

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**TECNOLOGÍAS DE PROCESO, CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA Y
COMERCIAL DE LA MACROALGA *ULVA* SPP.**

Por

OLIVERA BERMÚDEZ, Fernando Martín

POPOVICH FURTADO, Nis Rossina

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias Orientación: Higiene, Inspección, Control y Tecnología de los Alimentos de Origen Animal

MODALIDAD: Estudio de caso

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2017**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Santiago Díaz

Segundo Miembro (Tutor):

Dr. José Pedro Dragonetti

Tercer Miembro:

Dr. Gonzalo Crosi

Co- Tutor:

Dra. Cristina Friss de Kereki

Fecha:

19/12/2017

Autores:

Fernando Martín Olivera Bermúdez

Nis Rossina Popovich Furtado

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a los docentes que fueron un pilar fundamental para que este trabajo pudiera llevarse a cabo, y apoyándonos y guiándonos para poder culminarlo con éxito.

A los docentes Dr. José Pedro Dragonetti y Dra. Cristina Friss de Kereki por darnos la posibilidad de realizar este trabajo, incentivarnos y dedicarnos su tiempo.

A la Dra. Graciela Fabiano y Dra. María Salhi por brindarnos su apoyo durante la elaboración de esta tesis y a la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca) por el apoyo técnico.

Al señor Marcos Nieddu por proporcionarnos muestras cuando no estaba a nuestro alcance trasladarnos hasta el departamento de Rocha.

A la Dra. Cristina López por permitirnos trabajar en las instalaciones del laboratorio de microbiología alimentaria, de la Facultad de Veterinaria.

A todas las personas que nos ayudaron en el correr de este proyecto como ser Dr. Santiago Díaz, Dra. Carina Galli, Br. Gonzalo Chalela, Br. Emanuel Garmendia entre otros.

A nuestra familia y amigos por acompañarnos y apoyarnos durante esta etapa.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTADO DE CUADROS Y FIGURAS.....	4
1. RESUMEN.....	8
2. SUMMARY.....	9
3. INTRODUCCIÓN.....	10
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
4.1. Características de las algas en general.....	11
4.2. Uso de las algas.....	11
4.3. Generalidades nutricionales de las algas.....	12
4.4. Mercado internacional de algas para consumo humano.....	12
4.5. Legislación internacional de algas.....	13
4.6. Algas del genero <i>Ulva</i>	15
4.7. Producción de algas.....	16
4.8. Procesado y almacenado de algas luego de su extracción.....	18
4.9. Deshidratación del alga.....	18
4.10. Congelación de algas.....	19
4.11. Calidad de las algas para consumo humano.....	19
4.12. Evaluación de la Calidad del alga fresca.....	20
4.13. Evaluación de la Calidad del alga deshidratada.....	24
4.14. Evaluación de la Calidad del alga congelada.....	25
4.15. Calidad en el empaque de algas.....	26
5. OBJETIVOS.....	27
5.1. Generales.....	27
5.2. Particulares.....	27
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27

6.1. Toma de muestra.....	27
6.2. Recolección de muestra	29
6.3. Procesamiento de las muestras.....	29
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
7.1. Muestras frescas.....	34
7.2. Muestras secas.....	36
7.3. Muestras congeladas.....	36
8. CONCLUSIONES.....	44
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Figura 1: Extracción de algas por tierra y por mar.....	17
Figura 2: Mapa aéreo de la zona de colecta: El Cabito, La Paloma.....	27
Figura 3: Mapa aéreo de la zona de colecta: El Faro, La Paloma	28
Figura 4: Zona de colecta: El Cabito, La Paloma.....	28
Figura 5: Zona de colecta: El Faro, La Paloma.....	29
Figura 6: Zona de colecta: El Faro, La Paloma.....	29
Figura 7: Valoración macroscópica de la <i>Ulva</i> spp.....	29
Figura 8: División en sub lotes para congelar y secado en estufa de la <i>Ulva</i> spp.....	30
Figura 9: Análisis de <i>Vibrio</i> en el laboratorio de Microbiología Alimentaria, Facultad de Veterinaria, UDELAR.....	31
Figura 10: Realización de omelette con algas congeladas en el Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria UDELAR.....	32
Figura 11: Realización de buñuelos con algas congeladas en el Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria, UDELAR.....	33
Figura 12: Determinación de <i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	33
Figura 13: Determinación de <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> (Chromagar).....	34
Figura 14: Determinación de <i>Mesofilos</i> (PCA).....	35
Figura 15: Determinación de <i>Staphylococcus Aureus</i> (Petrifilm®).....	35
Figura 16: Determinación de <i>Esterichia Coli</i>	35
Figura 17: Determinación de <i>Esterichia Coli</i>	36
Figura 18: Determinación de <i>Salmonella Shigela</i> (Agar con Neomicina)...	36
Figura 19: Determinación Bioquímica de <i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	37
Figura 20: Determinación Bioquímica de <i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	38
Figura 21: Determinación Bioquímica de <i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	39
Figura 22: Secado de <i>Ulva</i> spp en estufa.....	39
Figura 23: Determinación de humedad en <i>Ulva</i> spp	40
Figura 24: Determinación de humedad en <i>Ulva</i> spp	40
Figura 25: Determinación de cuerpos extraños en algas secas.....	41
Figura 26: Omelette elaborado a partir de algas congeladas.....	41
Figura 27: Omelette elaborado a partir algas secas.....	42

Figura 28: Buñuelos elaborados a partir de algas congeladas y secas.....	42
Figura 29: Buñuelos elaborados a partir de algas congeladas y secas.....	43

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Producción mundial de algas.....	13
Tabla 2: Límites microbiológicos establecidos según el reglamento centroamericano de alimentos.....	21
Tabla 3: Límites microbiológicos propuestos para la actualización del Reglamento Bromatológico Nacional.....	22
Tabla 4: Normativa para metales pesados según la Unión Europea.....	23
Tabla 5: Normativa para metales pesados según Francia.....	23
Tabla 6: Valores propuestos para la actualización del Reglamento Bromatológico Nacional.....	23
Tabla 7: Límites de detección metales pesados.....	31
Tabla 8: Ingredientes para la preparación de omelette.....	32
Tabla 9: Ingredientes para la preparación de buñuelos.....	33
Tabla 10: Algas frescas - incubación 24 hs.....	34
Tabla 11: Algas congeladas - incubación 24 hs.....	37
Tabla 12: Valores de cadmio obtenido en laboratorio LAAl.....	38

1.- RESUMEN

Se evaluó la calidad higiénico-sanitaria y comercial de la macroalga comestible *Ulva* spp., la cual se desarrolla en las zonas de El Cabito y El Faro, las mismas son recolectadas por pescadores artesanales del balneario La Paloma, Departamento de Rocha, Uruguay. Para ello, se recolectaron 5 muestras durante el año 2017. Se trabajó con muestras frescas, secas y congeladas. Se realizaron exámenes microbiológicos para determinar la presencia de *Mesófilos* totales, coliformes totales y fecales, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio* spp, hongos y levaduras; según las técnicas recomendadas por BAM (*Bacteriological Analytical Manual*), AOAC (*Official Methods of Analysis*) y ICSMF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*).

También se realizó la evaluación de calidad en cuanto al aspecto macroscópico, porcentaje de humedad, presencia de materia extraña (restos de concha, arena, etc.), metales pesados y evaluación sensorial. Para realizar ésta última se elaboraron a partir de algas secas y congeladas, omelette y buñuelos, utilizando harina de arroz y harina de trigo.

En todas las muestras analizadas tanto frescas, congeladas como secas, se obtuvieron valores de *E.coli*. por debajo de los límites internacionales establecidos como referencia con valor estimado <10 ufc/g, respecto a *Salmonella* spp no se obtuvo recuento bacteriano. Los recuentos promedio de *Mesófilos* en muestras frescas fueron de $6,4 \times 10^3$ ufc/g (valor máximo 1×10^4), en muestras congeladas $9,2 \times 10^2$ ufc/g (valor máximo 1×10^3). Los recuentos promedio de *Staphylococcus aureus* en muestras frescas fueron de $8,7 \times 10^2$ ufc/g (valor máximo 2×10^3 ufc/g), en muestras congeladas fueron de $4,3 \times 10^2$ (valor máximo 1×10^3 ufc/g). El recuento promedio de hongos fue de $5,5 \times 10^2$ ufc/g (valor máximo 1×10^3).

En las muestras analizadas para la determinación de *Vibrio* se obtuvieron resultados significativos en cuanto a la detección de *Vibrio parahaemolyticus* el cual es importante desde el punto de vista de la inocuidad de las algas.

En cuanto a metales pesados se detectó la presencia de cadmio con un valor máximo de $2,20 \pm 0,04$ mg/kg, estando por debajo de los valores establecidos por Unión Europea (3 mg/kg).

En base a los estudios realizados, la deshidratación es la tecnología más apropiada para preservar las características higiénico-sanitarias del producto.

Por último, en la degustación, se observó una mayor aceptación en omelette y buñuelos preparados con algas congeladas.

2. – SUMMARY

The hygienic-sanitary and commercial quality of edible seaweed *Ulva* spp. was assessed, which is present in "El cabito" and "el Faro" areas. They are gathered by artisanal fishermen of La Paloma, Department of Rocha, Uruguay. To do it, 5 samples were collected during 2017. Fresh, dry and frozen samples were used. Microbiological examinations were performed to determine the presence of entire mesophylls, total and fecal coliformes, Salmonella spp, Staphylococcus aureus, Vibrio spp, fungi and yeasts, according to the techniques recommended by BAM (Bacteriological Analytical Manual), AOAC (Official Methods of Analysis) and ICSMF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods).

The evaluation of quality was carried out in terms of macroscopic appearance, humidity, presence of foreign matter (remains of conch, sand, etc.), heavy metals and sensory evaluation. For the latter, evaluation was carried out from dry and frozen algae, omelet and fritters, using rice flour and wheat flour.

In all samples analyzed, (fresh, frozen and dry), value E.coli. below the international limits established were found (with reference value <10 ufc/g). In all samples analyzed, (fresh, frozen and dry) value of Salmonella were absence.

Average counts of mesophiles in fresh samples were $6,4 \times 10^3$ cfu/g (maximum 1×10^4), in frozen samples $9,2 \times 10^2$ cfu/g (maximum 1×10^3). Average counts of Staphylococcus in fresh specimens were $8,7 \times 10^2$ cfu/g (maximum 2×10^3 cfu/g), in frozen samples they were $4,3 \times 10^2$ (maximum 1×10^3 cfu/g). The average count of fungi was $5,5 \times 10^2$ cfu/g (maximum 1×10^3).

In the analyzed samples for determining Vibrio, significant results were obtained in terms of detection of Vibrio Parahaemolyticus, which is important from the point of view of algae innocuousness.

In terms of heavy metals detected the presence of cadmium with a maximum value of $2.20 \pm 0,04$ mg/kg, still below the values set by European Union (3 mg/kg).

Based on studies, dehydration is the most appropriate technology to preserve the features hygienic-sanitary of the product.

Finally, tasting, found greater acceptance in omelet and fritters prepared with frozen algae.

3. - INTRODUCCIÓN

Las algas verdes del género *Ulva* conocida como lechuga de mar son un tipo de alga que crecen en forma natural en zonas poco profundas de todos los océanos del mundo. *Ulva* spp. es la que más se consume en Uruguay. Sin embargo poco se sabe en nuestro país sobre las condiciones higiénico-sanitarias y los parámetros de calidad a aplicar en ellas. Son utilizadas para el consumo humano, y apreciadas por su característico sabor y propiedades nutricionales especialmente en el Departamento de Rocha, donde integran diferentes especialidades gastronómicas de la zona.

En los últimos años ha crecido el interés en el consumo de algas, anticipándose a la demanda, debido a que es uno de los alimentos más prometedores del siglo XXI (Fabiano, 2015).

En nuestro país además del género *Ulva* encontramos el género *Porphyra* que es utilizado para la elaboración de nori (ahumada y prensada) que se utiliza entre otros usos para la elaboración de sushi.

El deseo de los consumidores para buscar nuevos sabores y texturas ha abierto las puertas a las cocinas a este tipo de alimento, que se añade en ensaladas, para preparar bocaditos frito o galletitas saborizadas comercializados en Rocha, Maldonado y Montevideo.

Es necesario centrarnos en su calidad higiénico-sanitaria y comercial para mejorar los procesos de elaboración, protegiendo la salud del consumidor y satisfaciendo los requisitos del mercado.

Si bien aún no se cuenta con una normativa específica, ni valores de referencia a nivel nacional, existe el antecedente de un trabajo de tesis de grado “Revisión y actualización del capítulo 14 “Pescado y productos pesqueros” del Reglamento Bromatológico Nacional” (Galli y Márquez, 2017), que permite contar con un marco teórico para encuadrar el tema. En el mismo se incluye una sección macroalgas que sugiere parámetros de referencia basándose en la legislación internacional. Otro antecedente sobre el tema es la tesis de grado “Valoración higiénico-sanitaria de la macroalga comestible *Ulva* spp., en la Paloma, Departamento de Rocha: aspectos microbiológicos y de calidad” (Cortazzo y Pérez, 2015). Ambos trabajos de tesis se realizaron en el Instituto de Investigaciones Pesqueras “Prof. Dr. Víctor H. Bertullo” de la Facultad de Veterinaria.

