



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA

ESTUDIO DE LA CALIDAD Y VIDA ÚTIL DE
DORADAS Y LUBINAS CRIADAS EN LAS ISLAS
CANARIAS:
INFLUENCIA DE LA SUSTITUCIÓN DEL ACEITE DE
PESCADO POR ACEITE DE LINO EN LA DIETA

PEDRO LUÍS CASTRO ALONSO

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, PRODUCCIÓN ANIMAL,
BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

VETERINARIA 2010



FACULTAD DE VETERINARIA

2010

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS

HIGIENE Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

PROGRAMA DE DOCTORADO DE HIGIENE, TECNOLOGÍA Y SEGURIDAD
ALIMENTARIA

**ESTUDIO DE LA CALIDAD Y VIDA ÚTIL DE DORADAS Y
LUBINAS CRIADAS EN LAS ISLAS CANARIAS:
Influencia de la sustitución del aceite de pescado por aceite de
lino en la dieta**

Tesis doctoral presentada por D. PEDRO LUÍS CASTRO ALONSO para optar al grado
de Doctor en Veterinaria

Fdo.: Pedro Luís Castro Alonso

Tesis doctoral dirigida por el Dr. Juan Carlos Penedo Padrón y codirigida por los Drs.
María José Caballero Cansino y Rafael Millán De Larriva.

El Director

Fdo.: Dr. Juan Carlos Penedo Padrón

Co-Directores

Fdo.: Dra. María José Caballero Cansino

Fdo.: Dr. Rafael Millán De Larriva

**JUAN CARLOS PENEDO PADRÓN, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DEL
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS
PALMAS DE GRAN CANARIA.**

INFORMA:

Que **D. Pedro Luís Castro Alonso**, Licenciado en Veterinaria, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado **"Estudio de la calidad y vida útil de doradas y lubinas criadas en las Islas Canarias: Influencia de la sustitución del aceite de pescado por aceite de lino en la dieta"** el cual considero reúne las condiciones y calidad científica para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

FDO.: DR. JUAN CARLOS PENEDO PADRÓN

**MARÍA JOSÉ CABALLERO CANSINO, PROFESORA TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL
ÁREA DE CONOCIMIENTO DE ANATOMÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA
COMPARADAS DEL DEPARTAMENTO DE MORFOLOGÍA DE LA FACULTAD DE
VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA.**

INFORMA:

Que **D. Pedro Luís Castro Alonso**, Licenciado en Veterinaria, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado **“Estudio de la calidad y vida útil de doradas y lubinas criadas en las Islas Canarias: Influencia de la sustitución del aceite de pescado por aceite de lino en la dieta”** el cual considero reúne las condiciones y calidad científica para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

FDO.: DRA. MARÍA JOSÉ CABALLERO CANSINO

RAFAEL MILLÁN DE LARRIVA, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL ÁREA DE CONOCIMIENTO DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA DEL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL, BROMATOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA.

INFORMA:

Que **D. Pedro Luís Castro Alonso**, Licenciado en Veterinaria, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado **"Estudio de la calidad y vida útil de doradas y lubinas criadas en las Islas Canarias: Influencia de la sustitución del aceite de pescado por aceite de lino en la dieta"** el cual considero reúne las condiciones y calidad científica para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

FDO.: DR. RAFAEL MILLÁN DE LARRIVA

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	II
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	41
CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODOS	43
CAPÍTULO 4. EXPERIMENTO I	61
CAPÍTULO 5. EXPERIMENTO II	75
CAPÍTULO 6. EXPERIMENTO III	83
CAPÍTULO 7. EXPERIMENTO IV	103
CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES	125
BIBLIOGRAFÍA	127
TABLAS Y FIGURAS	149

Deseo, por medio de estas líneas, agradecer a mis directores el apoyo prestado para el desarrollo de la presente tesis doctoral y especialmente a la Dra. María José Caballero Cansino.

Agradecer al Grupo de Investigación en Acuicultura de la ULPGC en general, y a la Dra. Marisol Izquierdo en particular, por su apoyo y confianza.

Así mismo, agradecer al Grupo de Bromatología y Tecnología de los Alimentos de esta Universidad, ya que su guía ha sido fundamental para este trabajo y durante su periodo de realización.

Mi reconocimiento y gratitud al Dr. Rafael Ginés por sus aportaciones, su desinteresada tutela y su amistad.

Agradecer al Dr. Daniel Montero por su supervisión durante el desarrollo del trabajo y su calidad durante el desarrollo del proyecto de investigación.

Mi agradecimiento al extraordinario equipo humano de los laboratorios de la División de Acuicultura y Genética Marina del IUSA, Yurena, Silvia y Ruth pero muy especialmente a Carmen Quintana y Ada Martín. También mencionar y agradecer el certero apoyo técnico de Estrella Gutiérrez de los laboratorios de Higiene y Tecnología de los Alimentos.

También expresar mi cariño y admiración por el equipo de becarios e investigadores del Grupo de Investigación en Acuicultura cuyo buen hacer y constancia han sido un ejemplo y referencia.

Además, me gustaría agradecer de corazón a todos aquellos que han colaborado para que este proyecto sea una realidad, durante sus diferentes etapas, ya que su apoyo ha permitido desarrollarme como investigador.

Por último agradecer y pedir disculpas a mi familia y amigos a quienes por razón de este proyecto les ha sido robado un tiempo valioso de su compañía.

Quien no haya experimentado la irresistible atracción de la ciencia, no podrá comprender su tiranía." Mary Shelley



INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1. ACUICULTURA, ANTECEDENTES, SITUACIÓN ACTUAL

La pesca extractiva, probablemente sea la única actividad del sector alimentario industrial que mayoritariamente se abastece directamente de animales extraídos de su medio natural. Por el contrario, la piscicultura implica la reproducción y desarrollo de peces y mariscos que implica una forma de intervención en el proceso de crianza para reforzar la producción, como es la alimentación, lucha contra patógenos, etc. La acuicultura se define como el cultivo de organismos acuícolas, bien en el medio natural en que se encuentran, bien en instalaciones adaptadas al control de las variables físicas y biológicas del agua para optimizar la producción en medio acuático. Esta práctica se remonta a épocas muy antiguas, según se desprende de varios restos arqueológicos, como por ejemplo un bajo relieve del muro de un templo egipcio de Tebas (2500 a.C.) que representa el cultivo de tilapia (*Oreochromis spp.*) en un estanque artificial. Otros ejemplos, son las leyes que existían en la región Indo-Pacífica para proteger los piscicultores de los ladrones en el 1400 a.C. (Iversen, 1982), o los exitosos cultivos de ostras de japoneses, griegos y romanos. El primer tratado conocido sobre acuicultura, el Manual Fan Lai, fue escrito por el chino Hacen Lei en el 475 a.C. (Quevedo, 1996).

Actualmente la acuicultura es la industria alimentaria que más rápidamente crece a nivel mundial (FAO, 2009) y ha pasado de representar el 3.9% de la producción pesquera del año 1970 a representar actualmente casi la mitad (el 45%) y está previsto que siga aumentando hasta alcanzar el 50% en 2015 (FAO, 2007) (Fig. 1). Este incremento es debido a un aumento en la demanda de pescado, junto a un estancamiento de la pesca extractiva, que desde el 1999 está alrededor de 92-110 millones de toneladas (FAO, 2009) debido a la sobreexplotación de más del 80% de los caladeros.

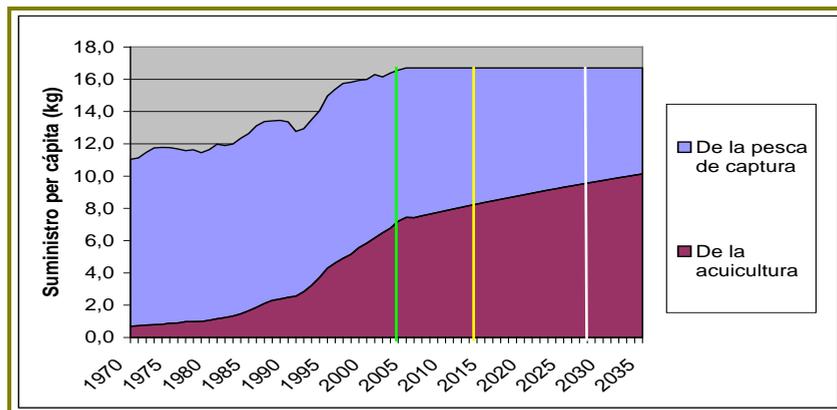


Fig. 1. Suministro previsto de peces comestibles procedentes de la acuicultura y de la pesca de captura, en el supuesto de que aumente de forma constante la producción pesquera de captura y de harina de pescado, así como la demanda de pescado, teniendo en cuenta el crecimiento demográfico previsto. La línea de 2015 representa el punto en el que está previsto que la demanda de peces comestibles de la acuicultura sea igual a la de la pesca de captura (FAO 2007)

Hace falta, sin embargo, que este crecimiento tenga lugar de manera sostenible, mitigando el impacto ambiental de esta actividad intensiva y asegurando a la vez la inocuidad y la calidad de los productos obtenidos. La práctica de la acuicultura está ampliamente extendida a todos los continentes, aunque crece seis veces más rápido en los países en vías de desarrollo que en los países industrializados (Tidwell & Allan, 2001). Las especies cultivadas, sin embargo, difieren entre estas dos regiones; así, en los países pobres el 90.7% de la producción acuícola es de pescados herbívoros, omnívoros, o de organismos acuáticos que se alimentan por filtración, mientras que en los países ricos la producción piscícola se centra en especies carnívoras (FAO, 2002). De entre todos los países productores, China es, con diferencia, el mayor productor mundial, con una producción de 51.5 millones de toneladas en 2006 (17,1 y 34,4 millones de toneladas de capturas y de acuicultura, respectivamente) (FAO, 2009).

En Europa, los principales productos de la acuicultura son pescados de alto valor comercial y los moluscos. La producción de la acuicultura europea representa sólo el 3% de la producción mundial, pero es líder en algunas especies como el salmón atlántico (*Salmo salar*), la trucha (*Oncorhynchus mykiss*), la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la dorada

(*Sparus aurata*), el rodaballo (*Psetta maxima*) y el mejillón (*Mytilus galloprovincialis*). Las condiciones de cultivo están altamente tecnificadas y con un importante nivel de control sobre los procesos. El ritmo de crecimiento de la acuicultura de peces europea ha sido del 7% anual en los últimos 10 años. En 2008 se alcanzaron 2.300.000 Tm, según la Federación Europea de Productores de Acuicultura (FEAP), con un valor comercial que sobrepasó los 5.700 millones de euros.

En España, las especies de pescados marinos criadas actualmente a escala comercial son: dorada, lubina, rodaballo, anguila (*Anguilla anguilla*), corvina (*Agyrosomus regius*), besugo (*Pagellus bogaraveo*), lenguado (*Solea senegalensis*) y abadejo (*Pollachius pollachius*), encontrándose otras especies ya en fase de investigación más o menos avanzada. La dorada (20.743 t), la lubina (8.979 t) y el rodaballo (7.129 t) son, con diferencia, las que acaparan mayores niveles de producción (las tres especies suponen casi un 96% de toda la producción piscícola marina de crianza), y sitúan a España entre los 5 principales países acuícolas de Europa y la cuenca Mediterránea (Fig. 2).

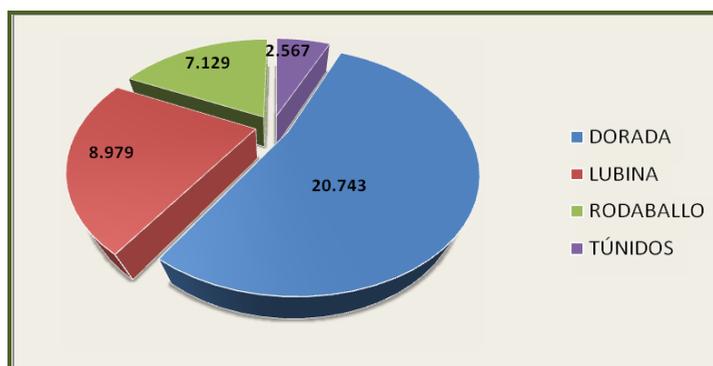


Fig. 2. Producción acuícola de las especies más representativas de España (MAPA, 2009)

1.1 Retos futuros

La dorada es el espárido más representativo en la producción acuícola de peces marinos en los países mediterráneos y concretamente en España, incluida Canarias, siendo España el segundo país productor de esta especie en la Unión Europea (Apromar, 2009).

Durante los últimos diez años ha habido un incremento aproximado del 10% anual en la producción de dorada en el Mediterráneo, acompañada por una reducción en el precio de venta que obliga a reducir los costes de producción para al menos mantener los beneficios. Un reciente estudio de mercado elaborado por la empresa GIRA para la Unión Europea indica que en los próximos años se producirá un incremento del 34% en el mercado europeo de esta especie para el que los productores internos no están preparados y que podría ser parcialmente cubierto por la producción de esta especie en países no europeos de la ribera mediterránea como Turquía. En estos países, el bajo coste de la mano de obra principalmente permitiría reducir los costes de producción y con ello los precios de venta en los mercados europeos. Por todo ello es del interés de los acuicultores, europeos y españoles, la búsqueda de métodos que permitan reducir los costes de producción para poder seguir siendo competitivos.

Sin embargo el reto actual no es solamente aumentar la producción de las especies de la acuicultura sino de ofrecer un producto de alta calidad al consumidor, pudiendo proporcionar un producto pesquero con una calidad controlada. Por ello, la Comisión Europea marca como retos para la acuicultura europea (Apromar, 2007):

- ❖ Crear empleo estable y de calidad, a la vez que generar rentas suficientes a los productores.
- ❖ Mantener elevados estándares de sanidad y bienestar animal.
- ❖ Desarrollar sistemas de producción con reducido impacto ambiental y compromiso de sostenibilidad.
- ❖ Garantizar a los consumidores la disponibilidad de alimentos **saludables**, seguros y de **calidad**.

2. CONCEPTO DE CALIDAD EN EL PESCADO

La calidad de los pescados se ha definido como una combinación de características, tales como *pureza*, *integridad* y *frescura* (Martin, 1988). Dentro de la definición anterior, *pureza* se refiere a la adaptación del alimento a la ingesta de un producto limpio e incontaminado, embalado y almacenado en un ambiente higiénico. La *integridad* sería referida a un producto adecuado a lo supuesto que demandan los consumidores y distribuidores. Finalmente, la *frescura* es la calidad del aspecto, del gusto y de la textura. Las características organolépticas y el valor alimenticio, son dos grupos de características que junto con frescura (Fig. 3) conforman el concepto *calidad* de los pescados según lo percibido por el consumidor. Ambas características dependen íntimamente de la composición química de los pescados, que a su vez depende mucho de los factores relacionados con sus características intrínsecas (tales como especie, edad, sexo, etc.), factores ambientales (temperatura, salinidad, etc.) e historial de alimentación (composición de la dieta, etc.) (Huss, 1995; Grigorakis, 1999). El cosechado y los procedimientos posteriores también interfieren en la apreciación de la calidad.

