nuevas interacciones entre la proteína y las demás partículas en suspensión del producto se formaron agregados de partículas (Codina-Torrella et al., 2018; Polisel-Scopel et al., 2012, 2014).

Tabla 6.6. Evaluación de los parámetros de tamaño de partícula (μm) en caldo de pescado estándar (CPS) tratado mediante UHPH a temperaturas de entrada a 75 y 85 °C y UHT y en caldos de pescado con mayor contenido en proteína (CPSP) tratado con UHPH a 85 °C

Formulaciones de Caldos		Parámetros evaluados (μm) ¹					
		Día	$d_{4,3}$	$d_{3,2}$	D_{50}	D_{90}	
CPS	<i>Sin tratar</i>	0	5,68 ^{bz} ± 0,18	1,08 ^{ay} ± 0,45	3,87 ^{by} ± 0,39	14,07 ^{dy} ± 1,23	
	<i>UHT</i>	0	4,73 ^{by} ± 0,14	1,03 ^{ay} ± 0,48	2,84 ^{ax} ± 0,59	12,42 ^{bcy} ± 0,58	
	<i>UHPH 75 °C</i>	0	3,27 ^{ax} ± 0,60	0,83 ^{axy} ± 0,18	2,66 ^{ax} ± 0,41	7,15 ^{ax} ± 1,35	
		45	5,25 ^{ab} ± 1,39	1,06 ^a ± 0,15	3,13 ^{ab} ± 0,04	8,51 ^{ab} ± 0,11	
		90	5,63 ^{bc} ± 0,82	1,22 ^a ± 0,41	4,02 ^c ± 1,06	11,08 ^{bc} ± 2,02	
		135	4,42 ^{ab} ± 0,23	1,04 ^a ± 0,21	3,29 ^{ab} ± 0,21	9,23 ^b ± 0,16	
	<i>UHPH 85 °C</i>	0	3,22 ^{ax} ± 0,55	0,73 ^{ax} ± 0,09	2,41 ^{a x} ± 0,36	6,86 ^{ax} ± 0,69	
		45	5,33 ^b ± 1,75	0,90 ^a ± 0,16	3,21 ^{ab} ± 0,77	10,26 ^b ± 2,43	
		90	5,86 ^b ± 1,56	0,95 ^a ± 0,02	3,55 ^b ± 0,21	11,88 ^b ± 1,08	
		135	5,58 ^b ± 0,50	0,87 ^a ± 0,21	3,54 ^b ± 0,54	11,09 ^b ± 1,20	
	CPSP	<i>Sin tratar</i>	0	11,29 ^{cy} ± 1,01	1,10 ^{cy} ± 0,14	4,19 ^{cy} ± 0,44	24,31 ^{cy} ± 3,14
		<i>UHPH 85 °C</i>	0	5,11 ^{a,x} ± 0,59	0,83 ^{a,x} ± 0,10	2,56 ^{a,x} ± 0,41	9,30 ^{a,x} ± 1,50
			45	14,37 ^b ± 0,57	2,23 ^b ± 0,30	3,40 ^b ± 0,72	24,35 ^b ± 6,35
			90	14,33 ^b ± 0,66	2,49 ^b ± 0,10	3,20 ^b ± 0,67	25,43 ^b ± 4,30
135			14,02 ^b ± 1,53	2,55 ^b ± 0,37	3,32 ^b ± 0,66	25,85 ^b ± 2,54	

¹ Media ± desviación estándar de tres replicados analíticos.

^{a-d}: Diferentes superíndices en la misma columna de datos indican diferencias significativas ($P < 0,05$) durante el almacenaje.

^{x-z} diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos en el día 0.

La Figura 6.4 muestran los resultados obtenidos mediante el equipo TurbiscanTM, sobre la evolución de la estabilidad coloidal de los caldos de pescado. En todos los casos, se tomaron como referencia las medidas de estabilidad realizadas a día 5, después de depositar la muestra de producto en el vial de análisis. Las muestras tratadas con UHPH se conservaron a temperatura ambiente y las no tratadas a temperaturas de refrigeración. En las mediciones realizadas por el equipo, y en comparación con la medida de referencia, la señal de Backscattering (BS) aumenta de manera directamente proporcional a la concentración de partículas en cada zona del vial de análisis. Una disminución de esta señal indicará una clarificación de la zona en cuestión, principalmente debido a la migración de las partículas en suspensión hacia otra parte del vial. La variación en la concentración inicial de partículas,

en cada extremo inferior o superior del vial de análisis, se corresponde con la parte izquierda los fenómenos de sedimentación y la derecha de cremado.

Como se puede observar, y coincidiendo con los resultados de distribución de partícula, en los caldos de pescado CSP no se aprecia la formación de sedimentos, por el contrario, se observa a lo largo del tiempo una disminución de la señal BS en la base (zona izquierda del vial) debido a la clarificación del producto en esta zona. En la parte central del vial se observó un aumento de la concentración inicial de las partículas, y en el lado derecho una migración simultánea de las partículas relacionada con el fenómeno de cremado (Figuras 6.4B y 6.4C). Sin embargo, en el CPS sin tratar con una vida útil de ~ 3 días, la sedimentación y cremado fueron evidentes (Figura 6.4A) En estos caldos se apreció su inestabilidad física por la aparición de una clarificación en el producto con valores de BS negativos a lo largo del vial (parte central), con el valor máximo de $\sim -8\% \Delta BS$ (Figura 6.4A). Al final del periodo de almacenamiento de 3 y 135 días (CPS sin tratar y CPS-UHPH), el incremento de la señal de BS correspondientes a la capa de cremado fue $\sim 47\%$ y 67% , respectivamente. Sin embargo, en las muestras de caldo CPSP sin tratar y UHPH se observó la formación de sedimentos y cremado (6.4 D y 6.4E). Con una señal de BS de ~ 65 y 35% en la sedimentación y, ~ 50 y 44% para la formación de cremado al final del periodo de conservación de 3 y 135 días, respectivamente. Lo que demuestra que el tratamiento UHPH aumento la estabilización tanto de los caldos de CPS y CPSP.

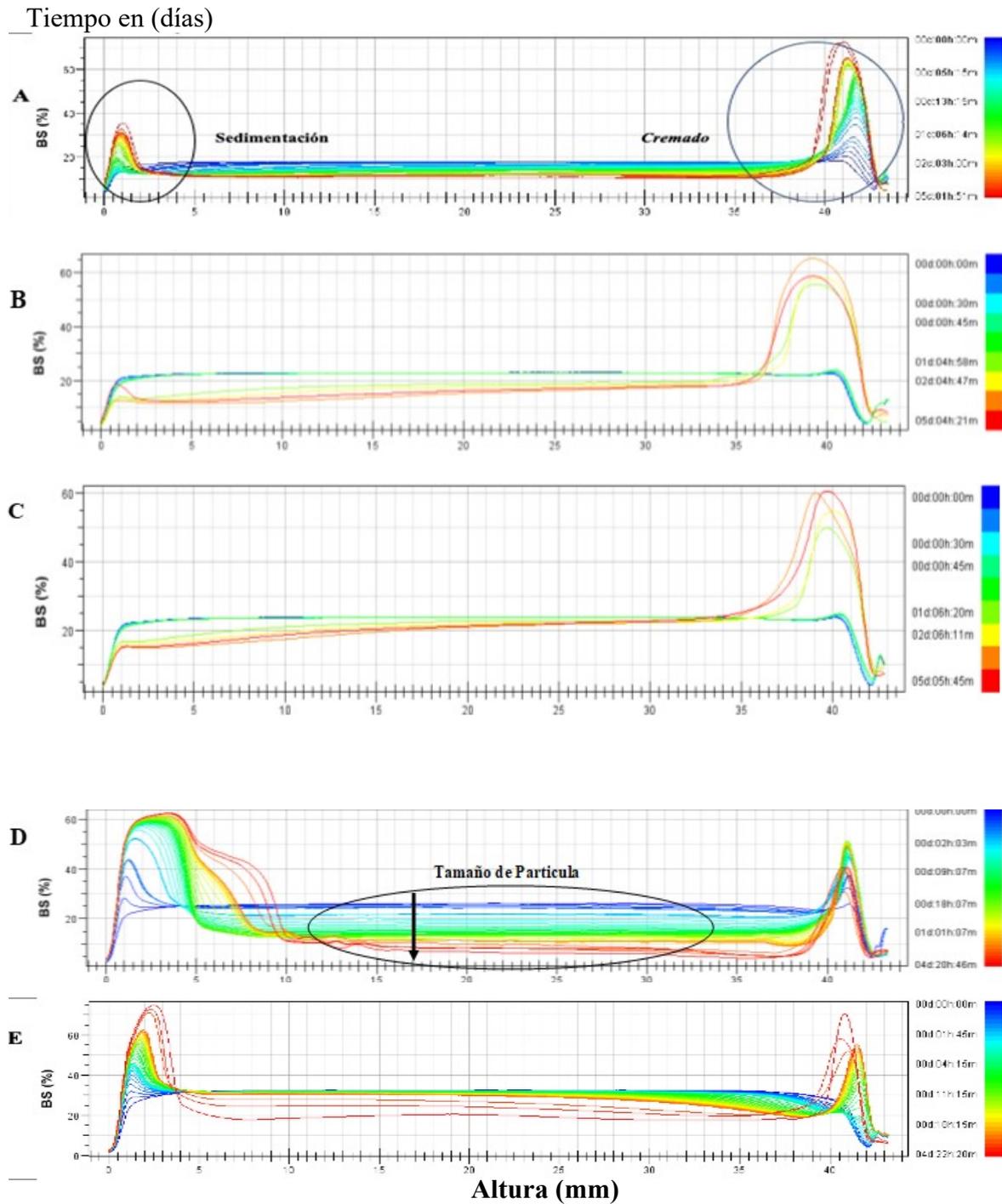


Figura 6.4. Variación en el porcentaje de luz difractada (o Backscattering) de caldos de pescado almacenados a temperatura ambiente (20-25 °C). (A) CPS caldo de pescado estándar sin tratar, (B) CPS-UHPH tratado por ultra alta presión de homogenización $T_0=75$, (C) CPS-UHPH tratado por ultra alta presión de homogenización $T_0=85$ °C, (D) CPSP caldo de pescado con incremento proteico sin tratar 2, (E) CPSP-UHPH caldo de pescado con incremento proteico tratado $T_0=85$ °C.