4.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1.- Características de las algas en general

El término “algas” se aplica a aquellos organismos autótrofos cuya vida se desarrolla ligada al agua dulce o salada y que no desarrollan flores ni cuentan con sistema vascular desarrollado.

Las algas marinas se pueden dividir en dos grandes grupos, las macroalgas y microalgas, ambos son la base de todas las cadenas alimenticias allí existente; ambas con un gran potencial de desarrollo económico.

Las algas ocupan el primer eslabón de la cadena alimenticia en el ambiente acuático; estas plantas contienen clorofila, y pueden transformar en materia orgánica los compuestos inorgánicos que toman del medio a través de la energía luminosa por fotosíntesis, como lo hacen las plantas terrestres. Según el color se clasifican en: algas verdes *Chlorophycophyta*, algas pardas *Phaeophycophyta*, algas rojas *Rhodophycophyta* y algas azules *Cyanophycophyta* (Etcheverry, 1986).

Las macroalgas son un grupo de algas marinas pluricelulares macroscópicas que se caracterizan a diferencia de las plantas terrestres que presentan hoja, raíz y tallo, *Ulva* presenta un talo foliáceo expandido, fijándose al sustrato por el rizoide (Brandao, 1967).

Se las denomina bentónicas si viven fijas a un sustrato o al fondo, y planctónicas si viven de forma libre formando parte del plancton.

4.2.- Usos de las algas

Las algas concentran todas las riquezas del mar, se destacan por su alto valor nutritivo, escaso contenido en grasa y bajo en calorías. Aportan fibra, vitaminas, proteínas, aminoácidos, oligoelementos, yodo, magnesio, potasio, hierro, selenio, zinc entre otros. Utilizadas en forma tópica son adecuadas para tratamientos cosméticos, a partir de los alginatos y carrageninas mantienen la humedad de la piel (FAO, 2004).

En occidente, se comenzaron usando como fuente de ficocoloides (alginatos, carragenina y agar), agentes espesantes y gelificantes (Karacalar y Turan, 2008).

También se destaca el uso en los tratamientos de algoterapia, en cuanto a su característica coadyuvante en la activación de todas las defensas naturales del organismo.

También se las utiliza en la elaboración de biocauchos, para neumáticos, biodiesel, abono, producción de harina y alimentación en aves por su contenido en carotenos (Boraso y Zaixso, 2006), como alimento funcional por su capacidad de reducir el índice glucémico en los alimentos en los cuales se añade (Bravo, 2012).

Son utilizadas como fertilizantes por su alto contenido en fibras, minerales y oligoelementos. Para este fin se secan las que son arrastradas por la resaca, o se producen extractos de algas que se utilizan directamente en las plantas como fertilizantes (FAO, 2004).

Muchos productos de uso cotidiano contienen algas entre sus componentes: pasta dentífrica, cosméticos, champú, alimentos para animales, derivados lácteos, cremas, sopas y muchos otros productos.

Algunas algas pueden absorber iones de metales pesados, como zinc y cadmio del agua contaminada, existiendo la posibilidad de usarlas como tratamiento para la depuración de aguas residuales así como bioindicadores de contaminación (FAO,2004).

Existen trabajos que demuestran sus propiedades como agentes antimicrobianos (Arteaga y De Silvestri, 1985)

4.3.- Generalidades nutricionales de las algas

- a) Aporte calórico similar al de vegetales terrestres moderados
- b) Contenido de proteína cruda de moderado a alto (entre 8 a 15% en base seca) y composición de aminoácidos relativamente balanceada;
- c) Baja grasa, generalmente menor al 1% en base seca, pero con interesante composición de ácidos grasos de alto valor (como omega 3 y 6);
- d) Alto contenido de carbohidratos complejos, es decir fibra dietética (alrededor de 30% en base seca);
- e) Alto contenido de minerales, entre ellos hierro y zinc.
(Gómez, 2013)

4.4.- Mercado internacional de las algas para consumo humano

La industria de las algas ofrece una amplia variedad de productos que tienen un valor estimado anual de US\$ 5,5-6 mil millones. De ese total, los productos alimenticios para consumo humano representan un valor de 5 millones de dólares (FAO, 2004).

La demanda de algas, ya sea para consumo humano o para la elaboración de diferentes productos industriales, se ha intensificado en los últimos años, llegando a la producción mundial en 2014 de 23,8 millones de toneladas (FAO 2014). Según *American Dietetic Association* (2004) “conforme aumenta la población del planeta se pone de manifiesto la importancia de los limitados y preciados recursos naturales de la tierra y la necesidad de conocer e introducir nuevos alimentos que cubran las necesidades de una población que va en aumento y que al mismo tiempo aporten algún beneficio para la salud. Esto hace muy interesante el uso de alimentos funcionales, que son los alimentos que contienen algún componente, sea nutriente o no, con efecto beneficioso para el organismo humano”.

Se estima que, en 2012, se destinaron al consumo humano directo unos nueve millones de toneladas de algas cultivadas, sobre todo en Asia oriental, en forma de productos reconocibles como algas marinas por los consumidores. (FAO, 2014)

El cultivo de algas representa una industria que se encuentra en expansión en Japón y China; a medida que las naciones de estos países han emigrado a otras partes del mundo, la demanda de algas para la alimentación humana los han seguido, por ejemplo en algunas partes de EEUU y América del Sur como Chile que es el productor de algas más importante fuera de Asia, llegando a una producción de 21.700 toneladas en 2008 (FAO, 2008).

Los principales exportadores de algas para consumo humano son China y Corea respectivamente, mientras que Japón es el mayor importador de algas para consumo humano, debido a la falta de espacio físico que posee para cultivarlas.

Según el centro francés de estudios y valorización de las algas (CEVA, 2011) estima que las macroalgas cultivadas representan un 93% del total de la producción mundial y es la forma de producción que más aumenta anualmente. Por ejemplo en Indonesia la producción de macroalgas cultivadas pasó de ser de un millón de toneladas en el año 2005, a llegar a los 10 millones de toneladas en 2014 (FAO, 2016). Con respecto a los cultivos de microalgas, los valores de producción no están muy reflejados en las estadísticas a nivel mundial disponibles por la FAO. Ya que, por ejemplo, muy pocos países muestran sus datos sobre la producción de *Spirulina* spp. (FAO, 2016).

Las formas en las que podemos encontrar las algas en el mercado son deshidratadas, congeladas, liofilizadas o en salazón.

Tabla1: Producción mundial de algas

	Production			Average annual rate of growth		
	1990	2000	2008	1990–2000	2000–2008	1990–2008
	(Thousand tonnes)			(Percentage)		
China	6 482	21 522	32 736	12.7	5.4	9.4
India	1 017	1 943	3 479	6.7	7.6	7.1
Viet Nam	160	499	2 462	12.0	22.1	16.4
Indonesia	500	789	1 690	4.7	10.0	7.0
Thailand	292	738	1 374	9.7	8.1	9.0
Bangladesh	193	657	1 006	13.1	5.5	9.6
Norway	151	491	844	12.6	7.0	10.0
Chile	32	392	843	28.3	10.1	19.8
Philippines	380	394	741	0.4	8.2	3.8
Japan	804	763	732	-0.5	-0.5	-0.5
Egypt	62	340	694	18.6	9.3	14.4
Myanmar	7	99	675	30.2	27.1	28.8
United States of America	315	456	500	3.8	1.2	2.6
Republic of Korea	377	293	474	-2.5	6.2	1.3
Taiwan Province of China	333	244	324	-3.1	3.6	-0.2

Note: Data exclude aquatic plants.

Fuente: FAO 2010

4.5.- Legislación internacional de algas

La legislación al respecto es bastante omisa y es necesario avanzar en esto en cada país con el fin de facilitar la implementación y el desarrollo de esta actividad productiva en armonía con la pesca, el medio ambiente, la biodiversidad y otros usos del mar como la navegación y la recreación (algas tropicales, cultivo y uso como alimento (Radulovic y col, 2015).

1- Argentina: a) Código Alimentario Argentino, capítulo XI, sobre alimentos vegetales (actualizado 6/2013)

Artículo 878: "Con la denominación de Algas, se entienden los tejidos celulares frescos o secos de las plantas marinas, constituidos por células redondeadas o cilíndricas semejantes entre sí, que se reúnen para formar tejidos como los parenquimatosos".

"Las algas comestibles son únicamente las macroscópicas y en particular las variedades de *Porphira*, *Rhodophytas*, *Laminaria*, *Fucus*, *Macrocystis*, *Chondrus*, *Gracilaria*, *Clopterix*, etc. "

"Las que se expendan desecadas no deberán tener un contenido acuoso superior al 15%."

b) Ley N° 3273 sobre explotación de algas marinas.

2- Chile: Ley N° 18.892- Ley general de la pesca y la acuicultura (Gobierno de la República de Chile, 1991).

Referente a la preservación de los recursos hidrobiológicos y toda actividad pesquera extractiva, de acuicultura, de investigación y deportiva, que se realice en aguas terrestres, aguas interiores, mar territorial o zona económica exclusiva de la República y en las áreas adyacentes a esta última sobre las que exista o pueda llegar a existir jurisdicción nacional de acuerdo con las leyes y tratados internacionales.

3- Reglamento Centroamericano de Alimentos (RTCA 67.04.50:08 - 2009).

Este reglamento incluye a las algas en el grupo 4 referido a frutas y hortalizas: "Grupo 4 Frutas y hortalizas: esta categoría principal se divide en dos categorías: frutas y hortalizas frescas, y frutas y hortalizas procesadas (incluidos raíces y tubérculos, legumbres y leguminosas y aloe vera), hongos comestibles y setas, algas marinas, nueces y semillas".

4- Unión Europea: Reglamento (CE) N°834/2007 y sus Reglamentos de aplicación (CE) 889/2008 ,1235/2008, 1006/2015.

En la normativa europea, las algas se consideran "nuevos alimentos". Su consumo es insignificante o nula en la Comunidad Europea antes del 15 de mayo de 1997, cuando la aplicación del Reglamento 258/1997, la puesta en el mercado debe ser validado por el Panel NDA de la EFSA.

Se debe cumplir con los criterios toxicológicos y microbiológicos específicos.

Desde febrero 10 de 2014, 24 algas están permitidas para el consumo en Francia, en otros países de la UE, no hay una reglamentación específica sobre algas, salvo Bélgica. España carece de una legislación específica para las algas comestibles y sus derivados (Gómez, 2013). A pesar de los resultados obtenidos en varios análisis que se han realizado en algas

comestibles legales en España, y que se hayan detectado que estas presentan valores superiores a los permitidos en países como Francia con una legislación más estricta, sobre todo en los niveles de arsénico orgánico y cadmio (Holdt y Kraan, 2011).

4.6.- Algas del genero *Ulva*

Las algas del género *Ulva* (*Ulva* spp.) son comúnmente denominadas lechuga de mar debido a su color y forma característica. Crecen tanto en zonas altas como en zonas bajas intermareales, y en agua de hasta los 23 metros de profundidad. Se pueden encontrar en variadas zonas, ya sea expuestas al oleaje, en piletas de marea o sobre variados sustratos artificiales (Méndez, 1982).

Su longitud varía desde 15 cm hasta 60 cm. Su color varía desde el verde pálido en ejemplares jóvenes, verde brillante en adultas, y verde oscuro en algas muy maduras. La desecación provoca que queden blancas o negras (Cano, 2008).

La morfología es variada, pudiendo ser muy simples, con talos laminares o tubulares de formas muy diversas, las que se reproducen por esporas móviles y por gametas (sexuales), en donde los factores ambientales tienen gran influencia. Cuando el ambiente es rico en nutrientes presentan gran capacidad de crecimiento (Cano, 2008).

La primera cita de *Ulva lactuca* en Uruguay fue realizada por Howe en el año 1930 (Méndez, 1982). En 1979 el género *Ulva* spp., fue reportado por Javier Coll en el "Catálogo de algas citadas para el Uruguay". Más recientemente, en el año 2005 en Cabo Polonio, se llevó a cabo un relevamiento de fauna y macroalgas, en el cual se menciona la presencia de *Ulva lactuca* y *U. fasciata* (Peluffo, 2005).

Ulva lactuca y *U. fasciata* son muy abundantes en el entorno de la localidad de La Paloma, y son las únicas que se colectan en Uruguay para el consumo humano. *Ulva lactuca* se utiliza como alimento en Japón desde hace miles de años. En Europa es una de las algas alimentarias más conocidas en los últimos años.