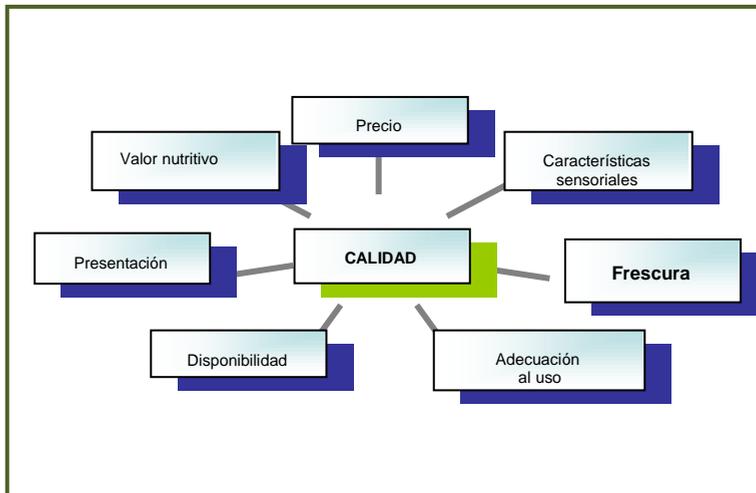


Fig. 3. Factores que contribuyen a la calidad del pescado (Ólafsdóttir *et al.*, 1997)

Además, la complejidad del concepto calidad de los pescados aumenta aún más por el hecho de que en muchos casos, el término *calidad* y su comprensión se diferencian para el productor de los pescados, los distribuidores/industria, el consumidor, los nutricionistas (Rasmussen, 2001) y para las autoridades gubernamentales, que están principalmente interesadas en posibles riesgos para la salud. Por tanto, “buena calidad” también significa ausencia de agentes nocivos tales como parásitos, compuestos químicos y organismos patógenos.

A pesar de tantos matices, como hemos comentado uno de los factores más importantes desde el punto de vista del consumidor es la frescura, ya que una de las peculiaridades más importantes del pescado como alimento es ser fácilmente degradable. Por tanto el tiempo que pasa desde la captura y su historial de temperatura es frecuentemente la clave que determina las características de calidad del pescado como producto. El estado de frescura puede ser descrito por una variedad de propiedades que pueden ser percibidas por varios indicadores (Bremner & Sakaguchi, 2000). Estas propiedades y por tanto la frescura y la calidad del producto final, dependerán de cambios físicos, químicos, bioquímicos y microbiológicos que ocurren durante el periodo *post-mortem* en el pescado (Huss, 1995; Botta, 1995). Estos cambios se referencian como cambios sensoriales, autolíticos y bacteriológicos.

2.1 Cambios *post mortem* en el pescado

Tras la muerte del pescado, se producen procesos bioquímicos naturales, al igual que en la carne de mamíferos pero más rápido ya que el pescado es muy perecedero. Su músculo se encuentra relajado y al tacto es blando y flexible y la textura es firme y elástica. A partir de este momento el pescado sufrirá una serie de modificaciones, que conducirán finalmente al rechazo por parte del consumidor. Durante el transcurso de su deterioro, las condiciones de almacenamiento del pescado serán claves para alargar o acortar el tiempo de vida comercial.

Como consecuencia de su composición química y del pH final poco ácido de su carne, el pescado se degrada con facilidad. Se puede deteriorar por la acción de enzimas

autolíticas endógenas y/o por el desarrollo de una flora de contaminación variada. La flora contaminante se asienta básicamente sobre la piel, agallas e intestino, y se extiende y se multiplica en otros tejidos donde existen sustancias nutritivas adecuadas como sustratos de bajo peso molecular (aminoácidos, aminas volátiles) y un pH relativamente elevado que favorece el desarrollo de dicha flora. Debido a este crecimiento, aparecen compuestos volátiles (trimetilamina, amoníaco, mercaptanos...) que confieren mal olor al pescado. Además, las proteasas del propio pescado y las de origen bacteriano provocan un reblandecimiento rápido del músculo. Por su parte, los lípidos se oxidan y las hemoproteínas modifican el color de la carne (Pascual-Anderson, 2000).

La refrigeración retarda la aparición de las transformaciones anteriores pero no las suprime, ya que la flora contaminante suele ser psicrófila (*Pseudomonas* y *Shewanella spp.* principalmente) y continúa desarrollándose incluso a -5 °C (Pons, 2005). Por otra parte, las lipasas que intervienen en la oxidación de los lípidos permanecen activas aún a temperaturas de congelación (Pascual-Anderson, 2000).

La alteración del pescado va a depender de distintos factores intrínsecos como especie, tamaño, edad o estado nutricional, y extrínsecos como condiciones de captura y métodos de conservación.

2.1.1 Cambios sensoriales. Son aquellos cambios que pueden ser determinados con los sentidos. Los primeros cambios sensoriales del pescado durante el almacenamiento están relacionados con la apariencia y la textura. Tras la captura y muerte del pescado, la interrupción de la circulación sanguínea priva al músculo del aporte de oxígeno y de toda una serie de nutrientes celulares. La actividad celular del pescado después de su muerte continúa aún activa durante poco tiempo impulsada por las reservas de energía, principalmente glucógeno y ATP, que quedan en las células musculares después del forcejeo del pescado en el momento de su captura. Cuando se agota el ATP celular y con la finalidad de obtener más energía, se inicia una glucólisis anaerobia, degradando el glucógeno a glucosa y ácido láctico, de una manera similar a la que se produce en la carne de los mamíferos. La acumulación de ácido láctico provoca un descenso en el pH

del músculo y si lo hace hasta el punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares, éstas se desnaturalizan y pierden su capacidad de retener agua, lo que origina cambios en la textura del pescado (Pons, 2005).

Otro efecto caracterizado por la ausencia del ATP miofibrilar necesario para permitir la reparación de las proteínas contráctiles es la aparición del *rigor mortis* o rigidez cadavérica, contracción del músculo debido a la unión irreversible de los filamentos de actina y miosina una vez se han acabado las reservas energéticas. El estado de rigidez se mantiene durante uno o más días y luego se resuelve el *rigor*, el músculo se relaja nuevamente y recupera la flexibilidad pero no la elasticidad previa al *rigor* (Huss, 1995). Con el tiempo, la pérdida de las reservas de energía celular se traduce en un desequilibrio químico intracelular que activa enzimas endógenos proteolíticos, generando rupturas de los enlaces peptídicos que provocan el ablandamiento de la estructura muscular. El tiempo entre el inicio y la resolución del *rigor mortis* depende de varios factores como la especie de pescado, talla, método de captura, manipulación, temperatura y condiciones físicas del pescado (Pons, 2005). Por ejemplo, en pescado exhausto (como las especies capturadas por arrastre) o en pescado almacenado a temperatura ambiente, la fase de *rigor* aparecerá y pasará rápidamente. En pescados pelágicos pequeños fatigados sucede lo mismo, mientras que en pescados grandes y pescados planos tarda, en general, más tiempo. En el caso de la dorada conservada en hielo, se instaura a las 5 horas, es máximo a las 20 y se resuelve completamente tras unas 60 horas (Tejada & Huidobro, 2001).

A medida que se deteriora el pescado van apareciendo cambios en su olor y sabor debido a la presencia o ausencia de la inosina monofosfato y otros nucleótidos derivados de la degradación del ATP (Fig. 4). La inosina es más o menos insípida mientras que la hipoxantina imparte un sabor agrio o amargo al pescado en procesos de deterioro (Spinelli, 1966). La pérdida de sabor en la carne del pescado es, por lo tanto, atribuida en parte a la degradación de la IMP (Valle *et al.*, 1998).

Otro factor que puede producir cambios en el sabor y olor del pescado es la oxidación de la fracción lipídica. En el caso de pescados grasos, estos cambios conducen a serios problemas de calidad, como la aparición de sabores y olores rancios. El elevado

porcentaje de ácidos grasos insaturados en el pescado lo hace muy susceptible a sufrir procesos de enranciamiento. Los enlaces insaturados captan fácilmente oxígeno, viéndose favorecida esta captación por la luz, las temperaturas elevadas y la presencia de trazas de metales como cobre o hierro (Pons, 2005).

Estos cambios sensoriales mencionados pueden apreciarse en la cadena de modificaciones que suceden durante los procesos de almacenamiento del pescado.

2.1.2 Cambios bacteriológicos. La carne y los órganos internos del pescado sano recién capturado son generalmente estériles, pero existe flora contaminante en piel, branquias e intestino, que depende del ambiente en el que han vivido los peces y su alimentación (Pascual-Anderson, 2000). Durante la captura y manipulación del pescado tienen lugar desgarros y roturas de tejido que permiten la colonización bacteriana del músculo por parte de la flora característica del pescado. La entrada de microorganismos dependerá de lo robusta que sea la piel y de lo gruesa que sea la capa de mucus dérmico del pescado, ya que éste ejerce una actividad inhibitoria mediante mecanismos protectores como las lisozimas (Huss, 1995).

La invasión bacteriana del pescado se ve favorecida por los cambios debidos a la autólisis, los cuales convierten la carne de pescado en un medio rápidamente utilizado por las bacterias, ya que contiene compuestos de bajo peso molecular como oligopéptidos y aminoácidos libres (Pons, 2005).

La flora bacteriana inicial en pescados de agua templada está dominada por bacterias gram-negativas, bacilos psicrófilos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* y *Vibrio*. Después de una fase de demora, cuya duración depende básicamente de la temperatura, las bacterias del pescado inician un crecimiento exponencial a lo largo del deterioro alcanzando valores de 10^8 – 10^9 unidades formadoras de colonias (ufc)/g de carne o cm^2 de piel cuando el deterioro es evidente. Tendrán lugar cambios cualitativos en función de las condiciones de almacenamiento. Los principales microorganismos deteriorantes identificados en el pescado almacenado en hielo son:

- ❖ *Shewanella putrefaciens* que produce H₂S, TMA e hipoxantina (Gram *et al.*, 1989).
- ❖ *Pseudomonas spp.* que producen compuestos volátiles como aldehídos, cetonas, ésteres y sulfuros no-H₂S (Gram *et al.*, 1990).
- ❖ *Photobacterium phosphoreum* que forma TMA e hipoxantina (Dalgaard *et al.*, 1997).

Otras bacterias identificadas como deteriorantes son *Vibrio spp.*, *Alteromonas spp.* y *Aeromonas spp.* (Huss, 1995).

2.1.3 Cambios autolíticos. Tras la instauración del *rigor mortis*, en el pescado se dan una serie de procesos autolíticos producidos por enzimas endógenos de la carne del pescado y que son consecuencia del agotamiento de los recursos energéticos (Pons, 2005).

Los primeros procesos autolíticos que ocurren en el tejido muscular del pescado se relacionan con los hidratos de carbono y los nucleótidos. Dentro del pescado, el glucógeno se concentra más en el músculo rojo que en el músculo blanco, y por ello la actividad autolítica es mayor (Huss, 1995). La degradación de ATP tiene lugar por reacciones de defosforilación y desaminación dando lugar a adenosín difosfato (ADP), adenosín monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP), inosina (HxR) e hipoxantina (Hx) (Fig. 4).

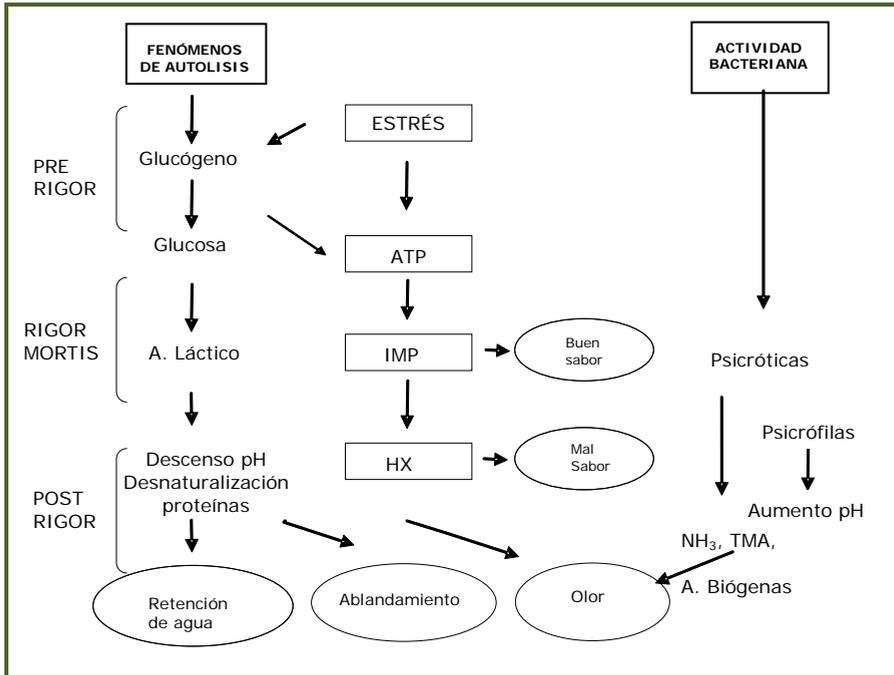


Fig. 4: Principales cambios autolíticos. (ATP: adenosina trifosfato; IMP: inosina monofosfato; Hx: hipoxantina; TMA: trimetilamina)

La hidrólisis de ATP, adenosina difosfato (ADP) y adenosina monofosfato (AMP) hasta su conversión en inosina monofosfato (IMP) ocurre rápidamente después de la muerte del pez, alrededor de 24 horas en la mayoría de las especies de pescado. Por el contrario, la degradación de IMP a inosina (HxR) e hipoxantina (Hx) es lenta, de manera que el IMP se acumula en el músculo de pescado durante un cierto tiempo. Además se ha demostrado que el IMP incide sobre el desarrollo de aroma y sabores agradables del pescado muy fresco y es ampliamente utilizado en Japón como un agente saborizante (Kodaira *et al.*, 2001). Antes del comienzo del *rigor mortis*, el glucógeno y el ATP casi han desaparecido mientras se acumula IMP y posteriormente HxR. Cuando los niveles de IMP y HxR empiezan a disminuir, el contenido de Hx aumenta. Los procesos autolíticos descritos se producen de la misma forma en todos los pescados pero la velocidad varía

mucho según especies. Esto hace que la determinación de nucleósidos como la hipoxantina se pueda utilizar para evaluar el grado de frescura (Huss, 1995).