Los resultados observados anteriormente, se ratifican al evaluar el parámetro de índice de estabilidad (TSI), en el que se observa que el caldo de pescado con mayor contenido en proteína (CPSP) fue el más inestable en los tres puntos de vial (superior, medio e inferior), seguido del caldo CPSP tratado por UHPH a $T_0= 85\text{ }^\circ\text{C}$, especialmente en la parte superior (cremado) e inferior (sedimentación). En el resto de los caldos, el que presentó una mejor estabilidad especialmente con relación a la sedimentación fue el caldo CPS tratado por UHPH a $85\text{ }^\circ\text{C}$ posiblemente debido a que se produjo una mayor solubilización de las proteínas (Figura 6.5).

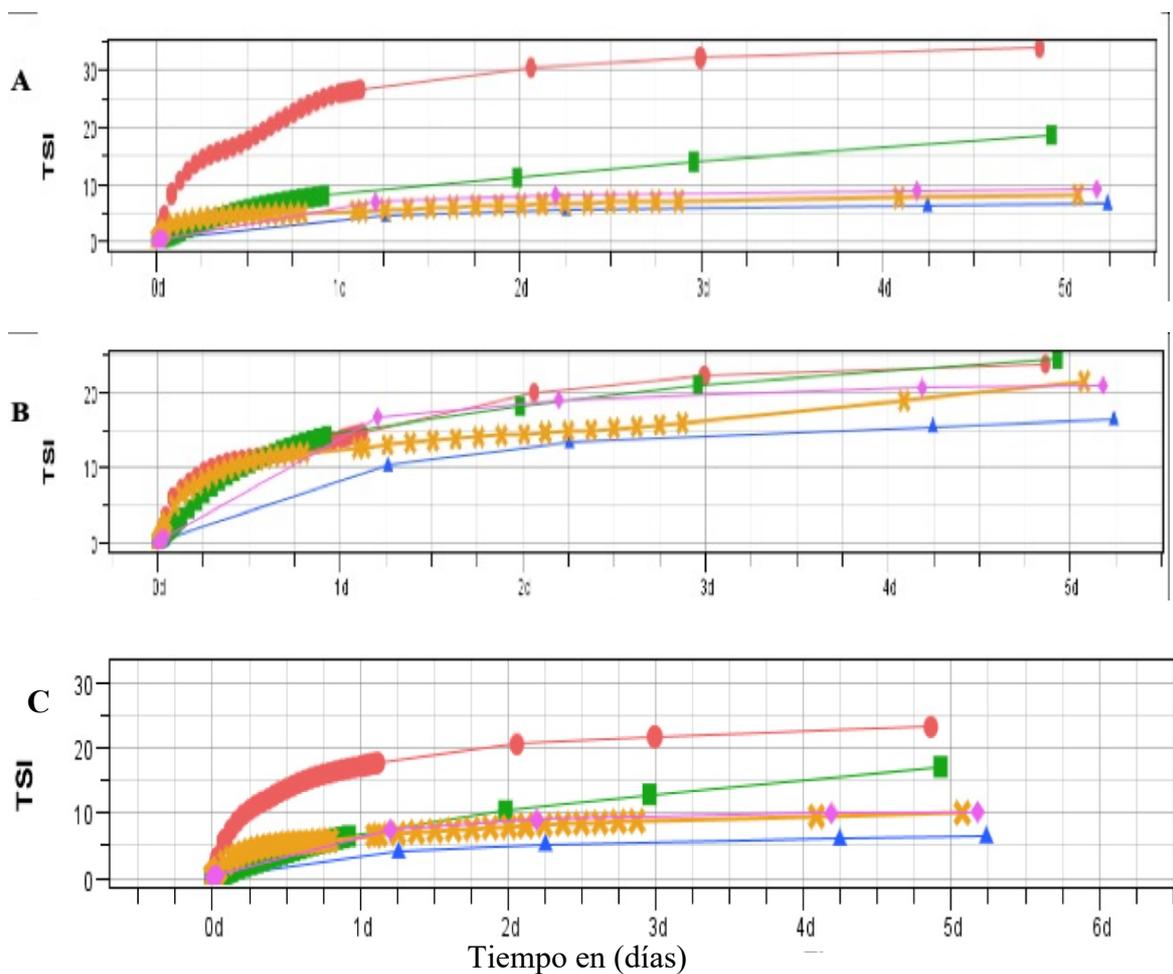


Figura 6.5. Índice de estabilidad del Turbiscan (TSI) de caldos de pescado. (X) Caldo de pescado estándar sin tratar CPS, (♦) CPS-UHPH $75\text{ }^\circ\text{C}$, (▲) CPS-UHPH $85\text{ }^\circ\text{C}$, (●) caldo con incremento proteico sin tratar CPSP, (■) CPSP-UHPH $85\text{ }^\circ\text{C}$. (A) Parte inferior del envase. (B) Parte superior del envase. (C) Estabilidad general de las muestras

6.2.6.2 *Color*

Con relación a los parámetros del color, en la Tabla 6.7. se muestran los valores de las coordenadas triestímulo, L^* , a^* , b^* referentes al espacio de color CIELAB obtenidos en el caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido proteico (CPSP) y tras los tratamientos UHPH a diferentes temperaturas de entrada, 75 y/o 85 °C. Los resultados obtenidos fueron significativamente diferentes entre el caldo CPS y el CPSP, mostrando valores superiores en las diferentes coordenadas en los caldos con mayor contenido en proteína ($p < 0.05$). La mayor luminosidad (L^*), la mayor tendencia al rojo (a^*) y al amarillo (b^*) observada en el caldo con mayor contenido en proteína, se puede asociar a la presencia de mayor contenido en proteína del propio pescado, especialmente en el valor L^* , y como se comentó a la adición de vegetales cocidos, como la zanahoria con compuestos coloreados como sustancias carotenoides, que se reflejarían en los valores a^* y b^* .

En el caldo de pescado estándar (CPS), además, se observaron valores muy diferentes a los obtenidos en el estudio preliminar del Capítulo 5, que se refleja en un valor ΔE^* superior, lo que demuestra que, a pesar de aplicar el mismo procedimiento en la elaboración del caldo, sus características se ven condicionadas por las materias primas utilizadas. En cualquier caso, tras el tratamiento UHPH se confirman los resultados obtenidos en el estudio preliminar del efecto de la UHPH en el caldo de pescado estándar, en el que se apreció que la luminosidad aumentó de forma significativa, mientras que el valor a^* (pérdida de tonalidad roja) y b^* (pérdida de tonalidad amarilla hacia el verde) disminuyeron ($p > 0,05$). Por otra parte, en el caso del caldo de pescado UHT, respecto al caldo no tratado se mantuvieron las características en el color rojo y amarillo, y por el efecto de la homogeneización al igual que en los tratados mediante UHPH se incrementó su luminosidad, incluso más que en los tratados UHPH. En el caso del caldo con mayor contenido en proteína (CPSP), el efecto no fue igual, siendo no estadísticamente significativo el aumento en la luminosidad, aunque si y estadísticamente significativa la disminución del valor a^* (rojo) y b^* (amarillo). En los tres caldos, el valor ΔE^* obtenido respecto a la muestra sin tratar fue superior a 3, que podría detectarse por el ojo humano ($\Delta E^* > 3$) (Francis and Clydesdale, 1975), y que parcialmente puede observarse en la Figura 6.7 (b) en el caldo CPSP.

Tabla 6.7. Determinación del color en caldos de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteína (CPSP) tras la cocción y los tratamientos UHPH a 300 MPa a una temperatura de entrada de 75 y/o 85 °C.

Formulaciones de Caldos		Parámetros determinados ¹			
		L*	a*	b*	ΔE^{*3}
CPS	<i>Sin tratar</i>	64,79 ^a ± 1,90	1,64 ^b ± 0,43	24,89 ^b ± 1,44	
	<i>UHT</i>	72,92 ^c ± 1,37	1,83 ^b ± 0,41	26,82 ^b ± 1,34	8,46 ^b ± 0,94
	<i>UHPH 75 °C</i>	68,66 ^b ± 1,51	- 0,04 ^a ± 0,29	20,73 ^a ± 2,52	6,29 ^a ± 2,26
	<i>UHPH 85 °C</i>	68,61 ^b ± 1,84	- 0,11 ^a ± 0,15	20,77 ^a ± 2,80	6,09 ^a ± 2,38
CPSP	<i>Sin tratar</i>	80,39 ^c ± 0,74	2,92 ^c ± 0,15	37,01 ^d ± 2,8	
	<i>UHPH 85 °C</i>	81,93 ^c ± 0,87	1,23 ^b ± 0,34	30,41 ^c ± 1,76	7,06 ^a ± 1,85

¹ Media ± desviación estándar de tres replicados analíticos

^{a-d}: Diferentes superíndices (letras minúsculas) en la misma columna de datos indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los caldos.

La evolución del color en cualquier producto durante la vida útil es de especial relevancia, ya que los posibles cambios pueden relacionarse con reacciones de degradación. Al igual que lo observado tras el tratamiento UHPH, se observaron diferencias en los tres parámetros L*, a*, b* (Figura 6.6) en función si se trataba del caldo de pescado estándar o con mayor contenido en proteína.

La tendencia observada en los caldos de pescado estándar, independientemente de la temperatura de entrada, fue muy similar en los tres parámetros analizados independientemente de cuál fuera la temperatura de entrada 75 o 85 °C. Aunque, en los primeros 45 días, se produjo un ligero aumento en la luminosidad, finalmente no se apreciaron diferencias en relación con el día 1 de tratamiento. En el valor a* aunque parece que aumentó su valor hacia el rojo, no se apreciaron diferencias estadísticas en su evolución durante su conservación a temperatura ambiente. Sin embargo, sí hubo un incremento gradual, estadísticamente significativo ($p < 0,05$), hacia el amarillo.