No se encontraron trabajos publicados sobre el ciclo reproductivo de estas especies en Uruguay. Se tomó por ello como referencia la investigación realizada en Cuba por Cano (2008). Las observaciones realizadas *in situ* en la zona de cosecha de las algas durante la presente investigación, se asumen como similares a las presentadas por ese autor. El período reproductivo de estas macroalgas en La Habana (Cuba), correspondió a marzo - julio con buenas condiciones ambientales, los talos jóvenes crecen entre 3 mm y 5 mm en menos de un mes, y se tornan adultas entre 3 y 4 meses. En agosto se producen esporas, que posteriormente son liberadas, fijadas y germinadas dando lugar a nuevas plantas que alcanzan su talla máxima en diciembre y enero. Su ciclo de vida se estima entre 5 y 8 meses. La temperatura adecuada para el desarrollo de *U. fasciata*, oscilaría entre 24 °C y 26,5 °C en la superficie del mar, los niveles de radiación global fluctúan entre

13,4 mj.m-2 y 24 mj.m-2, y con precipitaciones moderadas que no exceden los 190 mm de acumulado mensual (Cano, 2008).

Por otra parte *Ulva* spp. presenta gran resistencia a la contaminación del medio en el que se encuentran, y *U. lactuca* es considerada como bioindicadora de contaminación del agua por su capacidad de filtrado y depuración, tolerando así altos niveles de contaminación (Castell, 2013). La composición química es similar a la de los demás grupos de algas. *Ulva lactuca* contiene 16% de hidrato de carbono, 14% de proteínas y 0,04% de grasas y aminoácidos. Como sustancia de reserva elaboran almidón (Etcheverry, 1986).

4.7.- Producción de algas

Cultivo de algas:

El cultivo de algas en el mar se ha vuelto algo relativamente común y fácil, cada vez son más países que lo incorporan. El rendimiento de dicho cultivo puede superar las 200 toneladas en peso fresco por hectárea. Las ventajas de cultivar algas cubren sin problema los costos de implementación, mantenimiento y cosecha, sobretodo en el caso de existir mercado. En Asia y África se cultivan algas para la producción de hidrocoloides, lo cual es una fuente de ingresos para las poblaciones costeras de bajos recursos. Cultivar algas para consumo humano depende de que haya uso para esas algas, es necesario romper el ciclo de que “no hay producción porque no hay uso y no hay uso porque no hay producción”. Cuando esto se logre se disparará un interés generalizado en cultivar y consumir las algas marinas. (Radulovic y col, 2015).

El cultivo de algas presenta algunas variantes:

- a) Cultivo en el mar en líneas o redes, puede ser cultivo de fondo o en flotación, se utilizan pedazos de tejido (propágulos vegetativos) amarrados a las cuerdas o redes, o se implementan técnicas de laboratorio para que a las cuerdas o redes se les peguen esporas que luego se convertirán cada una en un alga. La más utilizada es la línea flotante utilizando propágulos vegetativos.
- b) Cultivo en aguas tranquilas en tierra como estanques, canales de salida de estanques y dentro de jaulas. Esta forma de cultivo se utiliza generalmente para limpiar las aguas de estanque de camarones antes de ser devuelta al mar.
- c) Cultivo en medio natural, se utiliza cuando se desea repoblar o aumentar población natural de determinado tipo de algas. Se siembran en arena o rocas.

Mientras la producción de peces y camarones en jaulas presenta una connotación negativa con respecto al medio ambiente y la biodiversidad, el cultivo de algas es una producción limpia y eco-amigable, purifica las aguas de excesos de nutrientes (bioremediación) y fomenta la biodiversidad. La producción de bivalvos de concha (ostras, mejillones) es también bastante limpia y puede realizarse en conjunto con cultivo de algas, aprovechando las instalaciones. (Radulovic y col, 2015).

Extracción y recolección:

El alga puede ser recolectada del intermareal, por playa, actividad que puede ser riesgosa para los algueros dependiendo de la zona. En algunas zonas se deslizan por los escarpados con cabos amarrados al cuerpo (acorde a la pendiente), donde otro alguero traslada los “atados” de algas hasta la cima; en otras zonas más planas se acercan caminando hasta la ubicación del alga; la extracción por mar se realiza con embarcaciones y cámaras inflables.

La extracción sea por mar o por playa, se realiza utilizando una barreta de hierro de 1,0 a 1,5 m de longitud, con la cual se remueve el alga desde la base.

La extracción, por mar, se realiza mediante buceo semiautónomo, utilizando para ello hasta dos buceadores que arrancarán los “atados” barreteando, y dos o tres tripulantes de la embarcación que los izarán por medio de cabos.

En el caso por playa el alguero, retira el alga y la lleva a la playa para el secado en la misma zona.

La modalidad de colecta se realiza en varaderos de algas, en primavera y verano; es una actividad que realizan hombres y mujeres de la zona, en algunos casos familias constituidos por padres e hijos. Para retirar las algas varadas utilizan un gancho o “ranflin” asegurado por una “huaraca” (soguilla de lana de oveja).



Figura 1- Extracción de algas por tierra y por mar

Para la colecta de las algas, es necesario consultar las tablas de marea que hoy en día son proporcionadas en páginas web, o en aplicaciones para teléfonos celulares. Esto permite ubicar las zonas horarias de bajamar. El momento ideal para recolectar es cuando la marea comienza a bajar, de esta forma se facilita la recolección de masas de algas sumergidas y frescas, y se evita la colecta de formas desprendidas o desecada.

El transporte de la cosecha a tierra es una operación de cierta complicación, sobre todo tratándose de cientos de kilos o incluso toneladas de material que debe llevarse cuidadosamente.

Luego de que el material llega a tierra, este debe ser sometido a un proceso de limpieza y selección, las algas pueden ser consumidas en los próximos días o ser deshidrata utilizando el sol u hornos para evitar su descomposición.

Se recomienda consumir las algas frescas dentro de las 24 horas de recolección, también pueden guardarse en heladera por varios días dependiendo de la especie (Maquera y col, 2012).

4.8.- Procesado y almacenamiento de algas luego de su extracción

Las algas recibidas son pesadas y colocadas en bandejas para luego ser rápidamente enfriadas (4-5 ° C) o congeladas (-18 ° C) con una humedad relativa del 80%.

Se deberá controlar la temperatura de las algas, evitando que se eleve por encima de los 10 ° C, para ello será necesario retirar de la cámara solamente la cantidad mínima a utilizar en la sala de proceso.

Se realiza el lavado de algas, el cual es un paso fundamental, porque las algas que son extraídas sobre todo en zonas de oleaje presentan arena, y restos de bivalvos y artrópodos que si no son removidos en su totalidad generan una respuesta sensorial desagradable en el producto final.

La eliminación de la carga bacteriana es otra etapa importante dentro del proceso, se deberá utilizar un producto que no deje residuos y no produzca cambios en el olor ni en el color, luego de este paso las algas serán dispuestas en bandejas, para su traslado a una cámara de 0 °C, donde permanecerán almacenadas por un periodo de tiempo, eliminando la máxima cantidad de agua. Es importante tomar todas las consideraciones y control de puntos críticos, para evitar la contaminación del producto durante su almacenamiento, como la desinfección previo al almacenado en cámara y la disposición de las bandejas con algas, sobre una primera bandeja vacía (falsa), evitando que el producto tenga contacto directo con el piso.

4.9.- Deshidratación de algas

El deshidratado consiste en eliminar el agua que contiene la materia prima, mediante evaporación por medio de fuentes de calor solar o eléctrico. El eliminar el agua de los tejidos impide el crecimiento de las bacterias, mohos y levaduras que no pueden vivir en un medio seco. Este método remueve el agua de los alimentos hasta que su contenido se reduzca a un 10 o 20% con el objeto de prolongar la vida útil de los productos.

Los alimentos deshidratados no necesitan ser refrigerados y conservan mejor sus componentes nutricionales ya que el proceso es simple y fácil de realizar. (Santos, 2013).

Utilización del alga deshidratada como ingrediente:

Una vez deshidratadas, se pueden utilizar directamente tras remojo o secas en recetas o para preparar harinas y condimentos para incorporarlas en varias recetas. El remojo se hace poniendo la cantidad de alga que se desea en un recipiente, se agrega agua que la cubra ligeramente y se deja reposar por al menos 30 minutos (se puede revolver ocasionalmente para acelerar y homogenizar el proceso). Las algas absorben gran cantidad de agua tras el

remojo, aunque no llegan nunca a reconstituirse totalmente, pero logran una suavidad y volumen que abre una gama de opciones para su utilización como ingrediente. (Santos, 2013).

4.10.- Congelación de algas

Se entienden por algas congeladas a los productos preparados a partir de algas sanas, frescas que hayan sido sometidas a un proceso de congelamiento, mantenidas a una temperatura de -18°C o inferior en todos los puntos de la cadena de frío.

Este proceso de congelación deberá efectuarse de tal forma que la temperatura de cristalización máxima se pase rápidamente. El proceso de congelación no deberá considerarse completo hasta que, una vez lograda la estabilización térmica, el centro térmico del producto haya alcanzado, una temperatura de -18°C (0°F). (Codex, 2015)

Debido a la estructura y organización celular, las algas sufren durante el proceso de congelación una serie de modificaciones como consecuencia del cambio de estado, de líquido a sólido, de su agua de constitución. Este fenómeno origina un aumento de volumen que depende principalmente de la cantidad de agua congelable y del gas contenido en los espacios intercelulares. (Muñoz, 1985).

4.11.- Calidad de las algas para consumo humano

La calidad e inocuidad de los alimentos son imprescindibles para la seguridad alimentaria, la salud pública y el desarrollo económico. La mejora de la inocuidad de los alimentos es necesaria para aumentar la seguridad alimentaria, que se consigue cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico, social y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana (FAO, 1996). Un mayor suministro de alimentos inocuos y sanos reduce los efectos de las enfermedades transmitidas por los alimentos, que provocan todos los años numerosas enfermedades y fallecimientos, además de tener consecuencias nocivas en la economía, tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados.

Vida útil:

La vida útil es el período de tiempo en el cual un alimento es seguro para el consumo y tiene una calidad aceptable para los consumidores (Labuza, 1982). La vida útil de un alimento representa también aquel período durante el cual el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario, manteniendo las características sensoriales, funcionales y nutricionales por encima de los límites de calidad previamente establecidos como aceptables.

Las algas frescas son productos altamente perecederos, con una vida útil de unas pocas horas si no se toman las medidas de manejo y tratamiento después de cosechadas en la playa. De la calidad de la materia prima depende la calidad final del producto.

Las reacciones de deterioro se pueden clasificar en: Microbiológicas, Químicas, Físicas y Físico-Químicas. Tecnológicamente se deben establecer las condiciones de proceso para aumentar la vida útil de los productos.

El modo de recolección y el posterior procesamiento de la materia prima; son fundamentales para lograr un producto de excelente calidad.

4.12.- Evaluación de la Calidad del alga fresca

Sensorial

Según Wittig (1981) “La evaluación sensorial es una disciplina científica que trabaja con los receptores sensoriales y la capacidad integradora de individuos, entrenados o no, que hacen uso de sus sentidos como instrumento de medición. Esta disciplina constituye hoy en día un pilar fundamental para el diseño y desarrollo de nuevos productos alimenticios”

Color: verde claro (verde pasto o verde amarillento)

Olor: a mar

Textura: suave y de muy poco espesor (Se trasluce la mano al tomarla)

Microbiológicos

Las algas marinas tienen una importancia fundamental como alimento natural para los organismos acuáticos explotados por el hombre, incluyendo peces y bivalvos. Las mismas son colonizadas por bacterias procedentes del ambiente marino donde se desarrollan. Estos micronichos, participan activamente de la degradación de las algas mediante la acción de enzimas hidrolíticas. Por este motivo, constituyen un eslabón importante en la cadena trófica, no solo por su participación en la degradación de la materia orgánica y liberación de los elementos minerales, sino también por su participación en los ciclos del carbono y del nitrógeno en los ecosistemas marinos. La microbiología marina sufre constantes modificaciones en función de la propia evolución de la degradación de la materia orgánica.

Las macro algas analizadas en este trabajo pertenecen al género *Ulva*, clasificadas como algas verdes. Son especies que se encuentran exclusivamente en agua marina salada, están asociadas a diferentes bacterias estableciéndose una simbiosis entre el alga y las bacterias. Esta interacción, es beneficiosa tanto para el alga como para la bacteria (Wichard, 2015).

Tabla 2: Límites microbiológicos establecidos según el reglamento centroamericano de alimentos (RTCA 67.04.50:08 – 2009)

Microorganismos	Alga fresca	Alga congelada	Alga deshidratada
<i>Coliformes fecales</i>	93 NMP/gr.	-----	20 NMP/gr.
<i>Salmonella</i> spp.	ausencia en 25 g	ausencia en 25 g	ausencia en 25 g
<i>Escherichia coli</i>	< 3 NMP/gr.	< 3 NMP/gr.	< 3 NMP/gr.
<i>Listeria monocytogenes</i>	ausencia en 25 g	ausencia en 25 g	ausencia en 25 g

Tabla 3: Límites microbiológicos establecidos para la actualización del Reglamento Bromatológico Nacional (Galli y Márquez, 2017)

Microorganismos	Alga fresca
<i>Coliformes fecales</i>	93 NMP/gr.
<i>Salmonella</i> spp.	ausencia en 25 g
<i>Escherichia coli</i>	< 3 NMP/gr.
<i>Listeria monocytogenes</i>	ausencia en 25 g
<i>Vibrio Parahemoliticus</i>	< 100 NMP
<i>Aerobios mesofilos</i>	5×10^4

Metales pesados:

Aunque las macroalgas son una importante fuente de minerales esenciales para los seres vivos, éstas también actúan como bioacumuladores de sustancias tóxicas, tales como mercurio, plomo, cadmio que se encuentran presentes en el medio ambiente.