Los cambios autolíticos en las proteínas son mucho menos pronunciados que los cambios vistos en los nucleótidos. Se han aislado diversas proteasas del músculo de pescado, pero han sido las catepsinas y las calpains las enzimas proteolíticas mayormente descritas. Por un lado, las catepsinas normalmente se encuentran empaquetadas en los lisosomas y se encuentran inactivas dentro del tejido vivo. Son liberadas a los fluidos celulares en caso de abuso físico o congelación y descongelación *post mortem* del músculo. Aunque dichas enzimas presentan, en general, una baja actividad autolítica, se cree que las catepsinas B, D, H y L son las más activas en la degradación autolítica del tejido muscular de pescado (Chéret *et al.*, 2007). Por otro lado, las calpains son endopeptidasas intracelulares, calcio-dependientes, siendo clasificadas como μ -calpains y m-calpains, y que difieren en su mayor o menor sensibilidad al calcio. La calpastatina actúa como inhibidor junto con el calcio y la propia actividad catalítica e inhibidora de las calpains (Chéret *et al.*, 2007).

Los péptidos de bajo peso molecular y los aminoácidos libres producidos por la autólisis de las proteínas actúan como sustrato y aceleran el crecimiento de las bacterias del deterioro. También puede ocurrir la descarboxilación de aminoácidos, produciendo aminas biógenas. Así como la degradación proteica no añade olores ni sabores significativos al pescado hasta estados muy avanzados de la alteración, la desnaturalización de las proteínas da lugar a un ablandamiento de la carne del pescado que dificulta o impide su procesamiento.

Generalmente, coincidiendo con la proteólisis comienza la lipólisis de la grasa. En la mayoría de las especies pesqueras los depósitos grasos consisten, principalmente, en triglicéridos compuestos de ácidos grasos de cadena larga (14-22 átomos de carbono) con un alto grado de insaturaciones, tales como el ácido linoleico (18:2n-6), ácido linolénico (18:3n-3) ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6), ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3) (Huss, 1995). Las modificaciones más importantes que tienen lugar en la fracción lipídica, durante el almacenamiento *post*

mortem de las especies pesqueras, están relacionadas con procesos de hidrólisis y con reacciones de oxidación. Ambas reacciones son de gran importancia para la vida útil de estos productos, ya que dan como resultado distintas sustancias, algunas de las cuales tienen sabores y olores desagradables (rancio) y otras pueden contribuir a cambios en la textura (Huss, 1995). Los ácidos grasos poliinsaturados presentes en los lípidos del pescado son oxidados mediante un mecanismo autocatalítico dando hidroperóxidos, que son compuestos inodoros e insípidos. Estos hidroperóxidos continúan degradándose formándose aldehídos, cetonas, alcoholes, pequeños ácidos carboxílicos y alcanos que originan un extenso espectro de olores y en algunos casos decoloración. Estas reacciones autocatalíticas pueden ser iniciadas y aceleradas por calor, luz (especialmente luz ultravioleta) y diversas sustancias orgánicas e inorgánicas (tales como Cu y Fe). Los hidroperóxidos también pueden ser formados enzimáticamente, por lipoxigenasas presentes en diferentes tejidos del pescado en cantidades variables. Por otra parte, durante el almacenamiento, aparece una cantidad considerable de ácidos grasos libres. Los triglicéridos presentes en los depósitos de grasas son escindidos principalmente por lipasas del tracto digestivo o lipasas excretadas por ciertos microorganismos, mientras que las lipasas musculares desempeñan un papel menor (Massa, 2006).

En el caso de almacenamiento en congelación, el cambio autolítico predominante es la desmetilación del óxido de trimetilamina que da lugar a dimetilamina y formaldehído de forma equimolecular. La enzima responsable es la óxido de trimetilamina desmetilasa y se encuentra unida a la membrana, volviéndose más activa cuando el tejido de la membrana se rompe por la congelación o artificialmente. El formaldehído producido induce el entrecruzamiento de las proteínas musculares ocasionando endurecimiento del músculo y pérdida de la capacidad de retener agua (Pons, 2005).

3. CONCEPTO DE VIDA ÚTIL EN EL PESCADO

El proceso de alteración del pescado fresco se inicia cuando éste muere e incluso antes de su extracción del agua, con la pérdida de las características organolépticas de máxima frescura, y finaliza cuando llega a un estado tal que es considerado como inadecuado para la alimentación humana y el consumidor lo rechaza. A este periodo se le denomina comúnmente vida comercial del pescado. En relación con este término se han propuesto varias determinaciones científicas, como *storage life* o *vida útil* o *vida de almacenamiento* (Spencer & Baines, 1964; Nair *et al.*, 1971; Huss *et al.*, 1974; Curran & Disney, 1979; Olley & Quarmbly, 1981) y *shelf-life* (Charm *et al.*, 1972; Huss, 1996). La vida útil se define como el periodo de tiempo que transcurre desde que un pescado es capturado u obtenido hasta el deterioro sensorial, por inaceptabilidad del producto debido una alta carga bacteriana, a los cambios sensoriales tan evidentes como olor o sabor desagradables, cambios en la apariencia o textura, formación de limo por coalescencia de las colonias o producción de gas (Huss, 1996). De todos los términos, actualmente prevalece en la bibliografía científica la expresión *shelf-life* cuya traducción más adecuada sería *vida útil*.

La vida útil de los productos en fresco de la pesca y de la acuicultura depende, fundamentalmente, de las condiciones de almacenamiento (temperatura y atmósfera) y de la calidad inicial del pescado (Dalgaard, 1995). Como quiera que la actividad microbiana condiciona la vida útil del pescado, que los microorganismos están condicionados por las condiciones térmicas del alimento y que el método más frecuente para conservar el pescado es el enhielado, es por ello que los estudios de vida útil se realizan sobre pescado almacenado en hielo. Con los conocimientos de los cambios que suceden durante la vida útil de una determinada especie de pescado almacenado en hielo se puede, por un lado predecir estadísticamente la vida útil de esa especie de forma estandarizada y por otro determinar la extensión de la vida útil en otras condiciones de conservación diferentes a las que podemos comparar (Pedrosa-Menabrito & Regenstein 1988). Es lo que se conoce como extensión de la vida útil. Para ello, Nixon (1971) describió la tasa relativa de deterioro (Relative Rate of Spoilage, RSS) a diferentes

temperaturas, definido como el cociente de la vida útil del producto a 0 °C y a una temperatura t.

$$\text{RRS a t } ^\circ\text{C} = \frac{\text{Tiempo almacenado a 0 } ^\circ\text{C}}{\text{Tiempo almacenado a t } ^\circ\text{C}}$$

Olley & Quarmby (1981) obtuvieron una vida útil de la dorada gigante asiática (*Chrysophrys major*) a 0 °C de 32 días y RRS de 1.0 mientras que a 10 °C obtuvieron una vida útil de 8 días y RRS de 4.0. Ello significa que a 10 °C esta especie se deteriora cuatro veces más rápidamente que en condiciones de enhielado.

Para referirse a la duración útil se emplea una amplia gama de términos, como calidad, aceptabilidad, preferencia, tiempo de conservación, tiempo de almacenamiento, duración en almacén y duración potencial en almacén. Estos términos no tienen una interpretación uniforme.

La definición más sencilla del límite de la duración en almacén es el punto en que se considera que el producto se ha vuelto incomedible, es decir, se ha descompuesto. Pero incluso esta definición tan simple está abierta a diferentes interpretaciones, ya que no existe un parámetro común para la inaceptabilidad, ni siquiera dentro de ámbitos locales, y tanto menos a nivel mundial. En el otro extremo de la escala de calidad, la “duración de alta calidad” (HQL) puede considerarse como el punto en que el producto conserva todas sus propiedades características. La definición equivalente en la Directiva de Etiquetado de la CEE dice que conserva sus propiedades específicas, mientras que en el CODEX y en las Normas de Calidad de los Estados Unidos se habla de que los productos cocinados deben tener sus sabores característicos y estar exentos de malos sabores.

Aunque la “duración de alta calidad” es más fácil de definir y, por tanto, más ampliamente aceptable, en la práctica puede tener poca significación en lo que respecta al valor comercial del producto. Algunas preferencias personales, por ejemplo, pueden

favorecer incluso a productos que presenten sabores malos no característicos. La evaluación de la calidad se puede determinar ya sea con métodos objetivos o sobre la base de las características organolépticas, pudiendo las diferentes metodologías empleadas proporcionar resultados muy variables. Gracias a la larga experiencia adquirida en materia de inspección e investigaciones pesqueras, se pueden establecer correlaciones entre los métodos objetivos y organolépticos, pero no es posible incorporar en ellas las preferencias de los consumidores, ya que “el término de la calidad buena o aceptable” no es un criterio uniforme que se pueda aplicar universalmente. Por lo tanto, las normas de calidad del pescado deben corresponder a los requisitos del mercado y no a criterios absolutos. Las tablas de duración en almacén deben interpretarse, pues, con cautela y teniendo en cuenta la situación y las condiciones que rigen para los distintos productos.

En la compilación de las tablas de duración en almacén se presta mucha atención a los factores TTT (tiempo, temperatura, tolerancia). Sin embargo, el producto, la elaboración y el embalaje pueden ser factores igualmente importantes. Por lo tanto, las tablas que no especifiquen todas estas condiciones deberán utilizarse sólo a título de orientación general, siendo preciso recurrir a la experimentación o a la experiencia para obtener información más exacta.

4. MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA VIDA ÚTIL

Un método ideal de determinación de la frescura o de la calidad de un pescado, debe ser rápido, fiable, coincidente con la apreciación sensorial y, preferiblemente, aplicable a todos los alimentos marinos. Sin embargo, debido a la gran variedad de especies y de modificaciones bioquímicas existentes, esto es difícil de lograr. En este sentido, se han propuesto numerosos métodos de evaluación de la frescura y calidad del pescado: sensoriales, físicos, químicos y microbiológicos.

4.1 Métodos sensoriales

La evaluación sensorial se puede definir como una disciplina científica que analiza las características del alimento a través de los sentidos (vista, olfato, gusto, tacto y oído). Cuando se aplica sobre pescado, se valoran los cambios organolépticos desarrollados progresivamente en el pescado hasta su deterioro. Son los más utilizados en las inspecciones diarias de lonjas, puertos y mercados y en ellos se apoyan los consumidores y los inspectores de los alimentos para determinar la frescura, calidad e idoneidad de los diferentes lotes de pescado.

Los métodos sensoriales no requieren de equipos ni materiales especiales, son rápidos y permiten la valoración simultánea de más de un parámetro en diferentes muestras de pescado. Sin embargo, el resultado está sometido a las impresiones subjetivas del panel de catadores. Además, en el extremo en el que se intente diferenciar entre el llamado límite de frescura y un estado de alteración incipiente, se ha demostrado la necesidad de disponer de otros métodos objetivos de carácter físico o químico que permitan resolver este problema (Veciana-Nogués, 1999; Pons, 2005).

4.1.1 Análisis sensorial sobre el pescado crudo. Durante los últimos 50 años, se han desarrollado esquemas para el análisis sensorial del pescado crudo. El primer método moderno y detallado, fue desarrollado en la Torry Research Station (Aberdeen, Reino Unido). La idea fundamental era que cada parámetro de calidad fuera independiente de otros parámetros. Posteriormente, la evaluación fue modificada agrupando las características descriptivas para ser expresadas en forma de puntuación. Hoy en día en Europa, el método más comúnmente usado para la evaluación de la calidad en el servicio de inspección y en la industria pesquera es el esquema de la UE, introducido en 1976 (CEE/103/76) y actualizado en 1996 (CEE/2406/96). Este esquema clasifica el pescado en diferentes categorías en función de un valor numérico obtenido tras la inspección organoléptica:

- ❖ **E** (extra), para pescado fresco.
- ❖ **A**, para pescado menos fresco, pero sin contaminación bacteriana.
- ❖ **B**, para pescado que presenta contaminación bacteriana, pero todavía es apto para el consumo humano.
- ❖ **C**, para pescado no apto para el consumo humano, que debe ser decomisado y destruido, de forma que se asegure que no sea comercializado de nuevo.

Aunque el esquema es aceptado en los países de la Unión Europea, existen algunas discrepancias dado que se utilizan parámetros generales y por tanto, no tienen en cuenta las diferencias entre especies. Para poder superar estas discrepancias, una de las alternativas existentes es el Método de Índice de Calidad o *Quality Index Method* (QIM). Este método que tiene en cuenta todas las características de los métodos sensoriales tradicionales, se basa en la observación directa de atributos externos significativos del pescado tales como: ojos, piel, agallas y olor. Sobre los cambios que ocurren en tales atributos, el QIM otorga valores de demérito (habitualmente de 0 al 3) que va adicionando puntos en contra de la calidad. Las puntuaciones registradas en cada atributo se suman para dar una puntuación sensorial total, denominada Índice de Calidad (QI). Este asigna una puntuación sensorial de cero al pescado muy fresco y va aumentando a medida que el deterioro del pescado avanza. Ninguna muestra puede ser rechazada basándose en un único criterio, ya que se tienen en cuenta varios atributos simultáneamente. Para puntuar los atributos, el evaluador cuenta con la descripción del mismo y frecuentemente con fotografías que muestran como dicho atributo se va deteriorando. La principal ventaja que presenta este método es la posibilidad de predecir la vida útil comercial del pescado en hielo, ya que existe una correlación lineal entre el QI y el tiempo de almacenamiento (Alasalvar *et al.*, 2002a; Lougovois *et al.*, 2003).

Debido a la importancia que está adquiriendo el desarrollo de métodos QIM dentro del análisis sensorial el Danish Institute for Fisheries Research ha elaborado un programa de software (<http://www.qim-eurofish.com>) con el que se puede determinar, basándose en el método QIM, la frescura de varias especies de pescado: bacalao (*Gadus*

morhua), solla (*Pleuronectes platessa*), eglefino (*Melanogrammus aeglefinus*), abadejo, gallineta nórdica (*Sebastes mantella*), lenguado, camarón de Groenlandia (*Eualus macilentus*), perca oceánica (*Sebastes spp.*), rémol (*Scophthalmus rhombus*), rodaballo, limanda (*Limanda limanda*) y salmón (Pons, 2005). Destacar entre los distintos QIM, el desarrollado para dorada por Huidobro *et al.*, (2000) y para lubina por Alasalvar *et al.*, (2001).