En el caldo de pescado con mayor contenido en proteína, la tendencia de incremento en la tonalidad roja y amarilla fue similar a la observada en el caldo de pescado estándar, aunque en este caso, el valor a* alcanzó su máximo a los 90 días para luego estabilizarse, apreciándose diferencias estadísticas respecto al día 1 tras el tratamiento, mientras en la tonalidad amarilla el incremento fue gradual ($p < 0,05$). Por otra parte, el producto durante su conservación a temperatura ambiente perdió luminosidad, aunque de forma muy gradual ($P < 0,05$).

En ambos caldos, en función de los tratamientos los valores del parámetro ΔE^* al final del periodo de conservación fue de $5,98 \pm 1,24$; $5,62 \pm 1,6$; y $18,87 \pm 0,97$, para los caldos CPS-UHPH $T_0=75$ y 85 °C, y CPSP-UHPH $T_0=85$ °C, respectivamente, apreciándose que las diferencias son más notables en el caldo de pescado con mayor contenido en proteína.

Durante la conservación de ambos caldos, se produjeron cambios químicos asociados a la presencia de productos de pardeamiento no enzimático, así como de productos derivados de la alteración lipídica y proteica, que afectó considerablemente a los parámetros de color, especialmente del valor a^* y b^* , como ya se comentó en el apartado de degradación lipídica. Uno de los principales cambios observados como el aumento hacia el amarillo también fue observado en pescados cocinados al vacío durante su conservación, asociándolo solo a la acumulación de compuestos coloreados generados por la descomposición y polimerización de los compuestos primarios de la oxidación lipídica (Crobotova, Mozuraityte, Standal y Rustad, 2019).

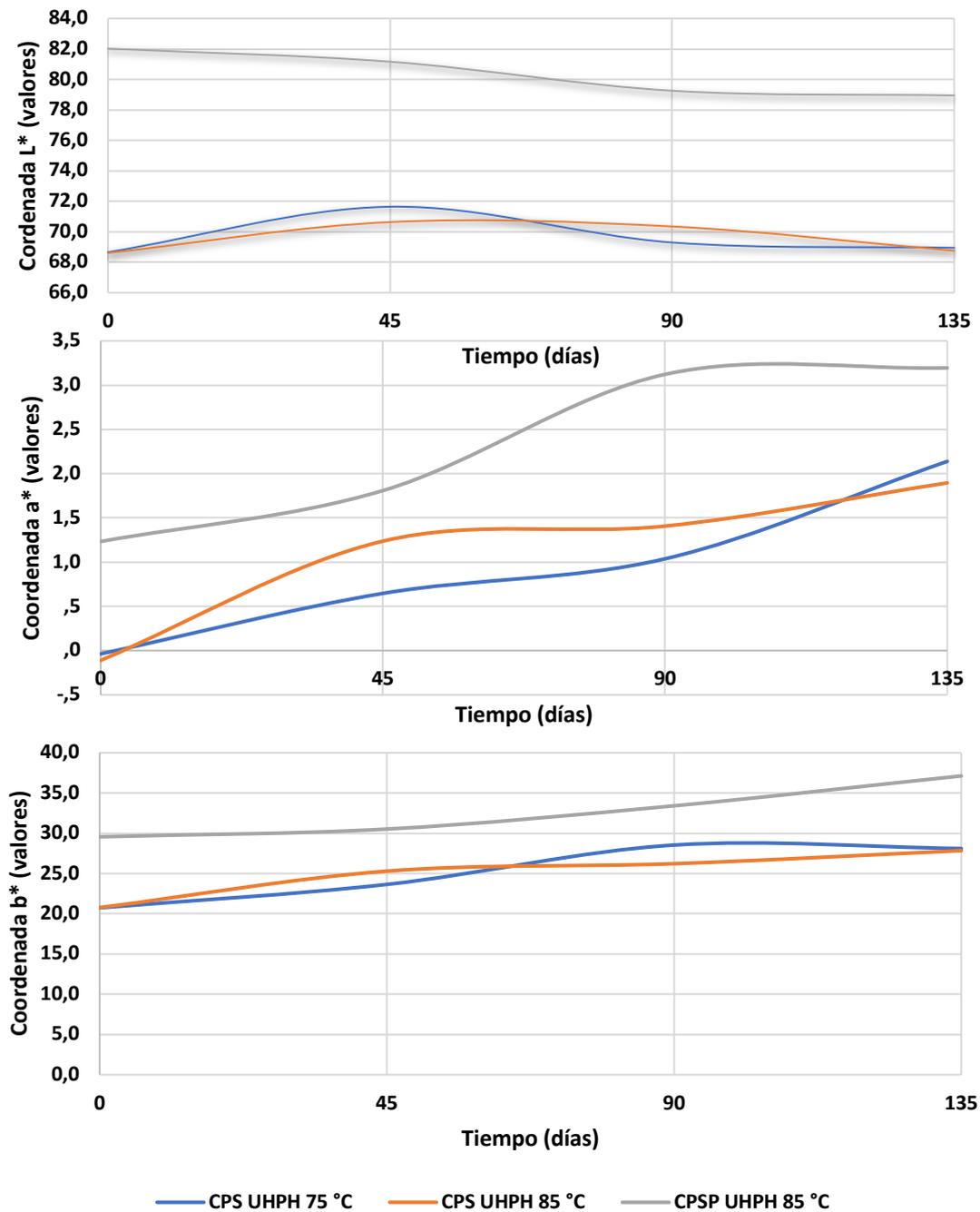


Figura 6.6. Evaluación de los parámetros de color L*, a*, b* dentro del espacio CIELAB, para muestras de caldo de pescado estándar (CPS) y con mayor contenido en proteínas (CPSP) tratadas por UHPH a temperaturas de entrada de 75 y/o 85 °C .

El efecto de la UHPH en el color, especialmente en la luminosidad, pero también en los parámetros a* y b* depende mucho de la matriz, como ya se ha observado entre los caldos de pescado con diferente contenido proteico. En el caso de la luminosidad tras el tratamiento UHPH, se reafirman los resultados obtenidos en el estudio preliminar, con un aumento de este valor, posiblemente debido al efecto de la homogenización del producto y al incremento de

partículas de pequeño tamaño en suspensión que comporta una mayor difracción de la luz al incidir en el producto, por lo que el valor de luminosidad de la muestra aumenta. Dicho incremento también fue observado a 300 MPa a temperaturas de entrada de 75 y/o 85 °C en leche y licuado de soja (Amador-Espejo et al., 2014; Poliselí Scopel, 2014). Al contrario de lo obtenido en los caldos de pescado, la luminosidad durante el almacenamiento del licuado de soja también aumentó, mientras que en dicho estudio los otros parámetros permanecieron estables en el tiempo (Poliselí Scopel, 2014).

6.2.7 Análisis sensorial

Se realizó un estudio comparativo de los tratamientos de UHPH y UHT realizando una prueba de ordenación según la norma UNE-EN-ISO 8587:2010 (AENOR, 2010c). Quince catadores recibieron tres muestras de caldo de pescado, 2 tratadas por UHPH a 300 MPa s T₀ de 75 y 85 °C y 1 muestra tratada por UHT. Se aplicó el test de Friedman en la que se obtuvo un F_{test} calculado inferior al valor crítico tabulado de 6,4 (Tabla 6.8), en la intensidad del, olfato, sabor e impresión global de los caldos. Lo que significa que no se percibieron diferencias sensoriales ($p \geq 0,05$) entre los tres caldos de pescado. No obstante, se observó que los jueces mostraron cierta preferencia por el caldo de pescado tratado por UHPH a T₀ de 85 °C.

Tabla 6.8. Ordenación de los caldos elaborados con distinta cantidad de la combinación de cabezas de rape y roca, en función de la aceptabilidad de la intensidad del sabor, olor y la impresión global. La estadística es la recomendada para el método de ordenación con un diseño de bloques completos.

Caldo ¹ / estadística	Suma de ordenación (R_i) y Ordenación MDS ² de los parámetros			Valor crítico
	Olor	Sabor	Impresión global	
CPS UHPH 75 °C	32,0 ^a	32,0 ^a	31,5 ^a	6,4
CPS UHPH 85 °C	32,0 ^a	33,5 ^a	36,0 ^a	
CPS UHT	27,0 ^a	24,5 ^a	22,5 ^a	
F _{test} ³	1,2	3,1	6,3	

²MDS: Mínima diferencia significativa; R_i , suma de las respuestas individuales de los jueces

³F_{test}: El valor del test de *Friedman*, calculado en análisis del olor, sabor, impresión global, y el valor crítico del test estipulado para riesgo de 0,05.