Según Rosas (2001) “En el suelo existen diferentes metales y estructuras geológicas que son fuente de una gran variedad de iones (metales pesados) y que están disueltos en sistemas acuáticos; los mismos que se disuelven de acuerdo a su solubilidad. Algunos de estos iones se encuentran en forma mayoritaria respecto a los demás elementos en todas las aguas continentales, mientras que los otros se hallan a niveles de trazas, como el caso de los metales pesados, siendo algunos de ellos necesarios para el correcto desarrollo de los microorganismos, plantas y animales”.

La contaminación en los sistemas acuáticos por metales pesados se produce, entre otras razones, por actividad antropogénica (actividad humana). El otro factor que produce la contaminación por metales pesados en el ciclo hidrológico, procede de diversas fuentes, siendo una de ellas de origen litogénico o geoquímico, es decir, a partir de los minerales por causa de la erosión, lluvia, etc son arrastrados al agua. Los metales pesados son

fácilmente absorbidos por los seres vivos, por lo cual es difícil eliminarlos del medio donde se encuentran. El metal en forma iónica se absorbe más que estando en forma elemental, si ésta se halla en forma reducida aumentan las posibilidades de su oxidación y retención por los diversos organismos vivos (Mero, 2010).

Centros de adsorción de las algas marinas (adsorción de metales pesados):

La propiedad que poseen las algas para adsorber selectivamente cationes metálicos pesados es gracias a la presencia de grupos funcionales con elevada densidad electrónica: fucoídanos y alginatos, siendo estos últimos, los mayores responsables en este proceso. Si bien su capacidad de adsorción es relativamente baja, su efectividad se manifiesta a bajo pH. Es por ello que las algas marinas, aún mantienen cierta capacidad adsorbente de metales pesados bajo estas condiciones, incluso a valores cercanos a 2 ppm. Los fucanoides podrían constituir una poderosa herramienta frente a condiciones extremas de las aguas residuales (fuertemente ácidas) ya que adsorben metales tóxicos bajo esas condiciones, pero desafortunadamente, las cadenas polisacáridas de alginato (enlaces glicosídicos) son inestables y la hidrólisis es un factor limitante para su uso extensivo, deteriorando sus propiedades mecánicas al aumentar su solubilidad en agua como producto de su fraccionamiento (Cuizano y Navarro, 2008).

La absorción de cadmio por las algas es la principal vía de entrada en las cadenas tróficas.

Los niveles de cadmio en los alimentos varían de acuerdo al ambiente, la producción y manufactura. Entre los metales no esenciales de importancia toxicológica se puede mencionar el plomo, mercurio y cadmio. (Pérez G, 2006).

A nivel internacional, se ha estudiado con particular interés el comportamiento de varias algas marinas como biosorbentes de metales tóxicos, por su carácter renovable y bajo costo. En este contexto, la potencialidad de utilizar las abundantes y variadas algas marinas para el tratamiento de aguas contaminadas constituye una alternativa atractiva, considerando especialmente su fácil disponibilidad a muy bajo costo. (Basso y col, 2002).

Tabla 4: Normativa para metales pesados según la Unión Europea en base fresca (CE1006/2015)

Elemento	Contenido máximo(mg/kg)
Mercurio	0,1
Cadmio	3
Plomo	3
Arsénico Inorgánico	1

Pérdida de calidad durante el almacenamiento del alga fresca

Durante el almacenamiento ocurre una degradación causada principalmente por desecación de las células de la planta. La pérdida de los líquidos celulares concentra las enzimas que empiezan a romper las paredes celulares y se inicia la alteración o podredumbre. (Arias, 2009).

La mayoría de las condiciones de almacenamiento están interrelacionadas y es difícil de estudiar la influencia de una de ellas por separados sin tener en cuenta las otras, dentro de estas se encuentran; la temperatura, humedad relativa, circulación y renovación de aire, acopio y densidad de almacenamiento.

Si la temperatura de almacenamiento fluctúa de forma importante y durante un tiempo prolongado, las pérdidas de calidad sufridas serán importantes.

La refrigeración es un método suave de conservación y ejerce pocos efectos adversos sobre el sabor, textura y valor nutritivo. No obstante, al tratarse de productos perecederos, el periodo de almacenamiento con una temperatura interna de 5-6 ° C y sin control de humedad, las algas se mantienen por 5 días. (Muñoz, 1985).

Deterioros más comunes producidos durante el almacenamiento de algas frescas (De la Fuente, 2005):

Los deterioros más comunes que pueden ocurrir en las algas durante el almacenamiento son:

- ❖ Crecimiento y desarrollo de microorganismos: bacterias, levaduras y hongos.
- ❖ Decoloración de pigmentos del alga por ejemplo; clorofilas, ficoeritrinas.
- ❖ Exudación de líquido.
- ❖ Manchas blancas por presencia de sales y azúcares que se desplazan hacia la superficie.
- ❖ Cambios de textura.
- ❖ Aparición de olores anormales.

4.13.- Evaluación de la Calidad del alga deshidratada

Se realiza la deshidratación del alga con el propósito de reducir el contenido de humedad, permitiéndonos su almacenamiento, éste puede llegar hasta los 12 meses, sin que se pierdan las propiedades, siempre y cuando se guarden en bolsas plásticas bien cerradas, en un sitio seco preferiblemente en la oscuridad. Otra ventaja del deshidratado, por supuesto, es la reducción en volumen y peso que facilita el transporte (Radulovic y col, 2015).

Según Santos (2013), “ la desecación o deshidratación lleva a disminuir la humedad relativa o la actividad del agua y, en estas condiciones, los microorganismos no crecen y la mayoría de las reacciones químicas y enzimáticas de alteración quedan detenidas”.

Parámetros de Calidad

Textura

En los alimentos adecuadamente escaldados las pérdidas de textura son asociadas a la gelatinización del almidón, la cristalización de la celulosa y por tensiones internas provocadas por variaciones localizadas en el contenido del agua durante la deshidratación. Estas tensiones dan lugar a roturas y compresiones que provocan distorsiones permanentes en la célula, confiriendo al alimento un aspecto arrugado.

Sabor

El calor provoca el paso del agua a vapor durante la deshidratación y también la pérdida de algunos componentes volátiles del alimento. La intensidad con la que esta pérdida se produce, depende de la temperatura y de la concentración de sólidos en el alimento, así como de la presión de vapor de las sustancias volátiles y la solubilidad en el vapor de agua. Una segunda

causa importante de las pérdidas de sabor por la deshidratación, la constituye la oxidación de los pigmentos, vitaminas y lípidos durante el almacenamiento. Estas oxidaciones se producen por la presencia de oxígeno, como consecuencia de la estructura porosa que se desarrolla durante la deshidratación.

Color

La deshidratación cambia las características de la superficie del alimento y por tanto su color. Los cambios químicos experimentados por los pigmentos derivados, el caroteno y la clorofila, son producidos por el calor y la oxidación que tienen lugar durante la deshidratación. Por lo general, cuanto más largo es el proceso de deshidratación y más elevada la temperatura, mayores son las pérdidas en estos pigmentos. Los tiempos de deshidratación deben ser cortos, las temperaturas bajas y durante el almacenamiento, el contenido en agua y la concentración de oxígeno debe también mantenerse bajos para evitar posibles pérdidas que, de lo contrario, podrían llegar a ser importantes. (Santos M., 2013).

4.14.- Evaluación de la Calidad del alga congelada

Si bien la congelación en condiciones óptimas es un buen método de conservación de los alimentos puesto que permite que estos conserven el valor nutritivo y los atributos de calidad originales, también se producen algunos cambios cuya importancia es variable.

El alga deberá manipularse en condiciones tales que se mantenga la calidad durante el transporte, almacenamiento y distribución, hasta el momento de la venta final inclusive.

Las cámaras frigoríficas deben estar diseñadas y funcionar de tal manera que la temperatura del producto se mantenga a -18°C o a un nivel más frío, con fluctuaciones mínimas. La temperatura de la cámara frigorífica puede constituir una disposición esencial de calidad y/o un punto crítico de control (PPC) para evitar una situación de uso inadecuado de una temperatura crítica que pueda poner en peligro la inocuidad de los alimentos. Los productos deben colocarse en la cámara frigorífica de tal modo que la circulación del aire frío no se obstaculice, además garantizar que los primeros productos en entrar a la cámara frigorífica sean los primeros en salir.

Parámetros de Calidad:

Las algas congeladas deberán (Codex 2015):

- ❖ presentar un color razonablemente uniforme característico de la variedad que corresponda;
- ❖ estar limpias y exentas de arena, tierra y de otras materias extrañas;
- ❖ estar exentas de plagas y de los daños que causan,

- ❖ tener un sabor y olor característico, teniendo en cuenta cualesquiera aderezos o ingredientes que se hayan añadido.
(Codex, 2015)

4.15.- Calidad en el empaque de algas

Como parámetro fundamental para lograr que un empaque, envase o envoltura cumpla su objetivo, está en seleccionar perfectamente el material con el cual se va a elaborar.

El material elegido estará complementado con otro y todos los que participen, deben cumplir con normas como:

- ❖ Ser totalmente atóxicos
- ❖ Aptos para alimentos
- ❖ No encarecer los productos
- ❖ Facilitar su reciclaje
- ❖ No afectar el medio ambiente
- ❖ Facilitar las funciones de empaque
- ❖ Cumplir con las normas técnicas

Todos los posibles riesgos los podemos resumir técnicamente de la siguiente manera:

Físicos

Protección de la humedad excesiva o resecamiento, de la luz que puede acelerar su descomposición y de la pérdida de peso o de volumen.

Mecánicos

Protección contra golpes causados por caídas, compresión por otros productos o elementos colocados encima o a los lados, por las continuas vibraciones en el transporte, o roturas en el almacenamiento.

Térmicos

Protección de temperaturas bajas o altas, que se presenten durante el transporte o en el almacenamiento.

En ningún momento la temperatura del producto debería ser superior a -12°C. Después de la entrega, la temperatura del producto debería reducirse lo antes posible hasta alcanzar los -18°C.

Las operaciones de carga y descarga de los vehículos, así como de las cámaras frigoríficas, deberían ser tan rápidas como sea posible.

Según Otero (2014). "El empaque debe ante todo proteger de todos los riesgos que puede correr el producto desde el momento de la recolección hasta llegar a ser consumido en su totalidad, es decir, mientras sucede todo el ciclo de comercialización, almacenamiento, exhibición, venta y consumo final.

5.- OBJETIVOS:

5.1.- Objetivos generales

- Determinar cuál es la tecnología de proceso más adecuada para preservar las características naturales de la *Ulva* spp.
- Evaluar la calidad higiénico- sanitaria de *Ulva* spp. fresca.
- Evaluar la calidad comercial de *Ulva* spp. fresca.

5.2.- Objetivos particulares

- Evaluar la calidad de *Ulva* spp congelada y deshidratada.
- Evaluar la calidad higiénico-sanitaria de *Ulva* spp. congelada y deshidratada.
- Identificar cuál de las tecnologías de preservación aplicada es más apropiada para preservar la calidad sensorial del producto.
- Determinación de metales pesados en *Ulva* spp.

6.- Materiales y métodos

6.1.- Toma de muestras

Las algas recolectadas provienen de los parajes conocidos como El Cabito y El Faro, en La Paloma (Departamento de Rocha, Uruguay), donde es frecuente su extracción para consumo humano. De allí se extrajeron algas adheridas al sustrato rocoso. (Figura 2, Figura 3).

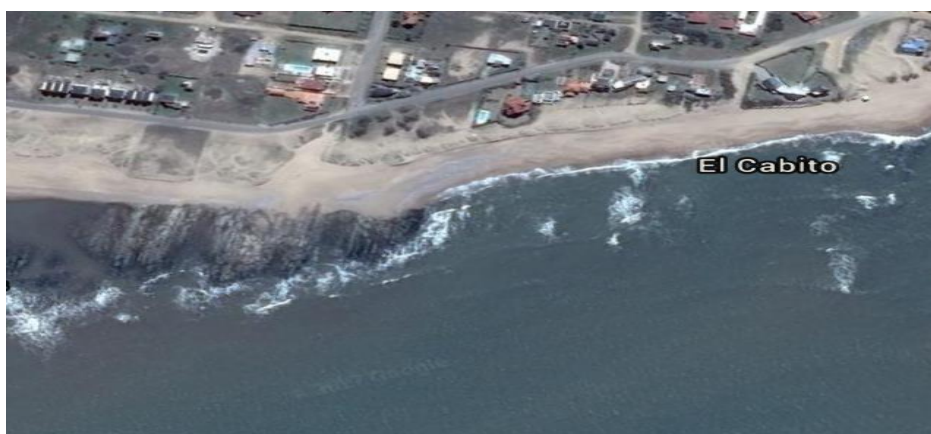


Figura 2: Mapa aéreo de la zona de colecta: El Cabito, La Paloma



Figura 3: Mapa aéreo de la zona de colecta: El Faro, La Paloma



Figura 4: Zona de colecta: El Cabito, La Paloma



Figura 5: Zona de colecta: El Faro, La Paloma



Figura 6: Zona de colecta: El Faro, La Paloma

La toma de muestras se realizó en 3 estaciones del año diferentes, otoño, invierno y primavera.