4.1.2 Análisis sensorial sobre pescado cocinado. El análisis sensorial del pescado cocinado, puede ofrecer información de algunos atributos como el olor o el sabor, que juegan un papel importante en la frescura y pueden ser modificados e incluso perdidos durante la cocción. De hecho, este análisis es el que mejor se correlaciona con el criterio de calidad del consumidor.

Los métodos más comúnmente utilizados para la evaluación del pescado cocinado son el perfil sensorial (Carbonell *et al.*, 2002, 2003) y los esquemas Torry (Torry Research Station, 1989; Regenstein & Regenstein, 1991). Estos esquemas utilizan una escala que va del 10 (pescado fresco) al 3 (pescado deteriorado). El olor y el sabor siguen unas pautas definidas según se altera el pescado, aunque existen diferencias entre las especies, al menos durante las etapas iniciales del deterioro (Ranken, 1993). En estas primeras etapas se buscan referencias conocidas como olor a algas y marisco, pasando a olores y sabores neutrales en las fases intermedias de deterioro. En las fases más avanzadas las referencias pasan a conceptos menos habituales en las catas de pescado, como olores a madera, leche cocida o plantas marchitas y sabores agrios, amargos o sulfurosos. Junto con olor y sabor se valora la textura, valorando la firmeza, jugosidad y cohesividad (Pons, 2005).

4.2 Métodos microbiológicos

La finalidad de los métodos microbiológicos es ofrecer información sobre la calidad higiénica durante la manipulación, elaboración o almacenamiento del producto, así como de la posible presencia de microorganismos de importancia para la salud pública

(Huss, 1995; Morales *et al.*, 1996). La actividad de los microorganismos es el principal factor que limita la durabilidad del pescado fresco. Para el análisis microbiológico rutinario del pescado se utilizan habitualmente dos tipos de métodos: los que hacen un recuento del número total de microorganismos presentes en el pescado y los que se basan en el recuento de un grupo concreto. Así, la legislación española propone como límites máximos para que el pescado sea apto para el consumo humano, valores de 10^6 ufc/g de bacterias mesófilas o 10^3 ufc/g de enterobacterias y ausencia de *Salmonella* y *Shigella* en 25 g (MSC, 1991).

Destacar el uso de técnicas para el análisis de *Microorganismo Específicos del Deterioro* (MED). Entre estos microorganismos, destaca *Shewanella putrefaciens*, bacteria que produce sulfhídrico en algunos pescados mantenidos en refrigeración en condiciones anaerobias, y *Photobacterium phosphoreum*, bacteria identificada como MED en pescado conservado en atmósferas modificadas (Connell, 1995; Ólafsdóttir *et al.*, 1997). Parece ser que la correlación entre los MED y la frescura del pescado es mejor que entre los recuentos totales del pescado y su frescura (Dalgaard, 1995).

Un inconveniente de los métodos microbiológicos tradicionales es que normalmente requieren entre 24 horas y 3 días para la obtención de resultados, hecho que limita su utilización. Es por ello, que se han propuesto métodos rápidos, basados generalmente en medidas indirectas de tipo fisicoquímico como turbidimetría o métodos inmunológicos y genéticos que permiten ahorrar tiempo en la obtención de resultados. Sin embargo, ninguno de ellos ha tenido aún una aceptación general en la determinación de la frescura del pescado (Pons, 2005).

4.3 Métodos físicos

Los métodos físicos son generalmente no destructivos, sencillos y de fácil aplicación, por lo que resultan muy útiles en la analítica de rutina y pueden utilizarse fuera del laboratorio. Sin embargo, la información que ofrecen es a menudo limitada y se suelen utilizar únicamente como complemento de otro tipo de técnica de evaluación (Veciana-

Nogués, 1999). Existen numerosos métodos físicos para la determinación de la calidad del pescado (Pons, 2005). A continuación se describen varios de los más utilizados.

4.3.1 Resistencia eléctrica de la carne del pescado. La medida de la resistencia eléctrica de la carne del pescado se basa en el hecho de que las propiedades eléctricas de la piel y tejido muscular del pescado cambian después de su muerte. Estos cambios se traducen en una disminución gradual de la resistencia al paso de la corriente eléctrica, atribuible al deterioro de las membranas celulares (Ólafsdóttir *et al.*, 2004).

Se han desarrollado varios instrumentos: el Torrymeter o Torrymetro (Reino Unido), el Intellectron Fish Tester (Alemania) y el RT-Freshness Grader (Islandia) que proporcionan una lectura rápida de la resistencia al paso de la corriente eléctrica. Los valores de aceptabilidad según este método varían en función de la especie de pescado por lo que se recomienda calibrarlo en términos del grado de alteración o de la vida útil de cada especie en particular.

Estos aparatos son pequeños, manejables, se colocan directamente sobre el pescado sin dañar la muestra durante la prueba, dan el resultado de forma inmediata y se correlacionan bien con los métodos sensoriales, siendo considerado como un método complementario a otras determinaciones de laboratorio.

4.3.2 Índice de refracción del humor vítreo. Los líquidos oculares se van desecando durante el avance del deterioro, adquiriendo turbidez y variando de esta manera el índice de refracción del fluido del ojo. Esta modificación tiene una correlación con los cambios degradativos que suceden en el músculo (Proctor *et al.*, 1959). El líquido ocular se extrae de la cámara anterior o posterior del ojo y se deposita en un refractómetro de Abbe para efectuar la medición. Kietzmann *et al.*, (1974) estudiaron el índice de refracción ocular en varias especies, así en bacalao un valor igual o inferior a 1.3355 se categoriza como muy fresco, valores de 1.3356-1.3365 como fresco, mientras que valores de refracción superiores a 1.3390 se considerarían como pescado deteriorado.

4.3.3 Rigidez cadavérica. Tras la muerte del pescado se instaura el *rigor mortis* o rigidez cadavérica que con el tiempo se resolverá, lo que supone que el músculo del pescado perderá firmeza. Bito *et al.*, (1983) propusieron una valoración objetiva basada en un índice obtenido tras aplicar la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de rigidez (\%)} = \frac{D_0 - D}{D} \times 100$$

Para poder obtener los datos de la fórmula, la cabeza del pescado se coloca sobre una tabla horizontal. Se miden los valores D_0 : distancia inicial (de cabeza a cola, total o furcal) previa al rigor y D : distancia transcurrida después de un cierto tiempo (Fig. 5 y Fig. 6).



Fig. 5: Dorada durante el *rigor mortis*



Fig. 6: Lubina durante el *rigor mortis*

4.3.4 pH. En general, el pH en el músculo del pez vivo está muy próximo a la neutralidad. Posteriormente desciende a valores de 6,5 o inferiores, por la acumulación de ácido láctico. Estos valores se mantienen durante algunos días y luego aumentan debido a la formación de compuestos básicos (principalmente amonio y aminas) que se generan por la actividad de los microorganismos (Huss, 1995; Pascual-Anderson, 2000).

La determinación del pH se puede realizar directamente con un pHmetro de varilla única o electrodo en la musculatura del pescado. También sobre una masa homogénea de carne de pescado triturada, sola, o en una dilución con agua destilada. Es

un método rápido que se puede aplicar *in situ*, pero presenta el inconveniente de ser destructivo. Resulta difícil relacionar un determinado valor de pH con el grado de frescura, ya que el pH final que se alcanza tras la muerte del pescado depende de las reservas glucolíticas de ese momento, algo que es muy variable ya que dependerá del estado nutricional del pescado y del tipo de captura empleada. Ruiz-Capillas & Moral (2001) proponen, a pesar de encontrar un aumento significativo del pH durante el deterioro del pescado, que se utilice este parámetro más como una guía de calidad que como un índice propiamente dicho.

4.3.5 Textura. La textura es uno de los factores más importantes a considerar en la calidad del pescado (Botta, 1991). Es una característica sensorial para el consumidor y un importante atributo para la industria. Los posibles mecanismos que pueden explicar los procesos de alteración relacionados con los cambios en la textura durante el almacenamiento *post mortem* son la degradación enzimática de algunos componentes de las miofibrillas y del tejido conectivo y la separación de las uniones intercelulares que permiten que se mantenga una estructura organizada y estable entre los componentes musculares (Chéret *et al.*, 2007).

La integridad muscular del pescado se debe principalmente a la función que tienen las proteínas estructurales presentes (colágeno, titina, nebulina...). Así, pequeñas modificaciones de estas proteínas pueden producir cambios importantes en la textura del pescado (Caballero *et al.*, 2009). El colágeno juega un papel muy importante en la integridad del filete, sin embargo, la cantidad de colágeno en el pescado (teleósteos 3% y seláceos 10%) es inferior a la de la carne de animales terrestres (17%), y además tiene un mayor grado de solubilización. Otros factores que afectan las propiedades de textura son: la especie, la edad, el tamaño del pescado, el estado nutricional y el tipo músculo. Asimismo, son sumamente importantes factores *post mortem* como: la manipulación a bordo, el procedimiento utilizado para el sacrificio, y el perfil de temperatura durante el almacenamiento (Massa, 2006).

Aunque sólo mediante el análisis sensorial se pueden percibir íntegramente y describir las sensaciones relacionadas con la textura, las mediciones instrumentales son necesarias para evaluar las propiedades texturales en términos numéricos, de tal forma que tanto los aspectos fundamentales como los aplicados, puedan definirse y estudiarse cuantitativamente. Mediciones objetivas de las características de textura pueden realizarse mediante el uso de un texturómetro (Veland & Torrissen, 1999, Gines *et al.*, 2004). Las principales técnicas se basan en principios reológicos: fuerza de corte, punción y compresión.

Los ensayos de compresión pueden incluir una o dos compresiones. Una compresión es necesaria para determinar la dureza (o la firmeza) y la fracturabilidad de las muestras, mientras que mediante la realización de dos ciclos de compresión consecutivos se puede realizar un Análisis de Perfil de Textura (TPA). A partir del gráfico de Fuerza vs Tiempo obtenido del TPA se pueden calcular distintos parámetros como la cohesividad, elasticidad, adhesividad, gomosidad y masticabilidad de la muestra (Tabla I).

En un test de TPA, la cohesividad se define como la relación entre las áreas de las fuerzas positivas bajo la curva de la 2ª y la 1ª compresión. La elasticidad se define como la altura que el alimento recupera durante el tiempo transcurrido entre el final de la 1ª compresión y el comienzo de la 2ª. La adhesividad se calcula determinando el área de la fuerza negativa de la 1ª compresión. Otras dos características reológicas que derivan de los parámetros medidos son la gomosidad (dureza x cohesividad) y la masticabilidad (gomosidad x elasticidad) (Veland & Torrissen, 1999).

Tabla I. Descripción de los parámetros mecánicos obtenidos mediante el test del análisis de perfil de textura (TPA)

Parámetros mecánicos	Descripción	Variable (unidades)
Dureza	Fuerza máxima requerida para comprimir la muestra hasta un nivel determinado	Fuerza $N \times m \times s^{-2}$
Fracturabilidad	La fuerza a la que se pierde la estructura muscular	Fuerza $N \times m \times s^{-2}$
Cohesividad	Es el punto límite hasta el cual puede deformarse la muestra antes de romperse	Relación Adimensional
Elasticidad	Propiedad de la muestra por la que recupera su forma y dimensiones originales parcial o totalmente al cesar la fuerza aplicada.	Distancia m
Adhesividad	El trabajo requerido para separar la muestra del émbolo de compresión	Trabajo $N \times m^2 \times s^{-2}$
Masticabilidad	La energía requerida para disgregar la muestra hasta que está listo para ser ingerido	Trabajo $N \times m^{-2} \times s^{-2}$
Gomosidad	La energía requerida para desintegrar un alimento semisólido de modo que esté listo para ser ingerido	Fuerza $N \times m \times s^{-2}$

Las aplicaciones de las mediciones instrumentales pueden ser extremadamente útiles en muchos aspectos de las investigaciones de la industria de los alimentos y son necesarias en los siguientes casos:

- ❖ **Describir las características del producto que se desarrolla o mejora.**
- ❖ **Definir las diferencias entre las muestras experimentales y el patrón.**
- ❖ Cuantificar los defectos del proceso y las variables de formulación.
- ❖ Asistir en el desarrollo de alternativas tecnológicas.
- ❖ **Clasificar la calidad textural del producto elaborado.**
- ❖ **Predecir la aceptación por el consumidor.**
- ❖ Suministrar información fundamental acerca de los aspectos básicos de la textura y sus relaciones con la estructura del material.

4.4 Métodos químicos

El interés de los métodos químicos en la evaluación de la calidad de los productos pesqueros, está relacionado con la capacidad para establecer estándares cuantitativos. En general, estos métodos aportan resultados más objetivos, fiables y seguros, pero requieren en muchos casos de personal experimentado e instrumentación que, a veces, tiene un costo elevado. La mayoría de los métodos químicos utilizados en la evaluación de la calidad del pescado implican el análisis de una sola sustancia o de diferentes sustancias que pertenecen a la misma familia (Huss, 1995). Para el análisis de los parámetros relacionados con el deterioro o la pérdida de frescura, existen técnicas de tipo general que son aplicables a la mayoría de las especies de pesqueras.

Para el análisis de los parámetros relacionados con el deterioro o la pérdida de frescura, existen técnicas de tipo general, aplicables a la mayoría de especies de pescado. Se pueden clasificar en:

- ❖ Métodos relacionados con cambios en la fracción nitrogenada básica
- ❖ Métodos basados en la medida de la degradación del ATP
- ❖ Métodos relacionados con cambios en la fracción lipídica

4.4.1 Nitrógeno básico volátil total (NBVT). Como se ha mencionado previamente, tanto la actividad bacteriana, las modificaciones bioquímicas, fruto de la actividad autolítica del pescado, dan lugar a una serie de compuestos nitrogenados básicos como el amoníaco, la trimetilamina (expresado como nitrógeno de trimetilamina, N-TMA), la dimetilamina (expresado como nitrógeno de dimetilamina, N-DMA), la monometilama y propilaminas, conocidas en su conjunto como nitrógeno básico volátil total (NBVT), a los que se les considera representativos de la alteración del pescado (Hollingworth *et al.*, 1990; Huidobro & Tejada, 1990). El componente mayoritario de la fracción del NBVT es el N-TMA, compuesto originado por la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina (OTMA) y al que se considera el responsable del característico “olor desagradable” del pescado. En pescado fresco la TMA, se encuentra en cantidades muy pequeñas y se va acumulando durante el deterioro como resultado de la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina

(OTMA). El OTMA está presente en el tejido vivo de muchas especies de peces marinos, dicho compuesto desempeña un papel sustancial en los procesos de osmoregulación (Huss, 1995). Tanto la actividad bacteriana, como la determinación de NBVT presenta una elevada correlación con el grado de aceptación organoléptico del pescado y se aplica en ensayos de rutina debido a que puede ser un método relativamente sencillo de aplicar y barato (Connell, 1995).