CAPÍTULO 7
CONCLUSIONES

7 CONCLUSIONES

1. En la comparación del efecto de los procesos tecnológicos en una matriz alimenticia compleja, como el caldo de pescado, es de relevancia partir de un producto estandarizado física, química y organolépticamente. Sin embargo, a pesar de que la elaboración del caldo de pescado se optimizó en base a criterios organolépticos, económicos y de sostenibilidad, la variabilidad asociada al producto, especialmente en el pescado de roca, tuvo un ligero efecto en los cambios físicos asociados al color y la estabilidad coloidal. En este estudio la composición óptima del caldo con mejores características organolépticas, basado en su perfil olfato-gustativo, y más económico contenía, esencialmente, pescado en un 45% con cabeza de rape y pescado de roca en la misma proporción y vegetales en un 15,6 %.
2. La aplicación de tratamientos de homogenización a ultra alta presión de 300 MPa con una temperatura de entrada de entre 40 y 75 °C permitió la obtención de un caldo de pescado coloidalmente estable. Desde el punto de vista microbiológico, se consiguió su estabilidad microbiológica en los caldos de pescado que deben ser refrigerados cuando se aplicaron tratamientos de 300 MPa a temperaturas de 55 y 65 °C, con un tiempo de vida útil igual o superior a 20 días;
3. Con la aplicación de los tratamientos de homogenización a ultra alta presión a 300 MPa y temperaturas de entrada de 75 y 85 °C se consiguió la esterilización de los caldos de pescado estandarizados con un 1% de proteína y los caldos con mayor contenido en proteína con un 2%.
4. En términos de estabilidad química, los caldos de pescado tratados por UHPH fueron similares desde el punto de vista nutricional al caldo de pescado sin tratar, incluyendo el perfil de ácidos grasos, pudiendo calificar al caldo de pescado como fuente de ácidos polinsaturados, y al caldo al que se le adicionó proteína de pescado del propio caldo se denominaría con mayor contenido en proteína. En cuanto a la degradación lipídica, los caldos con mayor contenido en proteína fueron inicialmente más susceptibles a la oxidación. Durante la conservación de los caldos, la degradación oxidativa se evidenció con la formación de compuestos fluorescentes en fracción la acuosa.
5. La estabilidad coloidal de los caldos de pescado estándar (CPS) tratados por UHPH a T_0 de 75 y 85 °C fueron estables durante la conservación a temperatura ambiente. En estos no se observaron fenómenos de desestabilización de sedimentación, aunque sí de un cierto cremado. Sin embargo, en los caldos con mayor contenido en proteína (CPSP) la

desestabilización fue notable tanto en los fenómenos de sedimentación como de cremado, aunque en el tratado por UHPH a T_0 de 85 °C fue menor.

6. No se observaron diferencias tras los tratamientos UHPH y UHT en los diferentes parámetros, incluso en el análisis sensorial, excepto en la distribución de partículas, por lo que sería necesario realizar un estudio de vida útil en caldo de pescado tratado por UHT para confirmar estos resultados.

CAPÍTULO 8

BIBLIOGRAFIA

8 BIBLIOGRAFÍA

- Ackman, R.G., 1999. Composición y valor nutritivo de los lípidos del pescado y marisco, in: Ruiter, A. (Ed.), *El Pescado y Los Productos Derivados de La Pesca: Composición, Propiedades Nutritivas y Estabilidad*. Acribia, S. A, Zaragoza, España, pp. 123–164.
- AENOR, 2010a. UNE 87017:1992. Método para Establecer el Perfil Olfato-gustativo, in: AENOR Ediciones (Ed.), *Análisis Sensorial*. AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), Madrid, pp. 91–98.
- AENOR, 2010b. UNE-EN ISO 4120:2008. Prueba Triangular, in: AENOR Ediciones (Ed.), *Análisis Sensorial*. AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), Madrid, pp. 121–141.
- AENOR, 2010c. UNE-ISO 8587:2010. Metodología de Ordenación, in: AENOR Ediciones (Ed.), *Análisis Sensorial*. AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), Madrid, pp. 239–263.
- AENOR, 2010d. UNE-EN ISO 5495:2009. Prueba de Comparación por Parejas, in: AENOR Ediciones (Ed.), *Análisis Sensorial*. AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación), Madrid, pp. 143–169.
- AESAN, 2019. Recomendaciones de consumo de pescado, Agencia Española Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN).
- Al-Nimry, S., Dayah, A.A., Hasan, I., Daghmash, R., 2021. Cosmetic, Biomedical and Pharmaceutical Applications of Fish Gelatin/Hydrolysates. *Mar. Drugs* 19. <https://doi.org/10.3390/md19030145>
- Alam, K., Jeffery, S.L.A., 2019. Acellular fish skin grafts for management of split thickness donor sites and partial thickness burns: A case series. *Mil. Med.* 184, 16–20. <https://doi.org/10.1093/milmed/usy280>
- Amador-Espejo, G.G., Suárez-Berencia, A., Juan, B., Bárcenas, M.E., Trujillo, A.J., 2014. Effect of moderate inlet temperatures in ultra-high-pressure homogenization treatments on physicochemical and sensory characteristics of milk. *J. Dairy Sci.* 97, 659–671. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7245>
- Amador Espejo, G.G., Hernández-Herrero, M.M., Juan, B., Trujillo, A.J., 2014. Inactivation of Bacillus spores inoculated in milk by Ultra High Pressure Homogenization. *Food Microbiol.* 44, 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.06.010>
- Apesteeguía, Y.A., 2000. Pescados, in: Astiasarán, I., Martínez, J. A. (Eds.), *Alimentos Composición y Propiedades*. McGraw-Hill - Interamerica de España, S. A. U., Madrid-España, pp. 29–52.
- Arias-García, A.M., Torre-García, M. de la, Fijo-León, M.I., Arias-Drake, A.M., 2019. ICTIOTERM: Base de datos terminológicos y de identificación de especies pesqueras de las costas de Andalucía [WWW Document]. Nombres vernáculos e identificación especies Pesq. las costas Cádiz y Huelva (Ref. HUM2006-10222FILO), Málaga,

Granada y Almer. (Ref.FFI20;09-10194), Dispon. a 2019-09-26,
http://www.ictioterm.es/proyecto_introduccion.php. URL
http://www.ictioterm.es/proyecto_introduccion.php (accessed 9.26.19).

- Aubourg, S. p., Sotelo, C. g., Gallardo, J. m., 1997. Quality Assessment of Sardines During Storage by Measurement of Fluorescent Compounds. *J. Food Sci.* 62, 295–298.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb03988.x>
- Aubourg, S.P., 2010. Lipid Compounds, in: Nollet, L.M.L., & Toldra, F. (Eds.), *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC, Taylor & Francis group, New york, USA, pp. 69–86.
- Aubourg, S.P., 2001. Fluorescence study of the pro-oxidant effect of free fatty acids on marine lipids. *J. Sci. Food Agric.* 81, 385–390. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200103\)81:4<385::AID-JSFA821>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200103)81:4<385::AID-JSFA821>3.0.CO;2-X)
- Baker, R., Günther, C., 2004. The role of carotenoids in consumer choice and the likely benefits from their inclusion into products for human consumption. *Trends Food Sci. Technol.* 15, 484–488. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.04.0094>
- Benzie, I.F.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–76.
<https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bernhardt, S., Schlich, E., 2006. Impact of different cooking methods on food quality: Retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. *J. Food Eng.* 77, 327–333. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2005.06.040>
- Bilge Ertekin, F., Nazli, K., Nilgun H, B., Atif C, S., Zeynep B Guzel, S., 2017. Antioxidant activity and phenolic acid content of selected vegetable broths. *Czech J. Food Sci.* 35, 469–475. <https://doi.org/10.17221/458/2016-CJFS>
- Bombardelli, R., Syperreck, M., Sanches, E., 2005. Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. *Arq. ciênc. vet. zool. UNIPAR* 8, 181–195.
- Bouaouina, H., Desrumaux, A., Loisel, C., Legrand, J., 2006. Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high-pressure treatment. *Int. Dairy J.* 16, 275–284.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.05.004>
- Bouzan, C., Cohen, J.T., Connor, W.E., Kris-Etherton, P.M., Gray, G.M., König, A., Lawrence, R.S., Savitz, D.A., Teutsch, S.M., 2005. A quantitative analysis of fish consumption and stroke risk. *Am. J. Prev. Med.* 29, 347–352.
<https://doi.org/10.1016/j.amepre.2005.07.002>
- Bozariis, I.S., 2014. Food ingredients from the marine environment. *Marine biotechnology meets food science and technology. Front. Mar. Sci.* 1, 1–4.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2014.00066>
- Briñez, W.J., Roig-Sagués, A.X., Herrero, M.M.H., López, B.G., 2007. Inactivation of *Staphylococcus* spp. strains in whole milk and orange juice using ultra high pressure homogenisation at inlet temperatures of 6 and 20 °C. *Food Control* 18, 1282–1288.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.09.002>

CAC, 2003. Recommended International code of practice general principles of food hygiene CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003. Cac/Rcp 1-1969 1–31.

Cesarettin Alasalvar, Fereidoon Shahidi, Kazuo Miyashita, U.W. (Ed.), 2011. Handbook of seafood quality, safety, and health applications. Blackwell, Ames, Iowa :
<https://doi.org/10.1002/9781444325546>

Codina-Torrella, I., Guamis, B., Ferragut, V., Trujillo, A.J., 2017. Potential application of ultra-high pressure homogenization in the physico-chemical stabilization of tiger nuts' milk beverage. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 40, 42–51.
<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.023>

Codina-Torrella, I., Guamis, B., Zamora, A., Quevedo, J.M., Trujillo, A.J., 2018. Microbiological stabilization of tiger nuts' milk beverage using ultra-high pressure homogenization. A preliminary study on microbial shelf-life extension. *Food Microbiol.* 69, 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.08.002>

Comisión Europea, 2020. La política pesquera común en datos y cifras. Luxemburgo.
<https://doi.org/10.2771/14327>

Cruz, N., Capellas, M., Hernández, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V., 2007. Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. *Food Res. Int.* 40, 725–732.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2007.01.003>

Dairy Engineering Company, 2010. Gaulin Homogenizer [WWW Document]. URL <http://gaulinhomogenizer.com> (accessed 8.2.21).

Daschner, A., 2016. Risks and possible health effects of raw fish intake, *Fish and Fish Oil in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802844-5.00031-2>

Desrumaux, A., Marcand, J., 2002. Formation of sunflower oil emulsions stabilized by whey proteins with high-pressure homogenization (up to 350 MPa): effect of pressure on emulsion characteristics. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37, 263–269.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00565.x>

Diels, A.M.J., Callewaert, L., Wuytack, E.Y., Masschalck, B., Michiels, C.W., 2005. Inactivation of *Escherichia coli* by high-pressure homogenisation is influenced by fluid viscosity but not by water activity and product composition. *Int. J. Food Microbiol.* 101, 281–291. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.011>

Diels, A.M.J., Michiels, C.W., 2006. High-Pressure Homogenization as a Non-Thermal Technique for the Inactivation of Microorganisms. *Crit. Rev. Microbiol.* 32, 201–216.
<https://doi.org/10.1080/10408410601023516>

Dionex, C., Fisher Scientific, 2004. Thermo Scientific Application Note 345 - Extraction of Fat from Dairy Products (Cheese , Butter , and Liquid Milks) Using Accelerated Solvent Extraction (ASE ®). USA.