El criterio de selección para la zona de muestreo, tuvo en consideración que dicho lugar es un sitio de extracción de algas, para la fabricación de buñuelos y bocaditos con algas. Además, es una zona de fácil acceso para cualquier persona desde la playa.

6.2.- Recolección de muestras

Se realizaron 5 colectas distribuidas en el tiempo. La colecta se realizó de forma manual. Las algas se colocaron directamente en bolsa de *Stomacher*, retirando el exceso de agua, y siendo refrigeradas inmediatamente en una caja isotérmica con hielo para su transporte al Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria, UDELAR.

6.3.- Procesamiento de las muestras

Se procedió al pesaje bruto y limpio de la muestras de algas frescas luego de su evaluación de calidad; la cual consistió en la valoración del aspecto macroscópico en base a atributos como color, forma y presencia de materiales extraños (hojas frondas, marchitas, conchillas y otros cuerpos extraños).



Figura 7: Valoración macroscópica de la *Ulva* spp.

Se dividió en dos lotes, uno de ellos fue colocado en estufa con aire circulante para su posterior determinación de materia extraña mediante luz ultravioleta (UV) de longitud de onda de 250 nm y el otro fue dividido en sub-lotes forrados con polietileno colocados en moldes y se congelaron para determinación de temperatura superficial, temperatura profunda, peso, humedad y determinación de materia extraña mediante lámpara UV.



Figura 8: División en sub lotes para congelar y secado en estufa de la *Ulva* spp.

Procesamiento microbiológico:

Las muestras recolectadas fueron procesadas en el Instituto de Investigaciones Pesqueras “Prof. Dr. Víctor H. Bertullo”, Facultad de Veterinaria, UDELAR.

Algas frescas:

Los medios utilizados fueron: PCA (*plate count agar*) para determinación de mesófilos totales, Petrifilm® (Placa para recuento de bacterias *E. coli* y coliformes) para determinación de *E. coli*, (Placa para recuento de Staph Express) para determinación de *Staphylococcus aureus*. Para la determinación de *Salmonella* spp. se utilizó medio de cultivo *Salmonella Shigella Agar* con Novobiocina.

Algas secas:

Los medios utilizados fueron: Petrifilm® (Placa para recuento de bacterias *E. coli* y coliformes) para determinación de *E. coli*, Petrifilm® (Placa de mohos y levaduras) para determinación de hongos y levaduras. Para la determinación de *Salmonella* spp. se utilizó medio de cultivo *Salmonella Shigella Agar* con Novobiocina.

Algas congeladas:

Los medios utilizados fueron: PCA (*plate count agar*) para determinación de mesófilos totales, Chromagar para determinación de *Vibrio Parahaemolyticus*, *Vulnificus* y *Alginolyticus*, Petrifilm® (Placa para recuento de bacterias *E. coli* y coliformes) para determinación de *E. coli*, Petrifilm® (Placa para recuento de Staph Express) para determinación *Staphylococcus*

aureus. Para la determinación de Salmonella spp. se utilizó medio de cultivo Salmonella Shigella Agar con Novobiocina.

Procesamiento en el laboratorio:

Se colocaron 10 g de muestra en una bolsa de *Stomacher* con 90 ml de suero fisiológico. Se realizaron 3 diluciones en tubos con 9 ml de suero fisiológico. Se fueron preparando los medios a medida que se procesaron las muestras, siguiendo con los procedimientos establecidos para cada uno de ellos, y se realizaron las siembras según las técnicas descritas por el BAM (*Bacteriological Analytical Manual*), AOAC (*Official Methods of Analysis*) y ICSMF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*)

Procesamiento utilizado para la determinación de Vibrio:

Se procedió al pesaje de 25 g de algas y se colocaron en bolsa de *Stomacher* con 250 ml de agua peptonada alcalina, se homogenizaron y se incubaron a 37° C durante 24 hs (enriquecimiento). Se sembró en medio Chromagar mediante estrías en placa y luego se incubó a 37 ° C durante 24 hs en condiciones aerobias.

Por último se examinaron las placas para investigar la presencia de colonias típicas de Vibrio y fueron sometidas a pruebas bioquímicas (Citocromoxidasa).



Figura 9: Análisis de Vibrio en el laboratorio de Microbiología Alimentaria, Facultad de Veterinaria, UDELAR

Determinación de metales pesados:

Se analizaron 3 muestras de algas secas de género *Ulva* para la determinación de mercurio, cadmio y plomo en el Laboratorio de Análisis de Productos Pesqueros (LAPP) de la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA), Departamento de Industria Pesquera, del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP).

Métodos:

Mercurio: Basado en Hatch y Ott 1968, *Analytical Chemistry*, 40:2085-2047 Modificada por Méndez et al., 2001 (*J. Food Comp. Anal.* 14:453-460)

Cadmio y Plomo: AOAC, 2006 Official Method 999.11

Evaluación sensorial:

Para la evaluación sensorial se utilizaron algas secas y algas congeladas.

Se prepararon omelette y buñuelos con harina de arroz y harina de trigo.

El peso neto total utilizado de algas frescas fue de 594,5 g y el peso bruto luego de dos lavados fue de 511,5 g. Se colocaron en estufa 286 g durante 10 hs a 60 ° C con una humedad inicial de 87, 4 % y una humedad final de 19,1%, y 225,5 g a congelar.

Tabla 8 : Ingredientes para la preparación de omelette	
omelette con algas secas	omelette con algas congeladas
3 gr de algas secas	30 gr de algas congeladas
2 huevos	2 huevos
1 pizca de sal	1 pizca de sal



Figura 10: Preparación de omelette con algas congeladas en el Instituto de investigaciones Pesqueras "Prof. Dr.Victor H. Bertullo" , Facultad de veterinaria, UDELAR

Tabla 9 : Ingredientes para la preparación de buñuelos

Buñuelos con algas secas	Buñuelos con algas congeladas
4 gramos de algas secas	40 gramos de algas secas
400 g de harina de arroz/harina de trigo	400 g de harina de arroz/harina de trigo
1 huevo	1 huevo
1 pizca de sal	1 pizca de sal
1 cucharada polvo hornear	1 cucharada polvo hornear
leche (cantidad necesaria)	leche (cantidad necesaria)



Figura 11: Preparación de buñuelos con algas congeladas en el Instituto de Investigaciones Pesqueras “Prof. Dr. Víctor H. Bertullo”, Facultad de Veterinaria, UDELAR.

7.- Resultados y Discusión

En las muestras analizadas tanto frescas, secas o congeladas, se obtuvieron recuentos de *E.coli* por debajo de las 10ufc/g y ausencia de recuento bacteriano para *Salmonella* spp.

Los recuentos de *Staphylococcus aureus* y hongos se mantuvieron por debajo del límite internacional establecido como referencia para recuento en Petrifilm con valor estimado 1×10^3 ufc/g.

En las muestras analizadas para la determinación de *Vibrio* se obtuvieron resultados significativos en todas las placas sembradas en cuanto a la detección de *Vibrio parahaemolyticus*, el cual es importante desde el punto de vista de la inocuidad de las algas.



Figura 12: Determinación de *Vibrio Parahaemolyticus*

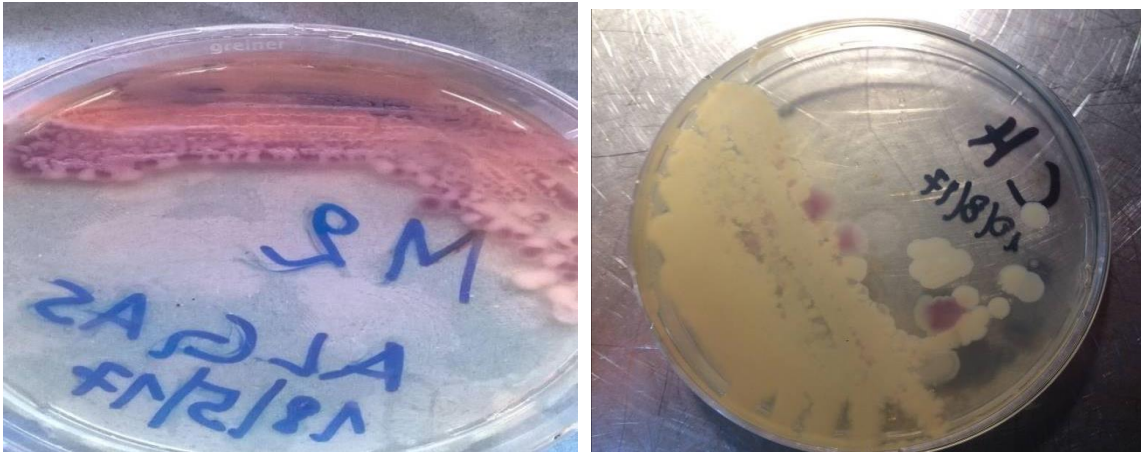


Figura 13: Determinación de *Vibrio Parahaemolyticus* (Chromagar)

Determinación Bioquímica *Vibrio* spp.:

Las muestras congeladas presentaron indicios de contaminación por *Vibrio parahaemolyticus* resultando positivas a oxidasa, confirmada posteriormente mediante técnica FDA Chapter 9: 2004 en Laboratorio Analítico Agro Industrial (LAAI) en el Departamento de Paysandú.

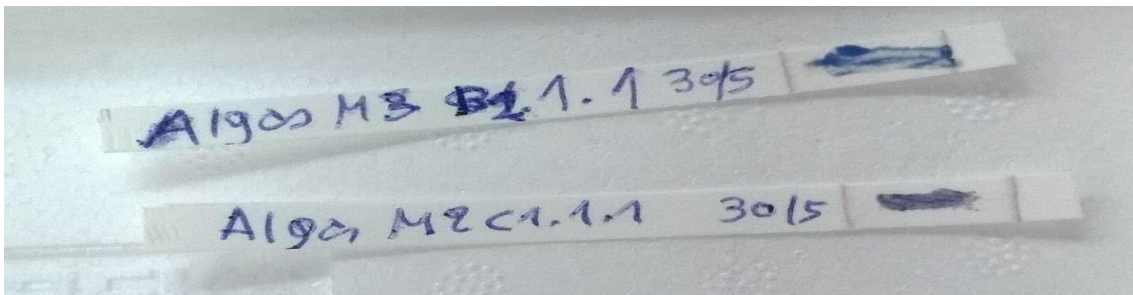


Figura 19: Determinación Bioquímica de *Vibrio parahaemolyticus*

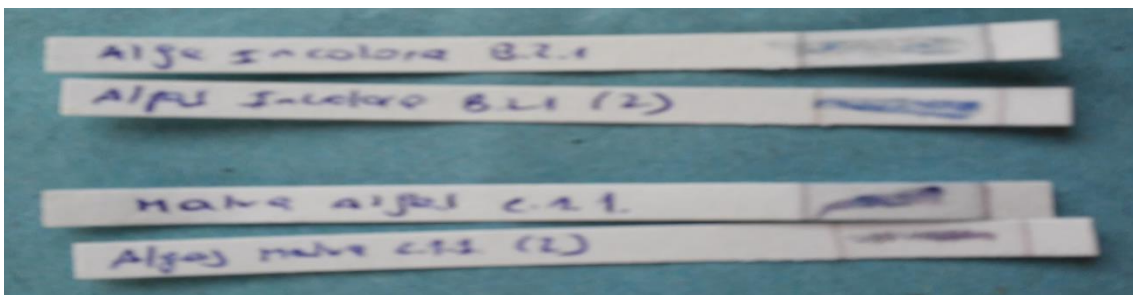


Figura 20: Determinación Bioquímica de *Vibrio parahaemolyticus*

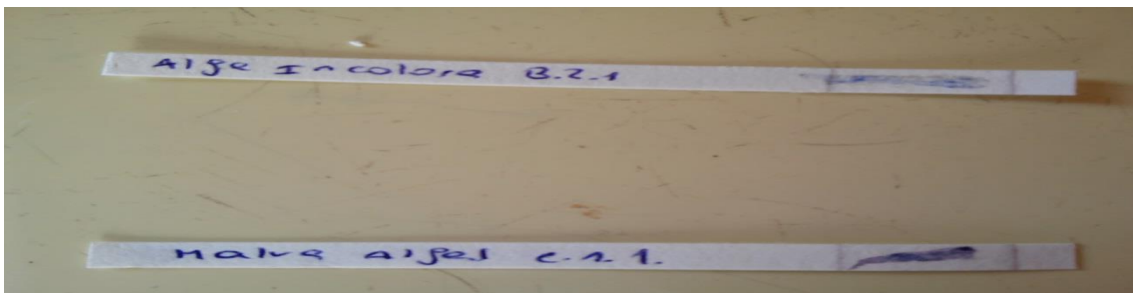


Figura 21: Determinación Bioquímica de *Vibrio parahaemolyticus*

7.1.- Muestras frescas

Los recuentos significativos para análisis, fueron los de las bacterias *Mesófilos* y una muestra para *Staphylococcus aureus*. Para el caso de *E.coli* y *Salmonella* spp.se observó ausencia de crecimiento bacteriano.