Cuando el desarrollo o la actividad bacteriana están impedidos, como es el caso de temperaturas de congelación, a partir del precursor OTMA se puede formar N-DMA y formaldehído por acción de enzimas del propio pescado (Lundstrom & Racicot, 1983). Así, el N-TMA está relacionado con el almacenamiento del pescado en refrigeración, mientras que el N-DMA con el pescado mantenido en congelación (Pons, 2005).

4.4.2 Aminas Biógenas. Las aminas biógenas son bases orgánicas de bajo peso molecular, presentes como consecuencia de diversos procesos metabólicos. En el pescado, se acepta que el origen de contenidos elevados de aminas biógenas es fruto de la actividad aminoácido-descarboxilasa que presentan algunos microorganismos, y es por ello que su determinación se se ha usado como un índice de calidad higiénico-sanitario del pescado (Brink *et al.*, 1990; Halász *et al.*, 1994).

Las aminas biógenas son termoresistentes, por lo que su determinación permite ampliar la evaluación de la calidad del pescado a derivados en los que su elaboración comporta tratamientos térmicos. Entre otros aspectos, el interés de la determinación de las aminas biógenas se centra en la necesidad de controlar el contenido de algunas de ellas (como la histamina) ya que se han descrito problemas toxicológicos relacionados con el consumo de pescado que presentaba contenidos elevados de estas sustancias (Mariné-Font *et al.*, 1995; Lehane & Olley, 2000; Pons, 2005).

4.4.3. Valor K. En la mayoría de las especies de pescado, la degradación del ATP sigue la secuencia especificada en el anterior apartado de los cambios autolíticos del pescado (Fig. 4), aunque la velocidad en la que se dan estos cambios es muy variable. Inmediatamente

después de la muerte del pescado, el ATP se degrada rápidamente a IMP mediante la formación de ADP y AMP por la actividad de enzimas endógenos. La posterior degradación del IMP a inosina (HxR) e hipoxantina (Hx) es más lenta (Ólafsdóttir *et al.*, 1997). En el último paso de la secuencia, participan tanto enzimas autolíticos como enzimas de origen bacteriano. Es por ello que la metabolización de HxR a Hx presenta mayor variabilidad entre especies que las reacciones que le preceden. En función de esta velocidad, se han clasificado las especies en (Ehira & Uchiyama, 1986):

- ❖ **Especies formadoras de inosina:** boquerón, atún (*Thunnus thynnus*), etc. Se acumula HxR debido a la baja actividad de los enzimas que catalizan la transformación a Hx.
- ❖ **Especies formadoras de hipoxantina:** platija (*Platichthys flesus*), rodaballo...
- ❖ **Especies de tipo intermedio:** salmón, congrio (*Conger conger*) ...

La determinación del ATP y sus metabolitos presenta una doble ventaja. Por un lado permite evaluar la pérdida de frescura previa a la proliferación bacteriana (Huss, 1995). Por otro, la Hx es un metabolito termoestable, con lo que su análisis puede proporcionar información acerca del pescado fresco, refrigerado y en conserva (Burns & Ke, 1985). Saito *et al.*, (1959) pusieron a punto una técnica para la determinación cuantitativa de los derivados del ATP y definieron el índice K según la siguiente expresión:

$$K = \frac{Hx + HxR}{ATP + ADP + AMP + IMP + Hx + HxR} \times 100$$

El índice K es un valor relativo que mide la proporción entre compuestos defosforilados con respecto al total de ATP y sus metabolitos en una misma muestra. Los valores obtenidos tras la aplicación del índice K permiten clasificar el pescado en:

- ❖ **K<20%**: pescado muy fresco, apto incluso para su consumo crudo.
- ❖ **20%<K<40%**: pescado que se puede considerar fresco, pero que debe cocinarse antes de ser consumido.
- ❖ **K>40%**: pescado no fresco, no apto para el consumo humano.

Se han desarrollado otros índices para el análisis de la calidad del pescado basados en la formación de los metabolitos de degradación del ATP: el *índice G* (Burns & Ke, 1985) en el que se da más importancia a la formación de inosina, o el *índice H* (Luong *et al.*, 1992) basado en la Hx, pero su uso no está tan extendido como el del valor K (Pons, 2005).

4.4.4. Índices de rancidez lipídica. La gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados presentes en los lípidos de las especies pesqueras las hace altamente susceptibles a reacciones de oxidación. En ellas, mediante reacciones en cadena por radicales libres se forman hidroperóxidos, que posteriormente son oxidados a aldehídos, cetonas y otros compuestos, que tienen olor y sabor desagradable. La peroxidación de los lípidos es de gran importancia en términos de la frescura del filete (Monahan, 2000), aunque el pescado se considera no apto para el consumo humano (la proliferación bacteriana está muy avanzada) antes de que las modificaciones de la fracción lipídica sean evidentes. Por el contrario, en la evaluación del pescado congelado, el propio proceso de la congelación inhibe el crecimiento microbiano, pero no evita totalmente ni las modificaciones químicas ni las debidas a los enzimas del pescado. El fenómeno de rancidez es más evidente en pescados grasos.

La rancidez de los lípidos tiene varias etapas. En una primera fase los lípidos del pescado (altamente insaturados) reaccionan con el oxígeno dando lugar a peróxidos, compuestos inodoros e insípidos. En una segunda fase estos peróxidos pueden posteriormente volverse a oxidar dando lugar a aldehídos y cetonas, que confieren al pescado olores y sabores desagradables (Huss, 1995).

Existen distintos métodos para medir ambas etapas de la oxidación de lípidos. El valor de peróxido da una medida de la primera etapa de esta reacción (Stine *et al.*, 1954). Este índice no es muy fiable ya que depende en qué momento hacemos la determinación, puesto que su formación no tiene un crecimiento lineal, sino curvilíneo.

La segunda puede ser monitoreada cuantificando el valor de las sustancias reactivas al ácido tíoarbitúrico (TBARs). Valores de TBA superiores a 1-2 (micromoles de malonaldehído presente en 1 g de grasa) son indicativos de rancidez organoléptica (Pons, 2005).

5. PRINCIPALES ACTUACIONES QUE MODIFICAN LA VIDA ÚTIL EN EL PESCADO

5.1. Métodos de sacrificio

El *rigor mortis*, uno de los primeros cambios *post mortem*, tiene una influencia importante en el aspecto y la estructura del músculo del pescado. Tras el sacrificio, la musculatura se relaja, pero como el contenido del ATP disminuye por debajo de un nivel crítico, la actina y la miosina se unen con un enlace irreversible (actomiosina) y el músculo entra en *rigor mortis* (Iwamoto *et al.*, 1987). Después de un cierto tiempo, el músculo del pescado entra en un proceso de degradación, relacionado posiblemente con la degradación del tejido conectivo (Ando *et al.*, 1999) y la fractura de los Z-discos de miofibrillas y de ensamblajes de la actomiosina (Yamanoue & Takahashi, 1988).

Una mayor actividad antes de la muerte da lugar a la reducción rápida en el ATP y un descenso del pH, pues el metabolismo del músculo es predominantemente anaerobio, dando por resultado la producción del ácido láctico (Thomas *et al.*, 1999; Ruff *et al.*, 2003). Elegir el método más conveniente del sacrificio es un paso importante para asegurar una buena calidad de los productos pesqueros. Un sacrificio que cause agotamiento puede inducir una resolución anterior del *rigor mortis*, una textura más suave, un indeseable desgajamiento de los miotomos o *gaping*, y pérdida de vida útil (Lowe *et al.*, 1993; Robb & Kestin, 2002). La tensión y el estrés durante el sacrificio es también una preocupación desde un punto de vista del bienestar animal (Robb & Kestin, 2002). Una manera posible

de reducir la tensión del *ante mortem* es el uso del aturdimiento eléctrico antes del sacrificio (Roth *et al.*, 2002; Lambooi *et al.*, 2004). Aunque cierta incidencia de rotura de vértebras y de hemorragias han sido reportadas tras el aturdimiento eléctrico (Roth *et al.*, 2003), se ha propuesto que, con algunas mejoras, el aturdimiento eléctrico podría resolver los requisitos de la calidad de la carne y del bienestar animal (Robb & Kestin, 2002; Roth *et al.*, 2002; Lines *et al.*, 2003).

5.2. Temperatura

5.2.1. Refrigeración. El control de la temperatura es el primer factor que afecta la velocidad de deterioro en el pescado (Hall, 1997). La temperatura afecta al deterioro tanto en la actividad microbiana como enzimática. El crecimiento de muchos microorganismos es reducido a temperaturas inferiores a 10 °C e incluso bacterias tolerantes al frío tienen fases más largas y generaciones menores a temperaturas cercanas a 0 °C (Huss, 1995). El método más efectivo para preservar pescado es el enfriamiento entre 0 y 1 °C (Pedrosa-Menabrito & Regenstein, 1988).

Básicamente hay dos métodos para el enfriado: el hielo fundente a partir de agua dulce y el hielo líquido a partir de agua de mar congelada.

- ❖ El hielo fundente puede presentarse picado o en escamas. Se administra a los pescados para luego conservarlos en cámaras entre 0 y 4 °C. Un súper enfriamiento o congelación parcial conlleva el almacén del pescado a -3 o -4 °C aunque el inconveniente de este sistema es que conlleva el aumento de la hidrólisis fosfolipídica y la desnaturalización de las proteínas miofibrilares que sucede a temperaturas próximas a -5 °C (Toyomizu *et al.*, 1981).
- ❖ El hielo líquido es una técnica alternativa al actual método de sacrificio. Se utiliza agua salada como materia prima para la producción, y se compone de millones de cristales microscópicos de hielo en suspensión en el agua de mar con una temperatura de alrededor -1.5 °C, aunque depende de la salinidad y de la concentración de hielo (Huidobro *et al.*, 2001). El calor transferido entre el hielo

y el agua de mar se produce por convección y por tanto el poder de enfriamiento es superior que en el caso del hielo convencional (Sikorski, 1990). Otra ventaja adicional del hielo líquido es el menor daño físico que infringe al pescado debido al tamaño de sus micro partículas con respecto al hielo convencional (Rodríguez *et al.*, 2003). Además existe menor efecto negativo en la textura. Kilinc *et al.*, (2007) determinó un aumento de la vida útil de 2 días en dorada y lubina con el uso de hielo líquido frente al hielo fundente convencional. Sin embargo, el mayor poder refrigerante (a veces $-2.2\text{ }^{\circ}\text{C}$) puede hacer opaca la pupila del pescado disminuyendo su valor comercial (Huidobro *et al.*, 2001; Cakli *et al.*, 2006). Además, algunas especies son susceptibles a sufrir decoloración con la consiguiente pérdida de presencia del producto y el exceso de sal puede alterar el sabor y disminuir el valor del producto en el mercado (Sikorski, 1990).

5.2.2 Congelado. Alrededor del 75% del peso del pescado es agua que contiene substratos coloidales disueltos. Estos substratos reducen el punto de congelación por debajo de los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (-1 a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Durante el proceso de congelación el agua pasa a hielo y la concentración de sales orgánicas e inorgánicas aumenta, sin embargo el agua ligada nunca se congela. La congelación, en general, preserva el pescado reduciendo la actividad del agua y la energía de activación de reacción, de esa manera previene el crecimiento bacteriano y la actividad autolítica (Hall, 1997). El principal inconveniente de la congelación de los pescados es la desnaturalización de las proteínas debido a la no disposición de agua, que causa pérdidas en la capacidad de retención de la misma y pérdidas por goteo tras la descongelación. Para minimizar estas pérdidas, el tiempo de permanencia en la zona de desnaturalización (-1 a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$) debe ser minimizado. Estos procesos indeseables se pueden evitar mediante la congelación rápida (Hall, 1997), ubicando el pescado a temperaturas inferiores a la zona de desnaturalización, en el menor tiempo posible.

5.3 Métodos de conservación

5.3.1. Envasado en Atmósfera Modificada. Atmósfera modificada (AM) y atmósfera controlada (AC) son métodos de empaquetado que implican la eliminación del aire del interior del envase y su sustitución por un gas o mezcla de gases. La mezcla de gases a emplear depende del tipo de producto.

La atmósfera gaseosa cambia continuamente durante el periodo de almacenamiento, por la influencia de distintos factores, como respiración del pescado envasado, cambios bioquímicos, y la lenta difusión de los gases a través del envase. También hay sistemas activos que lo que generan es un desprendimiento de sustancias volátiles por parte del envase que generan una atmósfera modificada en el interior del envase. Podemos utilizar dióxido de carbono (CO₂), dióxido de azufre (SO₂), oxígeno (O₂), monóxido de carbono (CO) y nitrógeno (N₂) (Lyver, 1997). El efecto se obtiene sobre todo incrementando el porcentaje de CO₂, ya que es un compuesto con alta capacidad antimicrobiana y que controla muchos procesos enzimáticos. Así se consigue, como mínimo, duplicar la vida útil del pescado. El nitrógeno actúa como atmósfera inerte desplazando el oxígeno. De esa manera, previene rancidez, crecimiento de levaduras.

Durante la refrigeración en atmósfera de CO₂, *Pseudomonas spp.* son totalmente inhibidas y algunas mueren, siendo los organismos gram-positivos, principalmente *Lactobacillus spp.* y *Alteromonas* la flora predominante en la refrigeración combinada con atmósferas modificadas. Como efecto indeseable, esta flora gram-positiva favorecida por la atmósfera de CO₂ puede producir metabolitos distintos de los típicos de la flora gram-negativa lo que puede desembocar en cambios en las características sensoriales del pescado (Houjaj, 2000).

Algunos efectos indeseables asociados a AM/AC son cambios de color y condiciones de almacenamiento que crean una atmósfera anaeróbica favorable para el desarrollo de *Clostridium botulinum* (Sikorski, 1990). También la AM parece incrementar las pérdidas por goteo (debido a la disolución del CO₂ dentro de la superficie del músculo y la disminución del pH) oscurecimiento del músculo rojo y precipitando la conversión de inosina en hipoxantina (Davies, 1997).

Con respecto a la dorada diversos autores han trabajado con MA (Drosinos & Nychas, 1996; Tryfinopoulou *et al.*, 2002) aunque normalmente en combinación con otras tecnologías como antioxidantes naturales (Giménez *et al.*, 2004; Goulas & Kontominas, 2007). Todos ellos consiguieron aumentar la vida útil de la dorada con el uso de estas tecnologías.