- Dominguez-Bella, S., Casasola, D.B., 2011. Fish-Based Subproducts in Late Antiquity. Archaeometric and Archaeological Evidence from the Fish Factories at Traducta (Algeciras, Cádiz, Spain), in: Proceedings of the 37th International Symposium on Archaeometry, 13th - 16th May 2008, Siena, Italy. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 453–458. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14678-7>
- Dong, P., Georget, E., Aganovic, K., Heinz, V., Mathys, A., 2016. Inactivation of *Bacillus amyloliquefaciens* spores by continuous high-pressure-assisted thermal sterilization in an oil-in-water (o/w) emulsion with 10 % soybean oil. *Eur. Food Res. Technol.* 242, 935–942. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2600-1>
- Donoso, A., González-Durán, J., Muñoz, A.A., González, P.A., Agurto-Muñoz, C., 2021. Therapeutic uses of natural astaxanthin: An evidence-based review focused on human clinical trials. *Pharmacol. Res.* 166, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105479>
- Donsì, F., Ferrari, G., Lenza, E., Maresca, P., 2009. Main factors regulating microbial inactivation by high-pressure homogenization: Operating parameters and scale of operation. *Chem. Eng. Sci.* 64, 520–532. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2008.10.002>
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A., Blayo, C., 2013. Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends Food Sci. Technol.* 31, 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.005>
- ECFF, 2006. Recommendations for the production of prepackaged chilled food, European Chilled Food Federation.
- EFSA, 2015. Statement on the benefits of fish/seafood consumption compared to the risks of methylmercury in fish/seafood. *EFSA J.* 13, 1–36. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3982>
- EFSA, 2012. Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food., *EFSA Journal*.
- EFSA, 2009. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), docosapentaenoic acid (DPA). *EFSA J.* 8, 1–31.
- Engelberth, H., Teisl, M.F., Frohberg, E., Butts, K., Bell, K.P., Stableford, S., Smith, A.E., 2013. Can fish consumption advisories do better? Providing benefit and risk information to increase knowledge. *Environ. Res.* 126, 232–239. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2013.08.012>
- EUMOFA, 2020. El Mercado Pesquero de la UE 2020. Luxemburgo. <https://doi.org/10.2771/637512>
- Euromonitor international, 2020. Soup in Spain [WWW Document]. URL <https://www.euromonitor.com/soup-in-spain/report> (accessed 10.29.21).
- Fakhri, S., Abbaszadeh, F., Dargahi, L., Jorjani, M., 2018. Astaxanthin: A mechanistic review on its biological activities and health benefits. *Pharmacol. Res.* 136, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.08.012>

- Falch, E., Overrein, I., Solberg, C., Slizyte, R., 2010. Composition and Calories, in: Nollet, L.M.L., & Toldra, F. (Eds.), *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC, Taylor & Francis group, New York, USA, pp. 258–307.
- Faller, A.L.K., Fialho, E., 2009. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Res. Int.* 42, 210–215. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2008.10.009>
- Fan, X., Li, X., Tao, N., Zhang, J., Wang, M., Qian, X., Su, H., Zhong, J., 2019. Effect of Salt Addition Time on the Nutritional Profile of *Thunnus obesus* Head Soup and the Formation of Micro/Nano-Sized Particle Structure. *Molecules* 24, 4447. <https://doi.org/10.3390/molecules24244447>
- FAO, 2020. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción*. Roma. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>
- FAO, 2012. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2012*. Rome, Italy.
- FAO, 2002. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2002*.
- FDA, 2020. *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, Fish and Fishery Products Hazard and Control Guidance*.
- FDA, 2018. *Hazard analysis and risk-based preventive controls for Human food: Draft guidance for Industry*, Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. FDA, USA.
- Fernandez-Avila, C., Trujillo, A.J., 2017. Enhanced stability of emulsions treated by Ultra-High Pressure Homogenization for delivering conjugated linoleic acid in Caco-2 cells. *Food Hydrocoll.* 71, 271–281. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.017>
- Ferragut, V., Hernández-Herrero, M., Veciana-Nogués, M.T., Borrás-Suárez, M., González-Linares, J., Vidal-Carou, M.C., Guamis, B., 2015. Ultra-high-pressure homogenization (UHPH) system for producing high-quality vegetable-based beverages: physicochemical, microbiological, nutritional and toxicological characteristics. *J. Sci. Food Agric.* 95, 953–961. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6769>
- Floury, J., Bellettre, J., Legrand, J., Desrumaux, A., 2004a. Analysis of a new type of high pressure homogeniser. A study of the flow pattern. *Chem. Eng. Sci.* 59, 843–853. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2003.11.017>
- Floury, J., Desrumaux, A., Lardières, J., 2000. Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 1, 127–134. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00012-6)
- Floury, J., Desrumaux, A., Legrand, J., 2002. Effect of ultra-high-pressure homogenization on structure and on rheological properties of soy protein-stabilized emulsions. *J. Food Sci.* 67, 3388–3395. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09595.x>
- Floury, J., Legrand, J., Desrumaux, A., 2004b. Analysis of a new type of high pressure homogeniser. Part B. study of droplet break-up and re-coalescence phenomena. *Chem.*

Eng. Sci. 59, 1285–1294. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2003.11.025>

Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., Li, H.-B., 2011. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem.* 129, 345–350. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.04.079>

García, V.B., 2011. Caracterización de subproductos de cebolla como fuente de fibra alimentaria y otros compuestos bioactivos (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Madrid. Facultad de Ciencias.

Gaulin, A., 1904. system for intimately mixing milk. 756.953.

Gehring, C.K., Gigliotti, J.C., Moritz, J.S., Tou, J.C., Jaczynski, J., 2011. Functional and nutritional characteristics of proteins and lipids recovered by isoelectric processing of fish by-products and low-value fish: A review. *Food Chem.* 124, 422–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.078>

Gencel, Z., 2012. Sobre «fricción» en fluidos en movimiento y en su frontera sólida y sobre la energía «perdida». *Ing. Hidráulica y Ambient.* 33, 21–30.

Georget, E., Miller, B., Aganovic, K., Callanan, M., Heinz, V., Mathys, A., 2014. Bacterial spore inactivation by ultra-high pressure homogenization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 26, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.08.004>

Gharibzahedi, S.M.T., Jafari, S.M., 2017. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends Food Sci. Technol.* 62, 119–132. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.017>

González-Estecha, M., Bodas-Pinedo, A., Guillén-Pérez, J.J., Rubio-Herrera, M.Á., Martínez-Álvarez, J.R., Herráiz-Martínez, M.Á., Martell-Claros, N., Ordóñez-Iriarte, J.M., Sáinz-Martín, M., Farré-Rovira, R., Martínez-Astorquiza, T., García-Donaire, J.A., Calvo-Manuel, E., Bretón-Lesmes, I., Prieto-Menchero, S., Llorente-Ballesteros, M.T., Martínez-García, M.J., Moreno-Rojas, R., Salas-Salvadó, J., Bermejo-Barrera, P., Cuadrado-Cenzual, M.Á., Gallardo-Pino, C., Blanco Fuentes, M., Torres-Moreno, M., Trasobares-Iglesias, E.M., Barceló Martín, B., Arroyo-Fernández, M., Calle-Pascual, A., 2014. Documento de consenso sobre la prevención de la exposición al metilmercurio en España. *Nutr. Clin. y Diet. Hosp.* 34, 105–123. <https://doi.org/10.12873/343gepremhg>

González, N., Correig, E., Marmelo, I., Marques, A., la Cour, R., Sloth, J.J., Nadal, M., Marquès, M., Domingo, J.L., 2021. Dietary exposure to potentially toxic elements through sushi consumption in Catalonia, Spain. *Food Chem. Toxicol.* 153, 112285. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112285>

Gram, L., 2009. Microbiological Spoilage of Fish and Seafood Products, in: Sperber, W.H., Doyle, M.P. (Eds.), *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*. Griffin, GA, USA, pp. 87–120. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1>

Grigorakis, K., 2011. Effects of nutritional and aquaculture practices on fish quality, in: Alasalvar, C., Miyashita, K., Shahidi, F., Wanasundara, U. (Eds.), *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd, Ames, Iowa, USA, pp. 82–95.