Tabla 10: Algas frescas - incubación 24 hs.

Muestra	Mesofilos PCA	<i>Staphylococcus aureus</i> Petrifilm®
M1	$6,3 \times 10^3$	9×10^2
M2	$5,6 \times 10^3$	6×10^2
M3	4×10^3	< 10
M4	1×10^4	2×10^3



Figura 14: Determinación de *Mesofilos* (PCA)

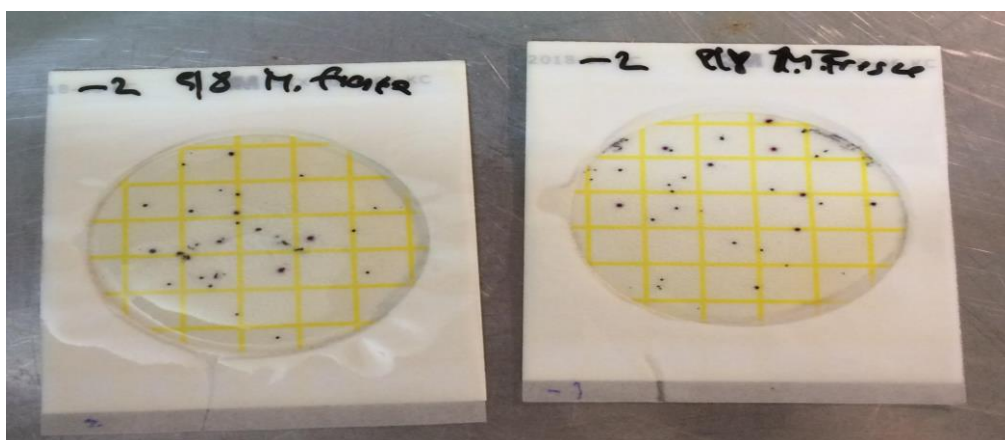


Figura 15: Determinación de *Staphylococcus aureus* (Petrifilm®)

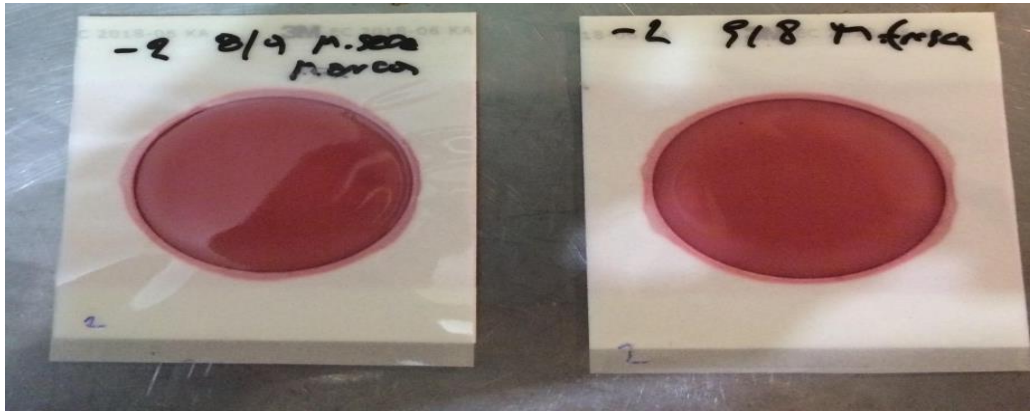


Figura 16: Determinación de *Escherichia Coli*

En cuanto a los trabajos citados como antecedentes, el análisis bacteriológico realizado por Gallardo (2004), sobre la caracterización de las poblaciones microbianas presentes en la macroalgas comestible *Monostroma undulatum* desarrollada en la costa Patagónica Argentina, no reveló la presencia de coliformes totales ni termotolerantes, *E. coli*, en ninguna de las muestras analizadas.

Estudios en México realizados por Águila Ramírez (2008) cuantificó coliformes totales, fecales y enterococos, determinando cantidades bajas para *ulva lactuca*.

Estudios en España realizados por Borja (2017) concluye la ausencia de microorganismos patógenos en algas del genero *Ulva* spp. Los valores positivos de bacterias aerobias mesófilas totales son inferiores a 105 UFC/g. La ausencia de coliformes totales, coliformes fecales indica ausencia de contaminación fecal. En las muestras analizadas, tampoco se ha detectado la presencia del patógeno *Vibrio cholerae*.

Referente a *Staphylococcus* spp.(Borja, 2017) en algas del genero *Ulva* spp se obtuvieron valores positivos pero muy por debajo de los marcados por la normativa francesa como valores límite (≤ 102 ufc/g).

Como referencia según el valor que establece el Reglamento Técnico Centroamericano para pescado y productos frescos y la UE; el mismo no debe superar las 1×10^3 ufc/g. En nuestro trabajo el recuento máximo obtenido para *S. aureus*, fue de 2×10^3 ufc/g, superando los límites establecidos de referencia en una de las muestras analizadas.

La presencia de *Staphylococcus aureus* podría ser debida a la manipulación de la macroalga, ya que ésta bacteria está presente en la mucosa y en la piel de los humanos y mamíferos, y no en medios marinos (Otto, 2010).

Estudios realizados por Gau y col (2004) en su trabajo aislamiento de *Vibrio* y evaluación de la condición sanitaria de moluscos bivalvos de la costa norte de Venezuela concluyen presencia de *Vibrio vulnificus* y *V. parahaemoliticus* en casi todas las muestras analizadas(91,5%), mediante técnicas bioquímicas y diferenciación de las colonias aisladas del agar TCBS(positivo a catalasa).

7.2.- Muestras secas

En recuento de las muestras secas, se observó ausencia en el total de las muestras analizadas para *E.coli* y *Salmonella* spp. En cuanto a hongos y levaduras se obtuvieron valores estimados de 1×10^2 ufc/g y 1×10^3 ufc/g.

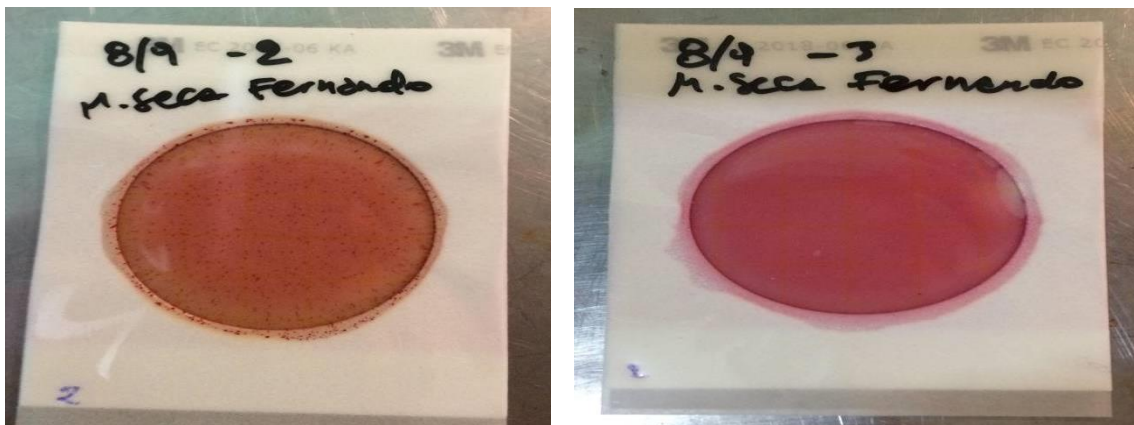


Figura 17: Determinación de *Escherichia coli*



Figura 18: Determinación de *Salmonella* (*Salmonella shigella* con Novobiocina)

7.3.- Muestras congeladas

Los recuentos significativos para análisis, fueron los de las bacterias *Mesófilos*. Para el caso de *E.coli* y *Salmonella* spp. se observó ausencia en crecimiento bacteriano.

Se observó presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en todas las placas sembradas.

Tabla 11: Algas congeladas - incubación 24 hs.

Muestra	Mesofilos PCA	<i>Staphylococcus aureus</i> Petrifilm®
M1	8×10^2	4×10^2
M2	9×10^2	3×10^2
M3	1×10^3	< 10
M4	1×10^3	1×10^3

Determinación para metales pesados

De la determinación de cadmio y plomo mediante técnica AOAC, 2006 Official Method 999.11 y de Mercurio basado en la técnica de Hatch y Ott. 1968, Analytical Chemistry, 40: 2085-2047 Modificada por Méndez et al., 2001(J. Food Comp. Anal.14:453-460) en el Laboratorio de Análisis de Productos Pesqueros (LAPP) de la Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA), Departamento de Industria Pesquera, del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP); de las 3 muestras de algas secas analizadas se obtuvieron los siguientes valores:

Mercurio

M1/M2/M3: No detectable

Plomo

M1/M2: No detectable

M3: No determinado*

*no se pudo determinar el contenido de cadmio y plomo de esta muestra por el alto contenido de restos de conchilla/arena.

Cadmio

Base seca	Base húmeda
M1: 1,80 mg/kg	M1: 0,378 mg/kg
M2: 2,20 mg/kg	M2: 0,46 mg/kg
M3: No determinado	M3: No determinado

En base a estudios realizados en Argentina por la Dra. Gerpe, en el en su trabajo "Monitoreo de cadmio en anchoíta, especies acompañantes, organismos zooplanctonicos y agua(fracción particulada)" y editado por Pérez G (SENASA 2006) en el ámbito de la reunión de las redes Panamericanas de inspección ,control de calidad y tecnología de productos pesqueros para la modificación del contenido de cadmio en la anchoíta en la Argentina; afirma que los niveles de cadmio en la zona sur de dicho país son superiores a los de otras zonas, los mismos estarían influenciados por el agua subantártica (diluida) en su recorrido con dirección norte; también explica que existen autores que afirman que en la zona antártica hay surgimientos de aguas enriquecidas en cadmio. Esto explicaría la existencia de una mayor concentración de cadmio en el zooplancton del Atlántico sur.

Otros estudios realizados por Basso y col (2002) en su trabajo "Empleo de algas marinas para la biosorción de metales pesados de aguas contaminadas" compararon la capacidad de absorción de cadmio en 3

especies diferentes de algas, en la cual la *Porphira* presento mayor concentración del metal. Esto estaría asociado a diferencias en las características de su superficie (Özer et al., 2000). Los grupos carboxílicos y sulfatos suministrados en forma abundante por los ácidos urónicos y polisacáridos sulfatados (galactanos) presentes en las algas, se consideran los principales responsables de la biosorción de metales (Holan y Volesky, 1994).

Estudios realizados por Pérez y col (2004), en su trabajo realizado “evolución temporal de la contaminación por plomo y cadmio en la zona intermareal de la Ria de Vigo” (Galicia – España), los resultados obtenidos mostraron que la concentración de cadmio se situó en torno a 1,1 ppm para *Ulva lactuca*.

De las muestras secas analizadas por metales pesados, las mismas presentaron indicios de contaminación por cadmio menores a los valores de referencia citados por la Unión Europea (3 mg/kg).

Control de calidad en el laboratorio:

El 01/04/2017 se recolectaron algas de color verde oscuro, brillante y en su mayoría de talo largo, presentaron poca cantidad de arenilla; sin embargo las algas recolectadas el 09/06/2017 tenían una apariencia de color verde claro, opaco y en su mayoría de talo corto, presentaron mucha cantidad de arenilla.

Se procedió al pesaje de las algas recolectadas con un peso bruto de 2580,5 g, posteriormente se dividieron para ser analizadas tanto en seco como en congelado. Las algas destinadas a congelar obtuvieron un peso bruto de 1302,5 g, un peso limpio de 1078 g y una merma inicial de 17%, luego del congelado se obtuvo una merma de 27%; las algas destinadas a secado obtuvieron un peso bruto de 1278 g, un peso limpio de 1023 g, una merma inicial de 20%, luego del secado se obtuvo una merma de 79%.

Determinación de humedad:

Se procedió al secado de algas con una temperatura de 25° C en estufa con una humedad inicial de 83,4% y una humedad final de 11,2%, tras 49 horas en estufa. Se realizó ensayo de humedad mediante secado en horno rotatorio con una temperatura de 100 ° C con humedad inicial de 82,3% y una humedad final de 0,4%, tras 40 minutos.



Figura 22: Secado de *Ulva* spp. en estufa

Según el Reglamento Bromatológico Nacional el valor máximo de referencia es de 12% para hortalizas.

Según Tesis de grado Revisión y actualización del capítulo 14 Pescado y productos pesqueros” del Reglamento Bromatológico Nacional” (Galli y Marquez ,2017) en la sección 4: requerimientos para la comercialización de macroalgas deshidratadas, cita valores de referencia menor o igual a 15%.