5.3.2 Irradiación/Radiación. El mecanismo fundamental para la inhibición bacteriana es la rotura de los enlaces dentro de las moléculas de DNA o la alteración de la permeabilidad de las membranas u otra función celular. La aplicación de irradiación por ejemplo a bajas dosis, por debajo del nivel de 10 kGy, ha sido reconocida por un grupo de expertos en irradiación en alimentos de la FAO/IAEA/WHO (2005) como no presentar toxicidad y ha sido sugerido como herramienta para aumentar la vida útil de mariscos refrigerados (Sikorski, 1990).

Dosis inferiores, conocidas como radurización (1-3 kGy) han sido usadas para extender la vida útil de los productos pesqueros (Venugopal *et al.*, 1999). Respecto a la calidad sensorial, dosis bajas de 1.5 kGy han demostrado no afectar la calidad sensorial del pescado conservado en hielo. Por el contrario dosis superiores de entre 5-10 kGy podrían desarrollar sabores indeseables en algunos productos (Ehlermann & Reinacher, 1978). Respecto a la flora más sensible a la radiación ionizante parece que las bacterias gram-negativas no esporuladas mostraron la sensibilidad más acusada. La resistencia dependerá de la especie y variedad y también del estado de desarrollo de la población, así como de las propiedades del medio y las condiciones de irradiación. En el caso de la dorada destacar los trabajos de Chouliara *et al.*, (2004, 2005) en los que la radurización junto con el salado, refrigerado y envasado al vacío, extendieron la vida útil del filete de dorada desde 14-15 días hasta 27-28. Erkan & Özden (2007), probaron dosis más altas de 2.5-5 kGy con temperaturas de 4 °C en dorada entera, consiguiendo aumentar la vida útil desde 13 días en el lote control hasta 15 días el tratado con dosis de 2.5 kGy, y 17 días el tratado con dosis de 5 kGy. Por último, Özogul *et al.*, (2010) estudiaron la degradación de

los nucleótidos con dosis de 2.5 y de 5 kGy consiguiendo una menor degradación de los nucleótidos con dosis de 5 kGy.

5.3.3. Tecnología de alta presión (AP). Consiste en la aplicación de alta presión hidrostática a los materiales, comprimiendo el agua circundante y transmitiendo la presión a través del producto rápida y uniformemente. La investigación de los efectos de la alta presión hidrostática en los alimentos y los microorganismos comenzó en 1899 donde fue utilizada para aumentar la vida útil de la leche (Hite, 1899). Las altas presiones por lo tanto, inactivan microorganismos y afectan la actividad de enzimas, mientras que el valor nutritivo o características funcionales siguen sin cambios (Yuste *et al.*, 2001). Las altas presiones han sido utilizadas en trucha y camarón (*Palaemon serratus*) (Houjaj, 2000), y su uso ha sido investigado sobre el efecto en las calpains en lubina (Chéret *et al.*, 2007), describiéndose que las AP inhiben la actividad de las mismas probablemente por un cambio en su estructura conformacional. El uso de la alta presión para prolongar la vida de almacenaje de productos enfriados parece ser un método prometedor para las varias clases de alimentos, no obstante los resultados de los experimentos no se han transferido a la industria del pescado (Hurtado *et al.*, 2000) hasta ahora. El uso más destacado de las altas presiones en la calidad del pescado ha sido un método rápido para inactivar larvas de *Anisakys simplex* (Molina-Garcia & Sanz, 2002).

5.3.4. Tratamientos químicos e inhibidores enzimáticos. Los antioxidantes son sustancias que prolongan la vida útil de los productos alimenticios protegiéndolos frente al deterioro causado por la oxidación, tales como el enranciamiento de las grasas y los cambios de color. En el músculo de pescados, especialmente en pescado graso, la oxidación de los lípidos es la primera causa de la pérdida de calidad. Por lo tanto, los antioxidantes son empleados para retrasar o interrumpir la oxidación lipídica, responsable de la producción del mal gusto y olor. Estos se clasifican en tres tipos:

- ❖ **Tipo I:** Sustancias que interrumpen la cadena de radicales cediendo un radical hidrógeno. Butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), butilhidroquinona terciario (BHQT), y galato de propilo (GP).
- ❖ **Tipo II:** Compuestos que actúan impidiendo o disminuyendo la formación de radicales libres. Agentes quelantes como el EDTA o tales como ácido ascórbico, ácido cítrico y sales de sodio de ácidos orgánicos de bajo peso molecular como citrato, lactato o acetato sódico.
- ❖ **Tipo III:** Procedimientos de protección con condiciones físicas protectoras.

No obstante, el mercado de los antioxidantes sintéticos está en retroceso, mientras que los antioxidantes naturales, tales como extractos naturales, los tocoferoles (vitamina E) y los ascorbatos (vitamina C) están en crecimiento impulsados por una mayor aceptación por parte del consumidor y menores requisitos legales para su uso en el mercado (Ali *et al.*, 2007). En esta línea, restos de uva blanca procedentes de la industria vinícola añadidos como fibra alimentaría mejoraron la vida útil del músculo de caballa (*Scomber japonicus*) (Sánchez-Alonso, 2007). El aceite y extractos de orégano y romero están siendo estudiados como antioxidantes específicos para el pescado y para los ácidos grasos omega-3 (Giménez *et al.*, 2004; Goulas & Kontominas, 2007; Bhale *et al.*, 2007).

5.4. Nutrición

La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente, estación del año, y están estrechamente relacionadas con la alimentación, patrón migratorio y cambios sexuales relacionados con el desove. Los peces criados mediante acuicultura también pueden mostrar variaciones en la composición química, pero en este caso ciertos factores, como la alimentación, puede ser controlada, y por lo tanto se puede incluso predecir la composición química del filete. Diversos factores como la composición del alimento, ambiente, tamaño del pez y rasgos genéticos, tienen un impacto en la composición y la calidad del pescado de acuicultura (Reinitz *et al.*, 1979).

Existen diversos elementos que pueden modificar la composición química del pescado pero también incluso su aspecto, como es el caso de los carotenoides usados para conferir la coloración deseada a los organismos cultivados. El consumidor subconscientemente relaciona el color del producto con valor nutritivo, salud, frescura y sabor. Por lo tanto constituye un decisivo criterio de calidad que debe ser mantenido y optimizado. Los carotenoides no solo contribuyen a mejorar la calidad por la mejora del color, sino que también contribuyen a posicionar en las mentes de los consumidores una mejor imagen del producto de la acuicultura, dado el hecho que en los años recientes se ha generado creciente información del efecto positivo de los carotenoides para la salud humana (Guerin *et al.*, 2003; Rao & Rao, 2007).

La acción antioxidante de determinadas vitaminas es ampliamente conocida. Entre los antioxidantes naturales destacar la α -tocoferol, potente antioxidante biológico que puede proteger las membranas y los componentes lipídicos que contienen los ácidos grasos no saturados contra el ataque de radicales libres del oxígeno. Hay diversos estudios desarrollados en salmón (Scaife *et al.*, 2000), lubina (Pirini *et al.*, 2000) y rodaballo (Stéphan *et al.*, 1995; Ruff *et al.*, 2003) en los que la adición del α -tocoferol a las dietas disminuyó la susceptibilidad a la oxidación de los filetes de estos pescados mejorando la vida útil y la calidad del pescado como alimento.

Otro elemento de la dieta capaz de influir en la composición bioquímica de los pescados de acuicultura son las modificaciones en la fuente de proteínas, tradicionalmente suministrada a través de harina de pescado, y actualmente reemplazada por harinas vegetales. Algunos de estos estudios muestran la relación entre la fuente proteica y la calidad del pescado como alimento, particularmente son estudios enfocados a valorar la composición nutritiva o bioquímica. Aoki *et al.*, (1996) no encontraron ninguna diferencia en la calidad de la carne entre la dorada japonesa (*Pagrus major*) adulta alimentada con o sin sustitución de la fuente de proteína. Kaushik *et al.*, (1995) y De Francesco *et al.*, (2004) demostraron que en truchas alimentadas con dietas conteniendo ingredientes vegetales, las características organolépticas se vieron afectadas solo de manera leve. En dorada, De Francesco *et al.*, (2007) demostraron que la inclusión de altas cantidades de ingredientes

de origen vegetal (750 g/Kg) no afectó al crecimiento y tuvieron poco efecto en los perfiles de calidad.

De similar manera, una fuente de variación de las características bioquímicas y por tanto de la vida útil, consiste en modificaciones en la fuente de lípidos. Al igual que en el caso de las proteínas, la principal fuente de sustitución del aceite de pescado son los aceites vegetales (Caballero *et al.*, 2002). En esta línea hay varios trabajos con diferentes resultados, que relacionan el nivel o fuente de sustitución del aceite de pescado con los parámetros de calidad. Así, en la sustitución del aceite de pescado por aceite de soja en bacalao (Mørkøre *et al.*, 2007), los consumidores detectaron diferencias de sabor entre los peces control y con sustitución, aunque no mostraron preferencia entre ambas dietas.

Respecto a la apreciación organoléptica en especies como rodaballo, la sustitución completa del aceite de pescado por aceite de soja o lino afectó significativamente la percepción sensorial del olor y la textura (Regost *et al.*, 2001). Esto es posible ya que la inclusión de aceites vegetales en los piensos para peces modifica en gran medida el perfil de ácidos grasos del músculo, el metabolismo lipídico en este tejido y en consecuencia la calidad del filete y sus propiedades organolépticas (Guillou *et al.*, 1995; Regost *et al.*, 2001). Otro efecto derivado del cambio de fuente lipídica y de la composición de ácidos grasos es un cambio en la proporción de componentes volátiles que afectan al sabor (Turchini *et al.*, 2004; Grigorakis *et al.*, 2009). Turchini *et al.*, (2007) determinó que el cambio de dieta en tenca (*Tinca tinca*) que provoca un aumento de aldehídos derivados del *n*-6 como por ejemplo las dietas ricas en soja, conduce a un aumento aromas desagradables al paladar del consumidor.

Algunos estudios en dorada han mostrado algunas consideraciones en cuanto a la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales en relación al producto (Izquierdo *et al.*, 2005; Montero *et al.*, 2008). Así, experimentos realizados en juveniles de dorada, usando niveles de sustitución del 60 al 80% con distintas fuentes vegetales (Izquierdo *et al.*, 2003; Menoyo *et al.*, 2004) observaron que el contenido de ácidos grasos se ve modificado, aunque no alteró la percepción de los atributos sensoriales. Sin embargo, dependiendo de la fuente vegetal, Izquierdo *et al.*, (2003, 2005) divulgaron que

los pescados alimentados con reemplazo del aceite de pescado por aceite de soja alteraban olor, sabor y parámetros de textura.

Respecto al resto de parámetros fisicoquímicos capaces de determinar modificaciones en la vida útil, sólo podemos citar los trabajos de Menoyo y colaboradores en los que estudiaron el efecto en el pH y en las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en dorada (Menoyo *et al.*, 2004). Este mismo autor, estudió el efecto tras sustituir el aceite de pescado por aceite de lino en salmón respecto a la oxidación de los lípidos, determinando que se produce una reducción de los niveles de peroxidación medido mediante el nivel de TBARS (Menoyo *et al.*, 2005), sugiriendo el potencial de este tipo de aceite para preservar la frescura del filete.



OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

1.- Estudiar la importancia del NBVT como parámetro para determinar el deterioro de doradas y lubinas criadas en Canarias durante su almacenamiento en hielo, y evaluar la influencia de los distintos métodos de conservación de extractos para la determinación de la validez del NBVT como indicador de la frescura de especies de crianza.

2- Evaluar el efecto de la sustitución del aceite de pescado por aceite de lino en las dietas para dorada sobre la composición bioquímica y características nutritivas del filete a lo largo de la vida útil.

3.-Determinar la influencia de la inclusión de aceite de lino en las dietas para dorada sobre los parámetros de frescura y calidad del filete a lo largo del periodo de conservación.



MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

En este capítulo se presenta el material experimental y la metodología usada en los diferentes capítulos (4 "Determinación de la vida útil de la dorada y lubina cultivada en Canarias", 5 "Efecto del tiempo y temperatura en el almacén de extractos para determinación de NBVT", 6 "Inclusión del aceite de lino en las dietas de dorada. Efecto en composición proximal y ácidos grasos del filete durante la vida útil" y 7, "Inclusión del aceite de lino en las dietas de dorada. Efecto en los parámetros fisicoquímicos y sensoriales del filete durante la vida útil") llevados a cabo para el desarrollo de la presente tesis doctoral, incluyendo aquellos relativos a los parámetros biológicos, análisis químicos, físicos y sensoriales. Determinadas condiciones experimentales de cada experiencia son especificadas en los distintos capítulos.

1. MATERIAL EXPERIMENTAL E INSTALACIONES

Todos los peces, tanto doradas (*Sparus aurata*, Linnaeus, 1758) como lubinas (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) fueron suministradas por la empresa local de producción de peces *Alevines y Doradas S.A.* (ADSA).

En los capítulos 4 y 5, se usaron peces adultos en talla comercial de 400 g y en el caso del capítulo 6 y 7, alevines de 40-45 g. En este último caso los peces se trasladaron a las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas, perteneciente a la Agencia Canaria de Investigación, Innovación y Sociedad de la Información de la Consejería de Presidencia del Gobierno de Canarias, donde se procedió a su alimentación con las distintas dietas experimentales que serán descritas en los capítulos correspondientes (6 y 7).

Para la obtención de las distintas muestras los peces se capturaron y se sacrificaron mediante choque hipotérmico por inmersión de los mismos en cubas con hielo

en escamas y agua. Los individuos sacrificados se trasladaron inmediatamente a los correspondientes laboratorios de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria en condiciones de refrigeración, donde se colocaron en cajas de polietileno de 0.75 x 0.45 x 0.20 m con hielo en escamas en proporción 2:1. Las cajas poseían un sistema de drenaje para la evacuación del agua. Las muestras se almacenaron en cámara de refrigeración, a una temperatura de 4°C, reponiéndose el hielo a lo largo del estudio y según la necesidad.

Los distintos análisis del presente trabajo se realizaron en los laboratorios de Tecnología de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria y los laboratorios de la División de Acuicultura y Genética Marina del Instituto Universitario de Sanidad Animal seguridad alimentaria (IUSA) de la ULPGC.



Fig. 7: Tanques de 1000 litros utilizados en los experimentos III y IV



Fig. 8: Cubas de sacrificio utilizadas en los capítulos 6 y 7

2. METODOLOGÍA

Los parámetros estudiados se determinaron en el día de sacrificio de los animales, así como tras permanecer en hielo durante un periodo de tiempo, con el fin de monitorizar la secuencia de cambios a lo largo de la vida útil de las especies estudiadas.