- Guamis, B., Trujillo mesa, antonio josé;, Ferragut Pérez, V., Quevedo terré, joan miquel;, López pedemonte, T., Buffa dunat, martin nicolás;, 2012. Continuous system and procedure of sterilization and physical stabilization of pumpable fluids by means of ultra-high pressure homogenization. Patent. PCT/EP2011/003572.
- Guamis López, B., Escriu Justo, R., 2010. Aplicaciones de la ultra alta presión de homogeneización para las industrias alimentaria, farmacéutica, química y cosmética, in: Instituto Tomás Pascual Sanz para la nutrición y la salud (Ed.), *Tecnologías Transversales de Interés Para Las Industrias Alimentaria, Farmacéutica y Cosmética*. International Marketing & communication, S.A, Madrid-España, pp. 45–52.
- Harnedy, P.A., FitzGerald, R.J., 2012. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *J. Funct. Foods* 4, 6–24. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.001>
- Hasan, M., Halwart, M., 2009. Fish as feed inputs for aquaculture: Practices, sustainability and implications, *Practices, sustainability and implications*, FAO Fisheries and aquaculture technical paper 518.
- Hasan, M.R., Halwart, M., 2009. Fish as feed inputs for aquaculture: practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 518. Rome, Rome, Italy.
- Hayes, M.G., Fox, P.F., Kelly, A.L., 2005. Potential applications of high pressure homogenisation in processing of liquid milk. *J. Dairy Res.* 72, 25–33. <https://doi.org/10.1017/S0022029904000524>
- Hayes, M.G., Kelly, A.L., 2003. High pressure homogenisation of milk (b) effects on indigenous enzymatic activity. *J. Dairy Res.* 70, 307–313. <https://doi.org/10.1017/S0022029903006319>
- Hebshy, E., Buffa, M., Guamis, B., Trujillo, A.J., 2013. Stability of sub-micron oil-in-water emulsions produced by ultra high pressure homogenization and sodium caseinate as emulsifier. *Chem. Eng. Trans.* 32, 1813–1818. <https://doi.org/10.3303/CET1332303>
- Hoekstra, J., Hart, A., Owen, H., Zeilmaker, M., Bokkers, B., Thorgilsson, B., Gunnlaugsdottir, H., 2013. Fish, contaminants and human health: Quantifying and weighing benefits and risks. *Food Chem. Toxicol.* 54, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.013>
- Horwitz, W., Latimer, G.W. jr, 2005. AOAC Official Methods 965.33. Oils and Fat, Peroxide Value of Oils and Fat, in: *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, p. 11.
- Institut Català de la cuina, 2016. *Corpus del Patrimoni Culinari Català*., Fundació Institut Català de la Cuina i de la Cultura Gastronòmica.
- Ismail, A., Marjan, Z.M., Foong, C.W., 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. *Food Chem.* 87, 581–586.
- Jacobs, S., Sioen, I., Pieniak, Z., De Henauw, S., Maulvault, A.L., Reuver, M., Fait, G., Cano-Sancho, G., Verbeke, W., 2015. Consumers' health risk-benefit perception of seafood and attitude toward the marine environment: Insights from five European

- countries. *Environ. Res.* 143, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.029>
- Jooyandeh, H., Aberoumand, A., 2011. A Review on Natural Antioxidants in Fish: Stabilizing Effect on Sensitive Nutrients. *Middle-East J. Sci. Res.* 7, 170–174. <https://doi.org/10.13140/2.1.2406.9123>
- Juárez, M.D., Sammán, N., 2007. El deterioro de los aceites durante la fritura. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria* 13, 82–94.
- Kalegeropoulos, N.; Chiou, A., 2010. Antioxidants, in: Alasalvar, C., Miyashita, K., Shahidi, F., Wanasundara, U. (Eds.), *Handbook of Seafood Quality, Safety, and Health Applications*. Blackwell Pub, Ames, Iowa :, pp. 310–326.
- Kheadr, E.E., Vachon, J., Paquin, P., Fliss, I., 2002. Effect of dynamic high pressure on microbiological, rheological and microstructural quality of Cheddar cheese. *Int. Dairy J.* 12, 435–446. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00104-2)
- Kleinig, A.R., Middelberg, A.P.J., 1998. On the mechanism of microbial cell disruption in high-pressure homogenisation. *Chem. Eng. Sci.* 53, 891–898. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(97\)00414-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(97)00414-4)
- Kleinig, A.R., Middelberg, A.P.J., 1997. Numerical and experimental study of a homogenizer impinging jet. *AIChE J.* 43, 1100–1107. <https://doi.org/10.1002/aic.690430423>
- Kleinig, A.R., Middelberg, A.P.J., 1996. The correlation of cell distribution with homogenizer valve pressure gradient determined by computational fluid dynamics. *Chem. Eng. Sci.* 51, 5103–5110. [https://doi.org/10.1016/S0009-2509\(96\)00354-5](https://doi.org/10.1016/S0009-2509(96)00354-5)
- Kocatepe, D., Turan, H., 2012. Proximate and fatty acid composition of some commercially important fish species from the Sinop region of the Black Sea. *Lipids*. <https://doi.org/10.1007/s11745-012-3658-1>
- König, A., Bouzan, C., Cohen, J.T., Connor, W.E., Kris-Etherton, P.M., Gray, G.M., Lawrence, R.S., Savitz, D.A., Teutsch, S.M., 2005. A quantitative analysis of fish consumption and coronary heart disease mortality. *Am. J. Prev. Med.* 29, 335–346. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2005.07.001>
- Kris-Etherton, P.M., Harris, W.S., Appel, L.J., 2002. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. *Circulation* 106, 2747 LP – 2757.
- Lee, Y., Hu, S., Park, Y.K., Lee, J.Y., 2019. Health benefits of carotenoids: A role of carotenoids in the prevention of non-alcoholic fatty liver disease. *Prev. Nutr. Food Sci.* 24, 103–113. <https://doi.org/10.3746/pnf.2019.24.2.103>
- Lehel, J., Yaucat-Guendi, R., Darnay, L., Palotás, P., Laczay, P., 2021. Possible food safety hazards of ready-to-eat raw fish containing product (sushi, sashimi). *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 61, 867–888. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1749024>
- Levy, R., Okun, Z., Shpigelman, A., 2021. High-Pressure Homogenization: Principles and Applications Beyond Microbial Inactivation. *Food Eng. Rev.* 13, 490–508. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09239-8>

- Liu, J., Zamora, A., Castillo, M., Saldo, J., 2018a. Modeling of the changes in bovine milk caused by ultra-high pressure homogenization using front-face fluorescence spectroscopy. *J. Food Eng.* 233, 88–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.010>
- Liu, J., Zamora, A., Castillo, M., Saldo, J., 2018b. Modeling the effect on skim milk during ultra-high pressure homogenization using front-face fluorescence. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 47, 439–444. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.009>
- Loira, I., Morata, A., Bañuelos, M.A., Puig-Pujol, A., Guamis, B., González, C., Suárez-Lepe, J.A., 2018. Use of Ultra-High Pressure Homogenization processing in winemaking: Control of microbial populations in grape musts and effects in sensory quality. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 50, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.005>
- Makris, D.P., Rossiter, J.T., 2001. Domestic processing of onion bulbs (*Allium cepa*) and asparagus spears (*Asparagus officinalis*): Effect on flavonol content and antioxidant status. *J. Agric. Food Chem.* 49, 3216–3222. <https://doi.org/10.1021/jf001497z>
- MAPA, 2021. *Alimentario En, Informe del Consumo de Alimentación en España 2020*. Madrid-españa.
- MAPA, 2012. *Guía para la aplicación de la legislación de aditivos y contaminantes de la UE en productos pesqueros y acuícolas, MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE*. Madrid-España. <https://doi.org/280-12-182-3> (en
- MAPAMA, 2012a. *Guía de las cualidades nutricionales de los productos procedentes de la pesca extractiva y de la acuicultura: Binomio riesgo-beneficio*. Madrid.
- MAPAMA, 2012b. *Guía para el aprovechamiento de los subproductos de pescado para la obtención de productos funcionales y bioactivos*. Madrid.
- Maresca, P., Donsì, F., Ferrari, G., 2011. Application of a multi-pass high-pressure homogenization treatment for the pasteurization of fruit juices. *J. Food Eng.* 104, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.030>
- Marventano, S., Kolacz, P., Castellano, S., Galvano, F., Buscemi, S., Mistretta, A., Grosso, G., 2015. A review of recent evidence in human studies of n-3 and n-6 PUFA intake on cardiovascular disease, cancer, and depressive disorders: does the ratio really matter? *Int. J. Food Sci. Nutr.* 66, 611–622. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1077790>
- Messens, W., Van Camp, J., Huyghebaert, A., 1997. The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends Food Sci. Technol.* 8, 107–112.
- Middelberg, A.P.J., 1995. Process-scale disruption of microorganisms. *Biotechnol. Adv.* 13, 491–551. [https://doi.org/10.1016/0734-9750\(95\)02007-P](https://doi.org/10.1016/0734-9750(95)02007-P)
- Mol, S., 2005a. Preparation and the shelf-life assessment of ready-to-eat fish soup. *Eur. Food Res. Technol.* 220, 305–308. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1030-2>
- Mol, S., 2005b. Preparation and the shelf-life assessment of ready-to-eat fish soup. *Eur. Food Res. Technol.* 220, 305–308. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1030-2>

- Moltó-Puigmartí, C., Castellote, A.I., López-Sabater, M.C., 2007. Conjugated linoleic acid determination in human milk by fast-gas chromatography. *Anal. Chim. Acta* 602, 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.09.011>
- Monteiro, M.L.G., Mársico, E.T., Lázaro, C.A., Ribeiro, R.O.R., Jesus, R.S., Conte-Júnior, C.A., 2014. Flours and Instant Soup from Tilapia Wastes as Healthy Alternatives to the Food Industry. *Food Sci. Technol. Res.* 20, 571–581. <https://doi.org/10.3136/fstr.20.571>
- Morata, A., Guamis, B., 2020. Use of UHPH to Obtain Juices With Better Nutritional Quality and Healthier Wines With Low Levels of SO₂. *Front. Nutr.* 7, 1–6. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.598286>
- Mozaffarian, D., Psaty, B.M., Rimm, E.B., Lemaitre, R.N., Burke, G.L., Lyles, M.F., Lefkowitz, D., Siscovick, D.S., 2004. Fish intake and risk of incident atrial fibrillation. *Circulation* 110, 368–373. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138154.00779.A5>
- NACMCF, 2006. Requisite Scientific Parameters for Establishing the Equivalence of Alternative Methods of Pasteurization†. *J. Food Prot.* 69, 1190–1216. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.5.1190>
- NACMCF, 1998. Hazard Analysis and Critical Control Point Principles and Application Guidelines†. *J. Food Prot.* 61, 1246–1259. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-61.9.1246>
- Nunes, M.L., Bandarra, N., Oliveira, L., Batista, I., Calhau, M.A., 2006. Seafood research from fish to dish, Seafood research from Fish to dish. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-581-9>
- Nunes, M.L., Bandarra, N.M., Batista, I., 2011. Health benefits associated with seafood consumption, in: Alasalvar, C., Miyashita, K., Shahidi, F., Wanasundara, U. (Eds.), *Handbook of Seafood Quality, Safety and Health Applications*. Blackwell Publishing Ltd, Ames, Iowa, USA, pp. 369–379.
- Nychas, G.E., Drosinos, E.H., 2010. Detection of fish spoilage, in: Nollet, L.M.L., & Toldra, F. (Eds.), *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC, Taylor & Francis group, New York, USA, p. 537.
- Oehlenschläer, J., 2010. Minerals and Trace elements, in: Toldra, M.L.N. and F. & (Ed.), *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC, Taylor & Francis group, New York, USA, pp. 351–371.
- Ozgen, M., Reese, R.N., Tulio Jr, A.Z., Scheerens, J., Miller, A.R., 2006. Modified 2, 2'-Azino-bis-3ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2, 2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. *J. Agric. food. Chem.*, 54, *J. Agric. food. Chem.*,
- Palmeira, K.R., Mársico, E.T., Monteiro, M.L.G., Lemos, M., Conte Junior, C.A., 2016. Ready-to-eat products elaborated with mechanically separated fish meat from waste processing: challenges and chemical quality. *CyTA - J. Food* 14, 227–238. <https://doi.org/10.1080/19476337.2015.1087050>
- Pandolfe, W.D., 1982. Development of the New Gaulin Micro-Gap™ Homogenizing Valve.