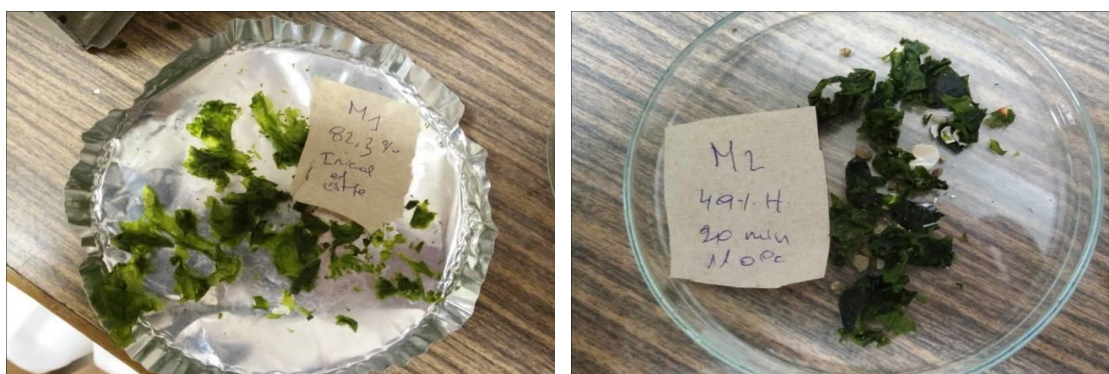


Figura 23: Determinación de humedad en *Ulva* spp.



Figura 24: Determinación de humedad en *Ulva* spp

Determinación de cuerpos extraños:

Se procedió a la determinación de cuerpos extraños en algas secas y congeladas obteniendo un resultado de 9% y 3% respectivamente de impurezas en un total de 5 muestras.



Figura 25: Determinación de cuerpos extraños en algas secas

Según Tesis de grado Revisión y actualización del capítulo 14 Pescado y productos pesqueros” del Reglamento Bromatológico Nacional” (Galli y Marquez ,2017) en la sección 4: requerimientos para la comercialización de macroalgas deshidratadas, cita valores de referencia menor a 10% (n=5).

Determinación de temperatura:

Se procedió a la toma de temperatura con termómetro de pincho en 23 muestras analizadas obteniendo un valor promedio de -10°C .

Según el Reglamento Bromatológico Nacional el valor de referencia es de -18°C luego de alcanzar la estabilidad térmica en productos pesqueros.

Según Trabajo realizado por el Codex “Norma para hortalizas congeladas rápidamente” cita valores similares, mantenidos a una temperatura de -18°C o inferior en todos los puntos de la cadena de frío.

Según la FAO en su manual “Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de Su Calidad” cita una temperatura de conservación adecuada de -18°C .

Según Tesis de grado Revisión y actualización del capítulo 14 Pescado y productos pesqueros” del Reglamento Bromatológico Nacional” (Galli y Marquez ,2017) en la sección 4: requerimientos para la comercialización de macroalgas congeladas, cita valores de referencia de -18°C en su centro térmico.

Evaluación sensorial:

Se realizó una evaluación sensorial para comparar diferentes atributos utilizando algas secas y congeladas, arrojando los siguientes resultados:

Omelette:

Se observó sabor más intenso “a algas” y textura más suave en omelette preparado con algas secas.

Se observó una textura crujiente y un color más intenso utilizando algas congeladas.

Se observó una mayor aceptación en omelette preparados con algas congeladas por su mejor color y apariencia más natural.



Figura 26: Omelette elaborado a partir de algas congeladas



Figura 27: Omelette elaborados a partir de algas secas

Buñuelos con harina de arroz:

No se encontraron diferencias en lo que respecta al sabor y olor, no así respecto a la textura, en la cual se notó una textura más suave en buñuelos utilizando algas secas y una textura más crujiente en buñuelos utilizando algas congeladas.



Figura 28: Buñuelos elaborados a partir de algas congeladas y secas

Buñuelos con harina de trigo:

Se observó sabor y olor más intenso “a algas”, textura más crujiente en buñuelos utilizando algas congeladas y una apariencia esponjosa utilizando algas secas.



Figura 29: Buñuelos elaborados a partir de algas congeladas y secas

Ante la pregunta al panel respecto a cuál de las 2 muestras de buñuelos elegiría, se observó lo siguiente:

Una mejor apariencia y uniformidad en los buñuelos preparados con algas seca, un sabor más intenso “a algas” en buñuelos utilizando algas congeladas, no existiendo discriminación por tipo de harina utilizada.

Nota: recordar que las algas congeladas contienen mayor cantidad de agua con lo cual la apariencia y uniformidad se ven claramente afectadas.

En el total de comensales existió mayor aceptación por el buñuelo utilizando como materia prima el alga congelada por su sabor más intenso.

8.- CONCLUSIONES

Se comprobó la presencia de *Vibrio parahaemolyticus*, su existencia y posible asociación con las floraciones de algas pueden ser una amenaza ante actividades pesqueras y posibles actividades de maricultura, así como también para la salud humana. Se han reportado a *Vibrio parahaemolyticus* como el principal agente causal de la gastroenteritis aguda humana transmitida a través del consumo de mariscos crudos o poco cocidos.

Obtuvimos ausencia de crecimiento para *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*, lo cual es muy importante para la salud pública. No se detectaron coliformes fecales y los recuentos de coliformes totales se mantuvieron por debajo de los límites establecidos.

En cuanto al recuento de *Staphylococcus aureus*, los valores obtenidos se consideraron dentro de los límites establecidos en productos frescos marinos, a excepción de una muestra.

Los recuentos más elevados fueron los de mesófilos totales, pero ningún valor se situó por encima de los límites establecidos en otros países y tomados como referencia para nuestro trabajo.

Respecto a la evaluación sensorial, se observó una mayor aceptación utilizando algas congeladas en la preparación de omelette y buñuelos; sin embargo las preparaciones con algas deshidratadas son las más apropiadas para preservar las características higiénico-sanitarias del producto.

La determinación de cadmio en la *Ulva* arroja valores por debajo de la normativa internacional; no obstante el mismo podría estar asociado a la corriente subantártica (diluida), en su recorrido con dirección norte, lo que podría explicar la concentración de cadmio en el fitoplancton del Atlántico sur.

Recomendaciones

Consideramos importante la realización de técnicas complementarias que confirmasen los niveles de cadmio obtenidos en el presente trabajo; a su vez creemos necesario realizar una evaluación de riesgo para conocer el estado actual de la zona afectada que permita asociar el peligro de *Vibrio*, a los efectos de investigar con mayor profundidad las características higiénico-sanitarias del recurso hidrobiológico y su relación con el consumo de productos elaborados a partir de *Ulva* spp.

No obstante, velar por la vigilancia; mediante la recopilación, análisis, interpretación y utilización de información de interés para la evaluación y prevención; como así también realizar estudios epidemiológicos, físico – químicos y microbiológicos en los alimentos destinados al consumo humano nos resulta un pilar fundamental como medida de lucha para conocer el estado actual y poder actuar eficazmente contra las enfermedades transmitidas por alimentos.

9.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agencia del Gobierno de Chile, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo (2007). Fundación Chile-recurso marino. Proyecto n°03c9at-03 (2007). Usos tecnológicos de algas verdes nacionales en alimentación humana. 123 p. Disponible en: de consulta: 02/07/2016.
2. Algas marinas: Cultivos bajo el mar. Disponible en: <http://www.consumer.es/web/es/alimentación/...a.../225347.php>. Fecha de consulta: 24/07/16.
3. Algas marinas: Utilidades, Propiedades y Beneficios. Disponible en: <http://www.xananatura.blogspot.com/2012/02/algas-marinas-utilidades-propiedades-y.html>. Fecha de consulta: 20/07/16.
4. Argentina. Código Alimentario Argentino. Ley 18.284. Artículo XI actualizado 06/2013. Disponible en: http://www.fcq.unc.edu.ar/sites/default/files/biblioteca/CAPITULO_XI_Vegetales.pdf Fecha de consulta: 26/07/2016.
5. Arias M. (2009). Caracterización físico-químico y sensorial de Nabiza y Grelo (Brassica rapa L.) Tesis. Disponible en: <http://www.tesisenred.net/handle/10803/36697>. Fecha de consulta: 22/07/16.
6. Avala M., Godoy C., Rodríguez M. Manual para la repoblación de algas: desde la extracción hacia la agronomía marina (2012). 38 paginas. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/275521349_Manual_para_el_repoblamiento_de_algas_desde_la_extraccion_hacia_la_agronomia_marina_Resultados_y_lecciones_aprendidas. Fecha de consulta: 26/07/16.
7. Aylthon Brandao Joly (1967). Género de algas marinas da costa atlántica latino americana. Brasil. Editora da Universidade de Sao Paulo. 461 p.
8. Basso M, Cerrella E, Cukierman. Empleo de algas marinas para la biosorción de metales pesados de aguas contaminadas. Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente Vol. 6, Nº 1(2002). Disponible en: <http://www.cricyt.edu.ar/asades/modulos/averma/trabajos/2002/2002-t006-a013.pdf>. Fecha de consulta: 16/12/17.6 p.
9. Boraso A., Rico A., Perales S., Pére I., Zalazar H (2004). Algas marinas de la Patagonia. Una guía ilustrada (2004). 60 p. Disponible en:

https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/34691245/algas_marinas_de_la_patagonia__una_guia_ilustrada_alicia_boraso.pdf?awsaccesskeyid=akiaiwowyygz2y53ul3a&expires=1507398885&signature=el eke1bm3d2c%2bpulf4wj6bda3ro%3d&response-content-disposition=inline%3b%20filename%3dalgas_marinas_de_la_patagonia__una_guia_i.pdf. Fecha de consulta: 22/08/16.

10. Boraso A., Zaixo J. (2006). Algas marinas bentónicas. Disponible en: <http://images.algaebase.org/pdf/562DF4FA1149b1C475TSK191032E/48288.pdf>. Fecha de consulta: 05/06/2016.
11. Borja M. (2017) .Control microbiológico de la macroalga *ulva ohnoi*. Tesis. Ingeniería de Sistemas Biológicos. Universidad de Cataluña Barcelona España. 70 paginas. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/108257/memoria.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Fecha de consulta: 07/10/17.
12. Calero F., Hernández F. (2002). Grupo postrecolección y refrigeración. Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad de politécnica de Cartagena.-Daño por frio en la postrecoleccion de frutas y hortalizas.14 p. Disponible en: <http://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/500/dfp.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Fecha de consulta: 27/8/16.
13. Cano Mallo C. (2008). Bases biológicas de *Ulva fasciata* Delile, (Chlorophyta) para su posible explotación, al oeste de La Habana, Cuba. Tesis. Universidad de la Habana. Disponible en: <http://www.oceandocs.org/bitstream/1834/3404/1/Tesis%20Doctorado%20Mercedes%20Cano%2008.pdf> Fecha de consulta: 05/06/2016.
14. Codex Stan (2015). Norma para hortalizas congeladas rápidamente. Disponible en: http://www.fao.org/input/download/standards/13928/CXS_320s_2015.pdf f. Fecha de consulta: 04/03/17.
15. Coll J. (1979). Catálogo de algas citado para el Uruguay. Montevideo, MDN. SOHMA, 173 p.
16. Cortazzo N., Pérez V. (2015). Valoración higiénico-sanitaria de la macroalga comestible *Ulva* spp., en la Paloma, Departamento de Rocha: Aspectos Microbiológicos y de Calidad. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. UdelaR, 31 p.

17. Cuizano N., Navarro A. (2008). Biosorción de metales pesados por algas marinas: posible solución a la contaminación a bajas concentraciones. Disponible en: file:///C:/Users/Usuario/Downloads/fichero_articulo.pdf. Fecha de consulta: 09/12/16. 126 p.

18. De la Fuente J. (2005). Investigación y desarrollo tecnológico de procesamiento de algas nativas chilenas de interés comercial para consumo humano. 275 p. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2011/aq-moya_j/pdfAmont/aq-moya_j.pdf. Fecha de consulta: 06/07/16.

19. De La Fuente L. (2001). Investigación y desarrollo tecnológico de procesamiento de algas nativas chilenas de interés comercial para consumo humano -Proyecto código: D01/1151-31/Agosto/2005. 96 p. Disponible en: <http://repositorio.conicyt.cl/handle/10533/109496?show=full>. Fecha de consulta: 05/09/16.

20. Etcheverry D. H. (1986). Algas Marinas Bentónicas de Chile. Montevideo, UNESCO, 379 p. Disponible en: <http://unesdoc.unesco.org/images/0007/000721/072123so.pdf> Fecha de consulta: 4/07/2016.

21. FAO (2015). Norma para hortalizas congeladas rápidamente .Codex Stan 320-2015.23 paginas. Disponible en: https://www.fao.org/input/download/standards/13928/CXS_320s_2015.pdf. Fecha de consulta: 02/04/17.