2.1 Datos biométricos

Se obtuvieron datos biométricos con el fin de determinar la homogeneidad de los lotes estudiados. Los datos biométricos del peso y longitud se expresaron en gramos y centímetros, respectivamente. La longitud se midió desde la punta de la cabeza al extremo de la aleta caudal.

2.2 Análisis fisicoquímico

2.2.1 Torrymetro. La conductividad eléctrica (TMRs) como índice de la frescura de los pescados se determinó usando un Torrymetro, el Torry freshness Meter (G.R. *Torrymeter*) modelo 295 (G.R. Internacional electronic LTD., West Lothian, Escocia).

El Torrymetro es un instrumento que consta de dos electrodos de grafito en su parte de contacto con el pescado que miden la impedancia eléctrica de la piel o músculo del pescado al paso de una corriente eléctrica de aproximadamente 1 mA, un botón de accionamiento del mismo y un lector digital en su parte superior que visualiza la lectura, con un rango de 0 a 16 unidades. El circuito consta de una salida de corriente eléctrica de 2 V para un oscilador sinusoidal de 2 KHz, dos electrodos sensibles, un comparador de impedancia, un filtro de impulsos negativos y un amplificador-compensador de temperatura. Las determinaciones se realizaron mediante la colocación de los sensores directamente sobre la piel, en la porción central de la línea lateral de los pescados, durante el tiempo necesario para que el instrumento realizara su lectura.

2.2.2 pH. El pH de la carne se determinó mediante la lectura directa del potencial eléctrico creado en la membrana de un electrodo de penetración (Crison Instruments S.A. Alella, Barcelona) diseñado especialmente para la medida del pH en muestras de alimento sólidas después de realizar una incisión en la piel.

El electrodo de penetración presenta como diferencias con los electrodos convencionales un cuerpo exterior de acero inoxidable 316. El electrodo del pHmetro fue calibrado previamente, empleando patrones 4 y 7 estandarizados.

2.2.3 NBVT. Para la determinación del Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) se empleó el método de referencia basado en la destilación de un extracto desproteinizado mediante ácido perclórico, mediante destilación directa, citado en la legislación sanitaria comunitaria como método de referencia de la CEE (CEE, 2005).

Se tomaron exactamente 50 ml del extracto que se depositaron en un tubo de digestión, al que se añadió 4 gotas de silicona líquida como agente antiespumante y 4 gotas de una solución de fenoltaleína, para comprobar la suficiente alcalinización. Se ajustó el tubo de digestión y el equipo (unidad de la destilación de 2100, Foss Tecator AB), de forma que añadiera 20 ml de hidróxido sódico al 20%.

Inmediatamente comienza la destilación formándose 100 ml de destilado, que se recogió en una solución de ácido bórico al 3% a la que previamente se había añadido 4 gotas de indicador de Tashiro. El tubo de destilación debe permanecer siempre dentro de la solución.



Pasados 6 minutos (100 ml), se detuvo la destilación y se valoró mediante CIH 0,01 M. Todos los análisis deben realizarse por duplicado, rechazándose aquellos que tengan una variación superior a 2 mg/100 g entre los duplicados estudiados. Así mismo, se

debe realizar una prueba en blanco en la que se sustituye el extracto muscular por 50 ml de ácido perclórico al 6%.

Para la comprobación del equipo, se realizaron determinaciones por duplicado sobre una solución de ácido perclórico a la que se añadió una cantidad conocida de nitrógeno. Esto se consiguió mediante el uso de amonio sulfato.

Una vez determinada la cantidad de clorhídrico añadido, se realiza el cálculo del NBVT:

$$\text{NBVT} = \frac{(V_0 - V_1) \times 0,140067 \times 0,01 \times 100}{M}$$

V0:	ml de CIH añadidos en la muestra en blanco.
V1:	ml de CIH añadidos en cada muestra.
0,140067:	PM del nitrógeno.
0,01:	normalidad del clorhídrico añadido.
100:	factor de conversión para expresarlo en función de 100.

2.2.4 Oxidación lipídica. La medida de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico se determinó según el método del extracto propuesto por Shahidi & Hong (1991).

Se homogeneizaron 10 g de músculo con 20 ml de ácido tricloroacético al 10% (Ultraturax T25, Janke & Kunkel GMBH, Alemania), en frío para evitar el incremento de la temperatura. A continuación, las muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 30 min a 5 °C y el sobrenadante se filtró con papel de filtro cuantitativo (MN 640 W, Machinery-Nagel GMBH *et al.*, KG, Düren, Alemania).

Posteriormente, en un tubo de cristal se hicieron reaccionar 2 ml de sobrenadante con 2 ml de solución de ácido 2-tiobarbitúrico 20 nM. Tras homogeneizar los tubos mediante agitación se incubaron a 97 °C durante 20 min en un bloque de calor.

Transcurrido este tiempo, se enfriaron los tubos con agua corriente y se leyó la absorbancia a 531 nm en un espectrofotómetro Thermo, Genesys UV10 (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, USA). Los resultados se calcularon mediante una curva patrón usando 1,1,3,3, tetrametoxipropano (TMP) y se expresaron como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en mg de malonaldehído/Kg de muestra.

2.3 Análisis proximal y de los ácidos grasos

2.3.1 Análisis proximal. Se realizaron los distintos análisis de proteínas, lípidos, cenizas y humedad para determinar la composición proximal de los filetes pertenecientes al capítulo 6.

2.3.1.1 Proteínas. Las proteínas se calcularon a partir de la composición en nitrógeno total de las muestras determinadas mediante la técnica de Kjeldhal (AOAC, 1995).

La primera etapa tiene como objetivo **mineralizar o digerir una alícuota de la muestra** (1.5–2 g) con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de un catalizador (selenio y sulfato de cobre) a temperaturas elevadas (450 °C) en el sistema de digestión Kjeltect[®] (Tecator). Durante esta etapa, la materia orgánica se transformará en inorgánica, principalmente en iones amonio debido a la acidez del medio. La etapa de digestión tiene una duración aproximada de 3-4 horas y finaliza cuando se obtiene una solución transparente de color azulado.

La segunda etapa consiste en la **destilación del nitrógeno inorgánico** de la solución ácida y en la posterior alcalinización con hidróxido sódico al 40% mediante corriente de vapor de agua en el sistema de destilación automático Kjeltect[®] (Tecator). Los iones amonio pasan a amoníaco y son recogidos sobre una solución de ácido bórico al 4%.

En la tercera etapa se lleva a cabo una **valoración volumétrica ácido-base** con una solución normalizada de ácido clorhídrico 0.1 N en presencia de un indicador de pH, Tashiro (compuesto por rojo de metilo y azul de metileno). A partir del volumen de ácido

consumido, se puede calcular la cantidad de nitrógeno destilado, equivalente al nitrógeno presente en la muestra digerida aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de proteína} = \frac{\text{ml HCl muestra} - \text{ml HCl blanco} (0,1 \times 14,007 \times 6,25 \times 100)}{\text{Peso de muestra en g}}$$

2.3.1.2 Lípidos. El método utilizado para la extracción de lípidos totales fue el descrito por Folch *et al.*, (1957). Se pesaron 200 mg de músculo en un tubo y se añadió 5 ml de cloroformo: metanol (2:1) con 0,01 BHT. A continuación se homogenizó en un Ultraturrax (Janke & Kunkel GMBH, Alemania) durante 5 minutos, y se añadió 2 ml de KCl 0.88%. Posteriormente, se centrifugó durante 5 minutos a 2000 rpm y se extrajo la fase inferior que se filtró en otro tubo.

Este filtrado se evaporó hasta sequedad en corriente de N₂ y fue finalmente pesado. El porcentaje en peso seco de lípidos de la muestra se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ lípidos} = \frac{\text{g lípidos}}{\text{g muestra}} \times 100$$

2.3.1.3 Cenizas. El contenido de ceniza fue determinado por incineración de la muestra en un horno de mufla a una temperatura de 450 °C hasta peso constante (AOAC, 1995).

2.3.1.4 Humedad. La humedad de las muestras se determinó por desecación en estufa a 105 °C hasta peso constante (AOAC, 1995).

2.3.2 Análisis de los ácidos grasos. Los lípidos de las dietas y de los filetes fueron extraídos con una mezcla de cloroformo: metanol (2:1 v:v) según Folch *et al.*, (1957).

Los metilesteres de los ácidos grasos fueron obtenidos mediante transesterificación con ácido sulfúrico al 1% en metanol (Christie, 2003). Los metilesteres de los ácidos grasos fueron purificados mediante adsorción con cartuchos de NH₂ Sep-pack cartridges (Waters, S.A., Milford, Massachusetts), y separados y cuantificados mediante cromatografía gas-liquida siguiendo las condiciones descritas por Izquierdo *et al.*, (1990). Los ácidos grasos fueron separados mediante cromatografía gaseosa con He como gas transportador (a presión constante de 100 Kpa) usando una columna Supelcowax 10 (28 mx 0.32 mm y 0,25 i.d.). La temperatura inicial de la columna fue de 270 °C (10 min), entonces el horno se elevó desde 220 °C a 2.5 °C min⁻¹ y mantenido a 220 °C por encima de 5 min. El tiempo total fue de 35 min. El pico de detección fue desarrollado con un detector ionizador de llama. La temperatura del inyector y ionizador de llama fue de 250 °C. Los ácidos grasos fueron identificados por comparación de patrones estandarizados.

El **índice aterogénico (IA)** y el **índice trombogénico (IT)**, fueron calculados de acuerdo con Ulbricht & Southgate (1991), como sigue:

$$AI = \frac{4(14:0) + 16:0}{293 [MUFA + n-3 PUFA + n-6 PUFA]}$$

$$TI = \frac{[14:0 + 16:0 + 18:0]}{[0.5MUFA + 0.5(n-6PUFA) + 3(n-3PUFA) + (n-3PUFA/n-6PUFA)]}$$

2.4 Análisis sensorial

La evaluación sensorial para la dorada tanto cruda como cocinada se realizó en la sala de cata de la División de Acuicultura y Genética Marina del IUSA. La sala, dividida en seis cabinas individuales, está diseñada para realizar esta actividad de manera aislada

y con ambiente e iluminación estandarizada siguiendo las indicaciones de la ISO 8589 (2007) (Fig.9).



Fig. 9: Box de sala de catas



Fig. 10: Sesión de entrenamiento

2.4.1 Panel de catadores. Para este estudio se contó con un panel de catadores seleccionados por su interés, disponibilidad y capacidad sensorial o discriminatoria, compuesto por 9 miembros (5 hombres y 4 mujeres) y pertenecientes al Grupo de Investigación en Acuicultura y/o profesores de la Facultad de Veterinaria. Las edades de los catadores están comprendidas entre los 25 y 44 años. Todos ellos están familiarizados con el producto objeto de estudio, con paneles de evaluación sensorial y previamente habían sido entrenados en la dinámica (ISO 6658 2005) y la nomenclatura (ISO 5492 2008) utilizada en el experimento (Fig. 10 y 12). Para este entrenamiento, se llevaron a cabo tres tipos de sesiones:

Sesiones preliminares donde se comentaron los métodos disponibles, bien tablas sensoriales de la legislación (reglamento 2406/1996/CEE) o de la literatura (QIM y esquema Torry). También se explicó cómo aplicarlas a las especies en estudio e interpretar la traducción en el caso del QIM y el esquema Torry, así como la necesidad de elaborar un perfil sensorial específico para dorada tanto cruda como cocinada.

Sesiones de entrenamiento cuyo objetivo fue familiarizar al panel de catadores con los atributos sensoriales.

Sesiones de aplicación donde se valoraron los distintos atributos en una escala preparada a tal efecto (Fig. 11).



Fig. 11: Detalle de los cuestionarios



Fig.12. Detalle de las sesiones de entrenamiento

2.4.2 Pescado crudo.

La evaluación del pescado crudo se realizó siguiendo los protocolos más habituales. Así, en el capítulo 4 se utilizó el baremo de clasificación de frescura para el pescado blanco señalado en el Reglamento 2406/1996/CEE del Consejo, por el que se establecen normas comunes de comercialización para determinados productos pesqueros, modificado para este estudio (CEE, 1996).

Tabla II. Baremo de clasificación de la frescura del pescado blanco. (Reglamento 2406/1996/CEE)

Categoría de frescura				
	Extra	A	B	No admitidos
Piel	Pigmento vivo y tornasolado u opalescente; Sin decoloración	Pigmentación viva pero sin brillo.	Pigmentación en fase de decoloración y apagada.	Pigmentación apagada o en un estado de descomposición más avanzado.
Mucosidad cutánea	Acuosa, transparente	Ligeramente turbia	Lechosa.	Gris amarillenta, opaco.
Ojo	Convexo (abombado); Pupila negra y brillante	Convexo, ligeramente hundido; pupila negra apagada; cornea ligera opalescente.	Plano; cornea opalescente; pupila opaca	Cóncavo en el centro, pupila gris, cornea lechosa o en un estado de descomposición más avanzado
Branquias	Color vivo, sin mucosidad.	Menos coloreadas, Mucosidad transparente.	Color marrón/gris decolorándose; mucosidad opaca y espesa	Agrio
Olor de branquias y cavidad abdominal	Algas marinas	Ausencia de olor a algas, olor neutro	Fermentado; ligeramente agrio	Agrio
Carne	Firme y elástica; Superficie lisa	Menos elástica.	Ligeramente blanda (flácida), menos elástica; Superficie cérea (aterciopelada) y opaca	Blanda, flácida o en un estado de descomposición más avanzado; Las escamas se desprenden fácilmente de la piel, superficie algo arrugada.

En el capítulo 6, la valoración organoléptica se realizó aplicando el Quality Index Method (QIM) (Tabla III) publicado para esta especie por Huidobro *et al.*, (2000), aplicando una escala de puntos de demérito.