- J. Dairy Sci. 65, 2035–2044. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82456-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82456-9)
- Paquin, P., 1999. Technological properties of high pressure homogenizers: The effect of fat globules, milk proteins, and polysaccharides. *Int. Dairy J.* 9, 329–335. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00083-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00083-7)
- Patrignani, F., Mannozi, C., Tappi, S., Tylewicz, U., Pasini, F., Castellone, V., Riciputi, Y., Rocculi, P., Romani, S., Caboni, M.F., Gardini, F., Lanciotti, R., Dalla Rosa, M., 2019. (Ultra) High Pressure Homogenization Potential on the Shelf-Life and Functionality of Kiwifruit Juice. *Front. Microbiol.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00246>
- Peng, J., Tang, J., Barrett, D.M., Sablani, S.S., Anderson, N., Powers, J.R., 2017. Thermal pasteurization of ready-to-eat foods and vegetables: Critical factors for process design and effects on quality. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 57, 2970–2995. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1082126>
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B., Trujillo, A.J., 2008. Effects of Ultra-High-Pressure Homogenization Treatment on the Lipolysis and Lipid Oxidation of Milk during Refrigerated Storage. *J. Agric. Food Chem.* 56, 7125–7130. <https://doi.org/10.1021/jf800972m>
- Pereda, J., Ferragut, V., Quevedo, J.M., Guamis, B., Trujillo, A.J., 2007. Effects of Ultra-High Pressure Homogenization on Microbial and Physicochemical Shelf Life of Milk. *J. Dairy Sci.* 90, 1081–1093. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71595-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71595-3)
- Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., 2006. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res. Int.* 39, 791–800. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2006.02.003>
- Picart, L., Thiebaud, M., René, M., Guiraud, J.P., Cheftel, J.C., Dumay, E., 2006. Effects of high pressure homogenisation of raw bovine milk on alkaline phosphatase and microbial inactivation. A comparison with continuous short-time thermal treatments. *J. Dairy Res.* 73, 454–463. <https://doi.org/10.1017/S0022029906001853>
- Poliseli-Scopel, F.H., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V., 2014. Sterilization and aseptic packaging of soymilk treated by ultra high pressure homogenization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 22, 81–88. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2014.01.001>
- Poliseli-Scopel, F.H., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V., 2013. Characteristics of soymilk pasteurized by ultra high pressure homogenization (UHPH). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 20, 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.06.001>
- Poliseli-Scopel, F.H., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V., 2012. Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. *LWT - Food Sci. Technol.* 46, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.004>
- Psota, T.L., Gebauer, S.K., Kris-Etherton, P., 2006. Dietary Omega-3 Fatty Acid Intake and Cardiovascular Risk. *Am. J. Cardiol.* 98, 3–18. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.12.022>

Real Decreto 135/2010, 2010. Real Decreto 135/2010, de 12 de febrero, por el que se

derogan disposiciones relativas a los criterios microbiológicos de los productos alimenticios, BOE num. 49, de 25 de febrero de 2010.

Real Decreto 176/2013, 2013. Real Decreto 176/2013, de 8 de marzo, por el que se derogan total o parcialmente determinadas reglamentaciones técnico-sanitarias y normas de calidad referidas a productos alimenticios., BOE núm. 76, de 29 de marzo de 2013.

Real Decreto 2452/1998, 1998. Real Decreto 2452/1998, de 17 de noviembre, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria para la elaboración, distribución y comercio de caldos, consomés, sopas y cremas., BOE núm. 281, de 24 de noviembre de 1998.

Real Decreto 3484/2000, 2001. Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas., BOE núm. 11, de 12 enero de 2001. Boletín oficial del estado, de 12 de enero de 2001, núm. 11. ppg 1435-1441. Disponible en : <https://www.boe.es/eli/es/rd/2000/12/29/3484>.

Redondo-Cuevas, L., Castellano, G., Raikos, V., 2017. Natural antioxidants from herbs and spices improve the oxidative stability and frying performance of vegetable oils. *Int. J. Food Sci. Technol.* 52, 2422–2428. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13526>

Reglamento (CE) 178/2002, 2008. Principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria, Diario Oficial de la Unión Europea. Bruselas.

Reglamento (CE) 2073/2005, 2005. Reglamento (CE) 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005 , relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios (Texto pertinente a efectos del EEE), Diario Oficial de la Unión Europea. Bruselas.

Reglamento (CE) 852/2004, 2004. Reglamento (CE) N° 852/2004 relativo a la higiene de los productos alimenticios, de 29 de abril de 2004., Diario Oficial de la Unión Europea. Bruselas.

Research and Markets, 2020. Europe Soup Market - Forecast (2020 - 2025) [WWW Document]. URL <https://www.researchandmarkets.com/reports/5021634/europe-soup-market-forecast-2020-2025#pos-0>. (accessed 10.29.21).

Richter, C.K., Skulas-Ray, A.C., Kris-Etherton, P.M., 2016. Recommended Intake of Fish and Fish Oils Worldwide, in: Raatz, S.K., Bibus, D.M. (Eds.), *Fish and Fish Oil in Health and Disease Prevention*. Academic Press, pp. 27–48.

Rodríguez-Alcalá, L.M., Harte, F., Fontecha, J., 2009. Fatty acid profile and CLA isomers content of cow, ewe and goat milks processed by high pressure homogenization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 10, 32–36. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.10.003>

Roesch, R.R., Corredig, M., 2003. Texture and microstructure of emulsions prepared with soy protein concentrate by high-pressure homogenization. *LWT - Food Sci. Technol.* 36, 113–124. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(02\)00208-6](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(02)00208-6)

Roig-Sagués, A.X., Asto, E., Engers, I., Hernández-Herrero, M.M., 2015. Improving the

- efficiency of ultra-high pressure homogenization treatments to inactivate spores of *Alicyclobacillus* spp. in orange juice controlling the inlet temperature. *LWT - Food Sci. Technol.* 63, 866–871. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.056>
- Roig-Sagués, A.X., Velázquez, R.M., Montealegre-Agramont, P., López-Pedemonte, T.J., Briñez-Zambrano, W.J., Guamis-López, B., Hernandez-Herrero, M.M., 2009. Fat content increases the lethality of ultra-high-pressure homogenization on *Listeria monocytogenes* in milk. *J. Dairy Sci.* 92, 5396–5402. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2495>
- Roos, N., Wahab, M.A., Chamnan, C., Thilsted, S.H., 2007. The Role of Fish in Food-Based Strategies to Combat Vitamin A and Mineral Deficiencies in Developing Countries. *J. Nutr.* 137, 1106–1109. <https://doi.org/10.1093/jn/137.4.1106>
- Rustad, T., 2010. Lipid oxidation, in: Nollet, L.M.L., & Toldra, F. (Eds.), *Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis*. CRC, Taylor & Francis group, New York, USA, pp. 87–95.
- Rustad, T., 2003. Utilisation of Marine By-Products. *Electr. J. environmental, Agric. food Chem.* 4, 458–463.
- Sánchez-Faure, A., Villaescusa, S., López Caballero, M.E., Montero García, P., Martínez Álvarez, Ó., 2017. Aprovechamiento de descartes de le pesca para el desarrollo de productos pesqueros, in: IX Congreso CyTA-CESIA (2017). *TrabIX Congreso CyTA-CESIA*, celebrado en Madrid del 16 al 19 de mayo de 2017., Madrid-espanha, p. 263.
- Sánchez Sendra, Á.P., 2019. Efectos Del Carotenoide Astaxantina En La Salud Humana, Según La Ciencia. *NPunto. Rev. para Prof. la salud.* 2, 46–58.
- Sandra, S., Dalglish, D.G., 2005. Effects of ultra-high-pressure homogenization and heating on structural properties of casein micelles in reconstituted skim milk powder. *Int. Dairy J.* 15, 1095–1104. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.11.015>
- Sauceda-Gálvez, J.N., Roca-Couso, R., Martinez-Garcia, M., Hernández-Herrero, M.M., Gervilla, R., Roig-Sagués, A.X., 2019. Inactivation of ascospores of *Talaromyces macrosporus* and *Neosartorya spinosa* by UV-C, UHPH and their combination in clarified apple juice. *Food Control* 98, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.11.002>
- Schubert, H., Engel, R., 2004. Product and Formulation Engineering of Emulsions. *Chem. Eng. Res. Des.* 82, 1137–1143. <https://doi.org/10.1205/cerd.82.9.1137.44154>
- SCP/RAC, 2007. Consumo consciente de pescado [WWW Document]. *Cent. Act. Reg. para el Consum. y la Prod. Sostenibles*. URL <http://www.cprac.org/consumpediamed/sites/all/documents/23pescado.pdf> (accessed 1.5.21).
- Secci, G., Parisi, G., 2016. From farm to fork: lipid oxidation in fish products. A review. *Ital. J. Anim. Sci.* 15, 124–136.
- Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V., 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-