22. FAO (1976) .Código de prácticas para la elaboración y manipulación de los alimentos congelados rápidamente (cac/rcp 8-1976).15 p. Disponible en: http://www.fao.org/input/download/standards/285/CXP_008s.pdf. Fecha de consulta: 02/04/17.

23. FAO (1988).El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Manual de capacitación preparado por el Programa de Capacitación FAO/DANIDA en Tecnología Pesquera y Control de Calidad. Disponible en: http://oa.upm.es/14340/2/Documentacion/2_Dimensionamiento/el_pescado_fresco_034843mbp.pdf. 147 p. Fecha de consulta: 20/11/17.

24. FAO (2003). Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas (cac/rcp 53-2003). 26 p. Disponible en :

- http://www.fao.org/ag/agn/cdfruits_es/others/docs/alinorm03a.pdf. Fecha de consulta: 22/08/16.
25. FAO (2003). A guide to the seaweed industry. FAO fisheries technical paper. 118 p. Disponible en: www.fao.org/3/a-y4765e.pdf. Fecha de consulta: 19/07/2016.
 26. FAO (2004). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Puntos más salientes de los estudios especiales de la FAO. Alcance de la industria de las algas marinas. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/y5600s/y5600s07.htm#TopOfPage>. Fecha de consulta: 19/07/2016.
 27. FAO (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Oportunidades y desafío. 274 p. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i3720s.pdf>
 28. FAO (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. S.l.: s.n. ISBN 9789253066759. 226 p. Disponible en: www.fao.org/3/a-i5555s.pdf. Fecha de consulta: 18/03/17.
 29. FAO/OMS (2011). Documento de trabajo sobre la elaboración de una norma internacional para la lechuga nori programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del Codex sobre pescado y productos pesqueros trigésima primera reunión tromsø, noruega 11-16 de abril de 2011. Codex (2011). 10 p. Disponible en : http://ftp.fao.org/codex/meetings/ccffp/ccffp31/fp31_15s.pdf. fecha de consulta: 25/09/16.
 30. Fuertes H. (2014). Inocuidad en los productos de la pesca artesanal- Revista Big Bang Faustiniiano 3(1): 9 p. Disponible en: <http://unjfsc.edu.pe/index.php/Bigbang/article/viewFile/117/280>. Fecha de consulta: 19/08/16.
 31. Gallado A. (2004). Caracterización de poblaciones microbianas presentes en la macroalga comestible *Monostroma undulatum*. 7 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Maria_Fajardo4/publication/275593235_Evaluacion_Microbiologica_del_Alga_Comestible_Porphyra_Columbina_Montagne_de_la_Costa_Patagonica_Argentina/links/5798e02608aeb0ffcd08bed5.pdf Fecha de consulta: 20/09/17.

32. Galli C., Márquez M. (2017). "Revisión y actualización del capítulo 14 "Pescado y productos pesqueros" del Reglamento Bromatológico Nacional". Tesis de grado. Facultad de Veterinaria. UdelaR, 70 p.

33. García M., Peteiro C.(2016).Explotación de las macroalgasmarinas: Galicia como caso de estudio hacia una gestión sostenible de los recursos.18 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/274867856_Explotacion_de_las_macroalgas_marinas_Galicia_como_caso_de_estudio_hacia_una_gestion_sostenible_de_los_recursos.Fecha de consulta: 11/09/16.

34. Gewerc H., Muñoz G. (2006). Desarrollo de una galleta tipo snack, en base a algas comestibles, con enfoque al mercado asiático. Tesis. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Santiago de Chile. 81 p. Disponible en: http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2006/qf-gewerc_v/pdfAmont/qf-gewerc_v.pdf.Fecha de consulta: 15/05/17.

35. Gil A., Lanata C., Miranda H., Prada, A., Seas C.,Hall E., Meza R., Barreno C., Maurtua D., Nair, B. (2007). Gravedad de la gastroenteritis causada por *Vibrio parahaemolyticus* del grupo pandémico en el Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública 24 (4): 350-355.

36. Gomez.E. (2013). Evaluación nutricional y propiedades biológicas de algas marinas comestibles. Tesis .Madrid España. Disponible en: eprints.ucm.es/20162/.Fecha de consulta: 27/09/2016.

37. Graü C, La Barbera A, Zerpa A,Silva S,Gallardo O (2004). Aislamiento de *Vibrio* spp. y evaluación de la condición sanitaria de los moluscos bivalvos arca zebra y perna perna procedentes de la costa nororiental del edo. sucre. Venezuela. Disponible en :<https://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/28244/2/art4.pdf>.D.Fecha de consulta: 17/12/2017.

38. Holan Z.R., Volesky B. (1994). Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae. Biotechnol. Bioeng. 43, 11, 1001-1009

39. Ibarra J., Alvarado D. (2007). Antimicrobial resistance of clinical and environmental strains of *Vibrio cholerae* isolated in Lima-Peru during epidemics of 1991 and 1998. Brazilian Journal of Infectious Diseases 11(1), 100-105.

40. Las algas y sus usos (2008).Azterkosta Itsasolo Algaketa Beraien Erabilerak .12 p. Departamento de educación, Universidad e

- investigación. Gobierno Vasco. Disponible en: <http://www.ingurumena.ejgv.euskadi.eus/.../es.../Azterkosta01.pdf>. Fecha de consulta: 23/07/2016.
41. Latorre P., Flores R. (2004). El mercado internacional de algas para consumo humano. 6 p. Disponible en: <http://i-mar2.cl/wp-content/uploads/2017/04/Latorre-P-y-Flores-Aguilar-R.-2004.pdf>. Fecha de consulta: 15/06/16.
42. Ley general de pesca y acuicultura (Nº 18.892)-Junta de Gobierno de la República de Chile. D. Oficial 23 de diciembre, 1989 Chile. Disponible en: <http://www.bcn.cl/obtienearchivo?id=recursolegales/10221.3/28006/1/HL18892.pdf>. Fecha de consulta: 25/09/16.
43. Maquera J, Castillo R, González A., Castañeda V., Rujel J. Instituto del mar de Perú (2012). Estudios sobre Macrolagas pardas en el sur del Perú 2011-2015. 32 paginas. Disponible en: <http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/bitstream/handle/123456789/2179/INF%20EXT.%20II.pdf?sequence=1>. Fecha de consulta: 03/09/16.
44. Méndez Lascano, H. (1982). Florula de Chlorophytas bentónicas de “La Paloma”, Departamento de Rocha (ROU). Tesis. Facultad de Humanidades y Ciencias, UDELAR, 77 p.
45. Millàn R. (2015). Consumo de algas marinas: su influencia en el valor nutritivo de la dieta y en diversos parámetros fisiológicos. Tesis Universidad Santiago de Compostela. Disponible en: https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/10347/14599/1/rep_1094.pdf. Fecha de consulta: 23/08/16.
46. Moya J. (2011). Centro de investigación y desarrollo tecnológico en algas. 100 p. Memoria presentada a la Facultad de Arquitectura y Urbanismo de la Universidad de Chile para optar al título profesional de Arquitecto. Disponible en http://www.repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2011/aq-moya_j/pdfAmont/aq-moya_j.pdf. Fecha de consulta: 15/07/2016.
47. Muñoz J. (1985). Refrigeración y congelación de los alimentos vegetales. Fundación Española de la Nutrición. Disponible en: <http://www.worldcat.org/title/refrigeracion-y-congelacion-de-alimentos-vegetales/oclc/630198351>. Fecha de consulta: 04/03/17.
48. Oficina comercial de Paris (2009). Estudio de mercado algas en Francia. 24 p. Disponible en:

www.chilealimentos.com/.../EstudioMercadoCuyuntura2009/.../paris_algas_2009.pdf. Fecha de consulta: 12/07/2016.

49. Orozco R., Quispe Y. Lorenzo A., Zamudio M. (2017). Asociación de floraciones de algas nocivas y *Vibrio* spp. en áreas de pesca y acuicultura de bivalvos de moluscos en las bahías de Sechura y Pisco, Perú. Revista Peruana de biología. Página 1-7. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1950/195050541014.pdf>. Fecha de consulta: 15/08/16.
50. Otero, J. (2014). Elaboración de suplemento vegetal en polvo a partir de Moringa Oleifera como sustituto en raciones balanceadas para animales de granja. Tesis. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7197/1/OTERO.pdf>. Fecha de consulta: 23/08/2016.
51. Özer D., Özer A. y Dursun G. (2000). Investigation of zinc(II) adsorption on *Cladophora crispata* in a two- staged reactor. J. Chem. Technol. Biotechnol 75, 410-416.
52. Pérez M., Méndez M., Díaz J., Melgar M. (2004). Evolución temporal de la contaminación por plomo y cadmio en la zona intermareal de la ría de vigo. Área de Toxicología. Facultad de Veterinaria, Universidad de Extremadura. 4 paginas. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd29/evolucion.pdf>. Fecha de consulta: 14/10/17.
53. Pérez G (SENASA, 2006). Reunión regional de las redes panamericanas de inspección, control de calidad y tecnología de productos pesqueros. Modificación en la Normativa Comunitaria del contenido máximo de cadmio en anchoíta. 24p
54. Perspectivas de Chile en el mercado internacional de los alimentos en base a algas marinas. (2007). Línea de Financiamiento Difusión Entidades Tecnológicas. 48 p. Disponible en: http://repositoriodigital.corfo.cl/bitstream/handle/11373/9905/4968_IF.pdf?sequence=1. Fecha de consulta: 18/06/16.
55. Punin M. (2005). Estudio de las algas para consumo humano producidas y manufacturadas en Galicia: Evaluación de su seguridad alimentaria. Tesis. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología .Área de Nutrición y Bromatología. Universidad de Santiago de Compostela. 205 p. Disponible en:

<https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/9690/b19471786.pdf?sequence=1>. Fecha de consulta. 24/07/16.

56. Reglamento (ce) nº 710/2009 de la comisión de 5 de agosto de 2009 que modifica el reglamento (ce) nº 889/2008 por el que se establecen disposiciones de aplicación del reglamento (ce) nº 834/2007, en lo que respecta a la fijación de disposiciones de aplicación para la producción ecológica de animales de la acuicultura y de algas marinas. Diario Oficial de la Unión Europea. Disponible en: <https://www.boe.es/doue/2009/204/L00015-00034.pdf>. Fecha de consulta: 12/07/2016.
57. Radulovic R., Umanzor S., Cabrera R. (2015). Algas tropicales. Cultivo y uso como alimento. Universidad de Costa Rica. 59 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Ricardo_Radulovich/publication/272168650_Algas_Tropicales_Cultivo_y_Uso_como_Alimento_2013_Tropical_Seaweeds_Cultivation_and_Use_as_Food/links/54dd0c190cf25b09b912e9fb/Algas-Tropicales-Cultivo-y-Uso-como-Alimento-2013-Tropical-Seaweeds-Cultivation-and-Use-as-Food.pdf. Fecha de consulta: 15/08/16.
58. Radulovich R., Umanzor S., Cabrera R. (2013). Algas tropicales, cultivo y uso como alimento. Escuela de Ingeniería Agrícola. Universidad de Costa Rica, San José Costa Rica. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/272168650>. Fecha de consulta: 08/09/16.
59. Reglamento (ce) Nº 1881/2006(2006)- Por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. 20 p. Fecha de consulta: 14/10/17. Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:ES.pdf>
60. Reglamento (ce) nº 834/2007 del consejo de 28 de junio de 2007 sobre producción y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el reglamento (cee) nº 2092/91. Diario oficial de la Unión Europea. Disponible en: <http://www.wipo.int/edocs/lexdocs/laws/es/eu/eu122es.pdf>. Fecha de consulta: 11/07/2016.
61. Reglamento de ordenamiento pesquero de las macroalgas marinas y modifican reglamento de la ley general de pesca aprobado por decreto supremo nº 012-2001-pe y el reglamento de inspecciones y sanciones pesqueras y acuícolas aprobado por decreto supremo nº 016-2007

- (Perú 2007). Disponible en:
http://www.proacuicultura.com.pe/legislaciones/DECRETO_SUPREMO/decreto-supremo-n-019-2009-produce.pdf. Fecha de consulta: 07/07/2016.
62. Reglamento técnico RTCA 67.04.50:08 Centroamericano. Alimentos. Criterios Microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Disponible en:
<http://www.ccit.hn/wp-content/uploads/2014/08/Anexo-Resolucion-No.243-2009-Criterios-Microbiologicos.pdf> Fecha de consulta: 23/8/2016.
63. Santos M. (2013). Elaboración y control de calidad de un suplemento nutricional instantáneo en polvo a base de frejol rojo (*phaseolus vulgaris*) y pasas. Tesis. Riobamba, Ecuador. Disponible en:
<http://www.dspace.espace.edu.ec>. Fecha de consulta: 18/09/16.
64. Siguenza J. (2016). Determinación de metales pesados, arsénico, cadmio, y plomo en conchas prieta (*Anadara Tuberculosa*), extraídos en la desembocadura del río pital. Trabajo de graduación previo a la obtención del título magister en gestión de la calidad y seguridad alimentaria. Universidad de Azuay Ecuador. 56 p. Disponible en:
<http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5598/1/11927.pdf>. Fecha de consulta: 03/03/17.