- treated milk. *Food Hydrocoll.* 23, 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.11.015>
- Sevenich, R., Mathys, A., 2018. Continuous Versus Discontinuous Ultra-High-Pressure Systems for Food Sterilization with Focus on Ultra-High-Pressure Homogenization and High-Pressure Thermal Sterilization: A Review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 17, 646–662. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12348>
- Shahidi, F., Ambigaipalan, P., 2015. Novel functional food ingredients from marine sources. *Curr. Opin. Food Sci.* 2, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.12.009>
- Sidhu, K.S., 2003. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 38, 336–344. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2003.07.002>
- Silva, J.L., Chamul, R.S., 2000. Composition of Marine and Freshwater Finfish and shellfish Species and Their Products, in: Roy, M.E., Carter, E.P., Davis, L.M., Flick Jr, G.J. (Eds.), *Marine & Freshwater Products Handbook*. Technomic Publishing Company, Lancaster, Pennsylvania USA., pp. 31–45.
- Soni, A., Samuelsson, L.M., Loveday, S.M., Gupta, T.B., 2021. Applications of novel processing technologies to enhance the safety and bioactivity of milk. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 20, 4652–4677. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12819>
- Soriguer, F., Serna, S., Valverde, E., Hernando, J., Martín-Reyes, A., Soriguer, M., Pareja, A., Tinahones, F., Esteva, I., 1997. Lipid, protein, and calorie content of different atlantic and mediterranean fish, shellfish, and molluscs commonly eaten in the south of Spain. *Eur. J. Epidemiol.* <https://doi.org/10.1023/A:1007327304925>
- Suárez-Jacobo, Á., Gervilla, R., Guamis, B., Roig-Sagués, A.X., Saldo, J., 2010. Effect of UHPH on indigenous microbiota of apple juice. *Int. J. Food Microbiol.* 136, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.011>
- Suárez-Jacobo, Á., Rüfer, C.E., Gervilla, R., Guamis, B., Roig-Sagués, A.X., Saldo, J., 2011. Influence of ultra-high pressure homogenisation on antioxidant capacity, polyphenol and vitamin content of clear apple juice. *Food Chem.* 127, 447–454. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.152>
- Suárez-Jacobo, Á., Saldo, J., Rüfer, C.E., Guamis, B., Roig-Sagués, A.X., Gervilla, R., 2012. Aseptically packaged UHPH-treated apple juice: Safety and quality parameters during storage. *J. Food Eng.* 109, 291–300. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2011.09.007>
- Tabit, F.T., Buys, E.M., 2011. Incidence and survival of *Bacillus sporothermodurans* during processing of UHT milk. *Br. Food J.* 113, 505–518. <https://doi.org/10.1108/00070701111123989>
- Tesch, S., Freudig, B., Schubert, H., 2003. Production of Emulsions in High-Pressure Homogenizers – Part I: Disruption and Stabilization of Droplets. *Chem. Eng. Technol.* 26, 569–573. <https://doi.org/10.1002/ceat.200390086>
- Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L., Guiraud, J.P., Cheftel, J.C., 2003. High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. *Int. Dairy J.* 13, 427–439. <https://doi.org/10.1016/S0958->

- Toppe, J., 2016. Which Fish to Eat: Enjoying the Benefits While Minimizing the Risks. *Procedia Food Sci.* 6, 47–50. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2016.02.009>
- Toro-Funes, N., Bosch-Fusté, J., Veciana-Nogués, M.T., Vidal-Carou, M.C., 2014. Effect of ultra high pressure homogenization treatment on the bioactive compounds of soya milk. *Food Chem.* 152, 597–602. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.015>
- UE, 2020. REGLAMENTO (UE) 2020/1706 DEL CONSEJO de 13 de noviembre de 2020 relativo a la apertura y el modo de gestión de contingentes arancelarios autónomos de la Unión de determinados productos de la pesca para el período 2021-2023 EL, Diario Oficial de la Unión Europea. Bruselas.
- UE, 2011. Reglamento (UE) n° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo de 25 octubre 2011, sobre la información alimentaria facilitada al consumidor y por el que se modifican los Reglamentos (CE) no 1924/2006 y (CE) no 1925/2006 del Parlamento Europeo y del C, Diario Oficial de la Unión Europea. Diario Oficial de la Unión Europea L 304, Bruselas.
- Union Europea, 2020. La política pesquera común en datos y cifras. Luxemburgo. <https://doi.org/10.2771/14327>
- USDA, 2019. FoodData Central: Fish broth, Standard Reference Legacy Release (171606) NDB number 6963 [WWW Document]. U.S. Dep. Agric. Agric. Res. Serv. URL <http://fdc.nal.usda.gov> (accessed 9.26.19).
- Valencia-Flores, D.C., Hernández-Herrero, M., Guamis, B., Ferragut, V., 2013. Comparing the Effects of Ultra-High-Pressure Homogenization and Conventional Thermal Treatments on the Microbiological, Physical, and Chemical Quality of Almond Beverages. *J. Food Sci.* 78, E199–E205. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12029>
- van den Berg, R., Haenen, G.R.M., van den Berg, H., van der Vijgh, W., Bast, A., 2000. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem.* 70, 391–395. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00092-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00092-3)
- Velázquez-Estrada, R.M., Hernández-Herrero, M.M., Guamis-López, B., Roig-Sagués, A.X., 2012. Impact of ultra high pressure homogenization on pectin methylesterase activity and microbial characteristics of orange juice: A comparative study against conventional heat pasteurization. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 13, 100–106. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.09.001>
- Velázquez-Estrada, R.M., Hernández-Herrero, M.M., López-Pedemonte, T., Guamis-López, B., Roig-Sagués, A.X., 2008. Inactivation of Salmonella enterica Serovar Senftenberg 775W in Liquid Whole Egg by Ultrahigh Pressure Homogenization. *J. Food Prot.* 71, 2283–2288. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.11.2283>
- Velázquez-Estrada, R.M., Hernández-Herrero, M.M., Rüfer, C.E., Guamis-López, B., Roig-Sagués, A.X., 2013. Influence of ultra high pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 18, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.02.005>

- Velázquez-Estrada, R.M., López-Pedemonte, T.J., Hernández-Herrero, M.M., Roig-Sagués, A.X., 2020. Evaluation of *Mycobacterium smegmatis* as indicator of the efficacy of high hydrostatic pressure and ultra-high pressure homogenization treatments for pasteurization-like purposes in milk. *J. Dairy Res.* 87, 94–102.
<https://doi.org/10.1017/S0022029919001043>
- Velázquez Estrada, R.M., 2011. Evaluation of the efficacy of Ultra-High Pressure Homogenization technology to improve the safety and quality of liquid foods and especially of orange juice. TDX (Tesis Dr. en Xarxa).
- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D., 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agric. Food Chem* 46, 4113–4117.
- Venugopal, V., Gopakumar, K., 2017. Shellfish: Nutritive Value, Health Benefits, and Consumer Safety. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 16, 1219–1242.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12312>
- Vidal-campello, J.M.A., Rodrigues, M. do C.P., Vieira, J.M.M., Zapata, J.F.F., 2021. Métodos de Obtenção de Concentrado Proteico a partir de Resíduos da Filetagem de Tilápia, in: *Ciência e Tecnologia Do Pescado Uma Análise Pluralista*. Editora Científica Digital LTDA, Guarujá - São Paulo - Brasil, pp. 147–159.
<https://doi.org/10.37885/210404113>
- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., P.J. Ke, B.G.B., 1986a. Free Fatty Acid (FFA), in: *Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality*. Canadian Tech Report of Fisheries and Aquatic Sciences. Fisheries and Oceans, Nova scotia, Canada, pp. 82–86.
- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., P.J. Ke, B.G.B., 1986b. Peroxide value (POV), in: *Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality*. Canadian Tech Report of Fisheries and Aquatic Sciences. Fisheries and Oceans, Nova scotia, Canada, pp. 73–76.
- Woyewoda, A.D., Shaw, S.J., P.J. Ke, B.G.B., 1986c. Thiobarbituric acid test (TBA/TBARS), in: *Recommended Laboratory Methods for Assessment of Fish Quality*. Canadian Tech Report of Fisheries and Aquatic Sciences. Fisheries and Oceans, Nova scotia, Canada, pp. 65–72.
- Yanar, Y., Yanar, M., Buyukcapar, H.M., 2012. Seasonal Changes in Total Carotenoid Contents of Some Fish and Crustaceans Inhabiting the Eastern Mediterranean Sea. *J. Anim. Vet. Adv.* 11, 4501–4505. <https://doi.org/10.3923/javaa.2012.4501.4505>
- Ypsicon, 2018. Ultra High Pressure Homogenization/Sterilization [WWW Document]. URL <https://www.ypsicon.com> (accessed 10.19.21).
- Zamora, A., Guamis, B., 2015. Opportunities for Ultra-High-Pressure Homogenisation (UHPH) for the Food Industry. *Food Eng. Rev.* 7, 130–142.
<https://doi.org/10.1007/s12393-014-9097-4>
- Zhang, J., Tao, N., Qian, X., Wang, X., Wang, M., 2020. Evaluation of antioxidative capacity and lipidomics profiling of big eye tuna (*Thunnus obesus*) head soup with different

colloidal particle size. *Int. J. Food Sci. Technol.* 55, 3254–3266.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14588>

Zhang, J., Yao, Y., Ye, X., Fang, Z., Chen, J., Wu, D., Liu, D., Hu, Y., 2013. Effect of cooking temperatures on protein hydrolysates and sensory quality in crucian carp (*Carassius auratus*) soup. *J. Food Sci. Technol.* 50, 542–548.
<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0376-2>

Zhang, L., Zhu, C., Chen, X., Xu, X., Wang, H., 2021. Resistance of detached-cells of biofilm formed by *Staphylococcus aureus* to ultra high pressure homogenization. *Food Res. Int.* 139, 109954. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109954>