Tabla III: Quality Index Method (QIM) aplicado a dorada (Huidobro *et al.*, 2000)

Parámetros		Atributos	Puntos
Apariencia	Piel	Muy Brillante	0
		Brillante	1
		Apagada	2
	Mucosidad Cutánea	Clara-Transparente	0
Ligeramente turbia		1	
Carne	Elasticidad	Elástica	0
		Marcada tras presión	1
Olor		Fresco	0
		Neutro	1
		A pescado	2
		Pasado/Agrio	3
Ojo	Cornea	Clara-traslucida	0
		Ligeramente opaca	1
		Opaca/Con sangre	2
	Forma	Convexo	0
		Plano	1
		Cóncavo	2
Branquias	Color	Brillante/Rojo Oscuro	0
		Rojo Parduzco	1
	Olor	Fresco	0
		Neutro	1
		A pescado	2
		Pasado/Agrio	3
Índice de Calidad (0-15 puntos)		Suma total de puntos de demérito	

2.4.3 Pescado cocinado

2.4.3.1 Perfil sensorial. El perfil sensorial de la dorada alimentada con las diferentes dietas experimentales fue determinado en seis filetes por cada dieta. Las pruebas sensoriales se desarrollaron entre las 12:00 y las 14:00 p.m. en el laboratorio de Análisis Sensorial de la División de Acuicultura y Genética Marina del IUSA. El cocinado se realizó introduciendo los fragmentos (3-4 cm) del filete de pescado en envases de aluminio

alimentario cerrado e identificado mediante códigos. Estos fueron preparados en un horno de convección a 115 °C durante 10 min, tras lo cual se ofrecieron al panel. Se valoraron un total de 17 atributos (Tabla IV) agrupados según el tipo de percepción sensorial, esto es, olor (marino, aceitoso, anormal), aspecto (blancura, brillo, compacto, líquido expelido), textura (cohesividad, jugosidad, dureza, adherencia), sabor (marino, aceitosos, atípico), persistencia del sabor o el gusto residual (persistente, aceitoso) y la aceptabilidad general. El panel anotó las cualidades sensoriales en la escala continua no estructurada desde 0 (intensidad reducida) a 100 (intensidad alta).

Tabla IV: Descriptores del perfil sensorial para filete de dorada sin cocinar

<i>Descriptor</i>	<i>Definición</i>	<i>Rango (0 -100)</i>	
Olor			
Marino	Olor característico de filete de dorada fresco cocinada	ausente	intenso
Aceitoso	Olor asociado con aceite de pescado	ausente	intenso
Atípico	Olor anómalo	ausente	intenso
Apariencia			
Blancura	Intensidad de color blanco	bajo	alto
Brillo	Intensidad de brillo	bajo	alto
Compacto	Grado de fuerza para romper la muestra con un tenedor	bajo	alto
Líquido expelido	Cantidad de líquido liberado cuando la muestra es cortada con un tenedor	ausente	abundante
Textura			
Cohesividad	Grado de deformación de la muestra antes de romperse	desmenuzable	firme
Jugosidad	Cantidad de líquido liberado cuando la muestra es masticada	ausente	abundante
Dureza	Fuerza requerida para romper la muestra tras la primera masticación	tierno	duro
Adhesividad	Esfuerzo requerido para separar la superficie de la muestra de otra superficie (lengua, dientes)	bajo	alto
Sabor			
Marino	Aroma característico asociado con algas marinas	ligero	fuerte
Aceitoso	Olor asociado con aceite de pescado	ligero	fuerte
Atípico	Aroma anómalo	ligero	fuerte
Sabor residual			
Persistente	Tiempo de persistencia del sabor tras la deglución	corto	largo
Aceitoso	Persistencia de sabor a aceite de pescado tras la deglución	ausente	intenso
Aceptabilidad	Grado de aceptabilidad	bajo	alto

2.4.3.2 Aceptación. La medida de la aceptabilidad de la dorada cocinada se analizó usando el esquema de Torry (Torry advisory note nº 91), modificado por Alasalvar *et al.*, (2001) para esta especie, durante la vida útil tras los días 0, 2, 4, 7, 10, 14 y 17 de almacenaje. Se utilizó una escala hedónica a partir del 10 (absolutamente fresco) hasta 3 (estropeado totalmente). Se valoró olor, sabor, textura así como el valor medio de la sumatoria de los tres factores, que fue considerado como la aceptación del producto (Tabla V). Los miembros del panel pudieron agregar información adicional a partir de sus propias apreciaciones. El proceso de cocinado se realizó introduciendo los fragmentos (3-4 cm) del filete de pescado en un horno de aire convección a 115 °C durante 10 min. Inmediatamente después, los fragmentos de filete se ofrecieron al panel de 9 catadores entrenados en un envase de aluminio alimentario cerrado y identificado mediante códigos.

Tabla V. Baremo de frescura para pescado cocinado (Torry) adaptado Alasalvar *et al.*, (2001)

Puntuación	Olor	Sabor	Textura (en boca)
10	Débil olor dulce, leche cocida, almidón, seguido por un afianzamiento de esos olores	Acuoso, metálico, almidón. Inicialmente ningún sabor sustancioso aunque puede desarrollar un débil sabor dulce	Seco, que se desmenuza bien con fibras cortas y consistentes
9	Marisco, algas, carne cocida, plantas crudas	Dulce, sabroso, cremoso, plantas verdes, característico	Seco, que se desmenuza bien, succulento
8	Perdida de olor, olor neutral	Sabor dulce característico aunque reducido en intensidad.	Seco, menos succulento, pegajoso.
7	Virutas de madera, vainilla	Neutral	Ligeramente seco, menos succulento, fibroso, pegajoso
6	Leche condensada, caramelo, tofe	Insípido	Ligeramente seco, menos succulento, fibroso, pegajoso
5	Olor a la jarra de la leche, patatas cocidas, ropa cocida	Ligeramente agrio, trazas de mal sabor	Menos succulento, menos fibroso
4	Ácido láctico, leche agria, plantas marchitas, olor a establo	Ligeramente amargo, agrio, mal sabor	Firmeza inicial que se va perdiendo con el almacén
3	Acético/Butírico, olor a compost, olor a ropa cocida	Muy amargo, gomoso, ligeramente sulfuroso	Firmeza inicial que se va perdiendo con el almacén

2.5. Análisis de la textura

2.5.1 Pescado crudo. El análisis de la textura en el pescado crudo se realizó en el filete crudo en los días 0, 2, 4, 7, 10, 14 y 17 de almacén en hielo. El estudio fue desarrollado con el texturómetro Stable Micro Systems texture analyser (TA.XT2, Surrey, Reino Unido). La medida de la textura fue realizada siguiendo el protocolo descrito por Gines *et al.*, (2004) y realizada a temperatura de refrigeración, manteniendo el filete en hielo durante todo el proceso. Los estudios se realizaron sobre tres fragmentos (2.5 x 2.5) del lomo del filete izquierdo (craneal, central y caudal) tras retirar la piel.

2.5.2 Pescado cocinado. El análisis de la textura en el pescado cocinado se realizó en el filete cocinado de dorada en el día de sacrificio, esto es en el día 0 de almacén en hielo. El estudio fue desarrollado con el texturómetro Stable Micro Systems texture analyser (TA.XT2, Surrey, Reino Unido). La medida de la textura fue realizada siguiendo el protocolo descrito por Gines *et al.*, (2004) sobre tres fragmentos (2.5 x 2.5 x 2.5) del lomo del filete izquierdo (craneal, central y caudal) tras retirar la piel y ser cocinados en un horno de convección a 115 °C durante 10 minutos.



Fig. 13: Fragmentos de filete crudo de dorada



Fig. 14: Texturómetro

2.6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS v. 11.0-14.0. Los datos fueron analizados con el análisis de la varianza de dos vías (ANOVA) con el número de los días en hielo y el tratamiento como factores principales. La significación estadística fue definida como un p-valor de ANOVA igual o menor de 0.05. Los resultados de la significación fueron analizados por comparaciones *post hoc* para buscar diferencias entre los grupos experimentales. Las condiciones estadísticas particulares se especifican en los correspondientes capítulos.



CAPÍTULO 4

4. DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE LA DORADA Y LA LUBINA CRIADA EN LAS ISLAS CANARIAS

RESUMEN

La determinación de la vida útil de las principales especies cultivadas en Canarias (dorada, lubina) es imperativa para organizar estrategias de comercialización. El Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT) es la técnica de referencia en la CEE para la determinación del límite de consumo para especies pesqueras. Con el uso de esta técnica combinada con una valoración organoléptica nos ofrecería una visión completa del tiempo máximo de consumo o vida útil. Para este fin se estudiaron 64 doradas y 64 lubinas, se realizó una valoración sensorial mediante el baremo de clasificación de la frescura del pescado blanco (Reglamento 2406/1996/CEE) y la determinación de los valores de NBVT durante 21 días de almacenamiento en hielo. Los resultados en el caso de la dorada determinaron una vida útil de 18 días, y unos valores máximos de NBVT de 30 mg/100 g de músculo analizado. Sin embargo, en el caso de la lubina cuando el pescado fue considerado inaceptable desde el punto de vista organoléptico (>18 días), los valores de NBVT no habían registrado incrementos significativos en ese periodo.

Tras estos resultados se realizó un estudio complementario para el caso de la lubina en el que se amplió hasta 28 días los días de estudio *post mortem* (0, 2, 4, 7, 10, 14, 18, 21, 24, 28), determinándose que el NBVT en la lubina en Canarias crece fuera de la vida útil determinada por medio sensorial y por tanto no debe considerarse este parámetro adecuado para determinar la vida útil en esta especie.

Keywords: dorada, lubina, vida útil, calidad.

Publicado como: Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice.

Autores: Castro, P.L., Penedo, J.C., Caballero, M.J., Sanjuán, E. & Millán, R.
Food Control 2006 17(4): 245-248

1. INTRODUCCIÓN

La vida útil del pescado se define como el periodo de tiempo que transcurre desde que un pescado es capturado u obtenido hasta el deterioro sensorial, por inaceptabilidad del producto debido a cambios sensoriales tan evidentes como olor o sabor desagradables, cambios en la apariencia o textura o producción de gas. Conocer la vida útil para consumo de los pescados cultivados en Canarias (dorada y lubina) es de gran interés para los productores ya que permitiría planificar estrategias de comercialización que compensen la lejanía de las islas a los mercados principales.

Tradicionalmente, la determinación de la vida útil se ha determinado mediante pruebas organolépticas que utilizan los órganos de los sentidos para evaluar características del pescado como su aspecto, textura, olor, color, sabor. Siempre es necesario este tipo de valoraciones siendo las más utilizadas en las inspecciones diarias en lonjas, puertos y mercados. En Europa el baremo oficial para este tipo de exámenes es el baremo oficial para la clasificación del pescado blanco (CEE/2406/96). Este esquema clasifica el pescado en diferentes categorías en función de un valor numérico obtenido tras la inspección organoléptica. Sin embargo, el resultado está sometido a las impresiones subjetivas del panel de catadores y se ha demostrado la necesidad de disponer de otros métodos objetivos de carácter físico o químico que permitan resolver este problema (Veciana-Nogués, 1999).

La determinación del nitrógeno básico volátil total (NBVT), que actúa como prueba química de referencia (CEE, 2005), expresa cuantitativamente el contenido de bases volátiles de baja masa molecular (nitrógeno no proteico) y aminas procedentes de la descarboxilación microbiana de los aminoácidos (origen proteico). Los componentes principales son trimetilamina (TMA), dimetilamina, monometilamina, putrescina, cadaverina, espermina y espermidina, además del amoníaco procedente de la degradación proteica (Tabla VI).

El nitrógeno no proteico está ligado a valores organolépticos, como el del olor a pescado, que es debido a la TMA. También tendría efectos secretagogos, como en el caso del OTMA, responsable del olor a mar del pescado fresco.

Por ello, el objetivo de este experimento fue estudiar la evolución del NBVT, para establecer la vida útil de las dos principales especies cultivadas en Canarias.

Tabla VI. Componentes del NBVT

Componente original	Degradado a:
OTMA	Monometilamina, Dimetilamina, Trimetilamina (TMA)
Comp. de Guanidina	Creatina
Aminoácidos libres	Taurina, alanina, glicina, histidina
Bases volátiles	
Bases purínicas	
Nucleótidos	ATP, IMP, Inositol, Hipoxantina
Urea	NH ₃ (en cartilagosos)

2. CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.1. Material experimental

Se estudiaron 64 ejemplares de dorada con un peso medio de 502.91±8.24 g y una longitud media de 30.81±0.64 cm. Además se estudiaron 64 ejemplares de lubina con un peso medio de 470.37±86.48 g, y una longitud media de 32.49±1.56 cm.

2.2. Dietas experimentales

Las doradas y lubinas se obtuvieron de la empresa ADSA, donde habían sido sometidos a regímenes nutricionales estándar de las granjas comerciales.

2.3. Preparación de las muestras y puntos muestrales

Tras el sacrificio de los peces, se almacenaron en hielo siendo los puntos muestrales del experimento los días 0, 2, 4, 7, 10, 14, 18 y 21. Se estudiaron 8 pescados por cada uno de los 8 puntos muestrales por cada especie.

2.4. Análisis estadístico

Se exploraron las tendencias en la variación del NBVT a lo largo del periodo de estudio, mediante suavizado de los datos por el método de los k puntos más próximos. A partir de los gráficos suavizados, se seleccionó un modelo ad-hoc para cada especie utilizando el criterio del coeficiente de determinación (R^2) máximo. El modelo finalmente seleccionado fue el cúbico, el cual tiene la forma:

$$NBV = \beta_0 + \beta_1 \cdot (dia) + \beta_2 \cdot (dia)^2 + \beta_3 \cdot (dia)^3$$

Los coeficientes del mismo, se estimaron por el método de máxima verosimilitud y se contrastó la significación de los parámetros mediante los correspondientes t-test. Un contraste se consideró estadísticamente significativo cuando el p -valor fue inferior a 0.05. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS, v 11.0.

3. RESULTADOS

3.1.1 Dorada evaluación sensorial. La Evaluación Sensorial Cualitativa de la Legislación Comunitaria (ESUE), indicó que las muestras de dorada eran de categoría Extra los primeros dos días experimentales y pasaban a categoría de fresca A en las evaluaciones de los días 4 y 7. Las de los días 10 y 14, la fresca fue de categoría B, mientras que se consideró *No Admitido* (NA) a partir del día 18 y hasta finalizar el periodo de estudio. En la Tabla VII, se exponen los valores medios de la evaluación sensorial cualitativa a lo largo del periodo de estudio.

Tabla VII. Valor medio del análisis organoléptico en dorada. ESUE: Evaluación sensorial de la Unión Europea

<i>Días en hielo</i>	ESUE
0	Extra
2	Extra
4	A
7	A
10	B
14	B
18	<i>No Admitido</i>
21	<i>No Admitido</i>

3.1.2 Dorada NBVT. El NBVT evolucionó desde unos valores medios de 21.55 mg en el día del sacrificio hasta 33.38 mg el día 21, en el que se realizó la última lectura (Tabla VIII y Fig. 15).

Tabla VIII. Valores medios de NBVT en dorada (mg/100 g músculo analizado)

Día 0	Día 2	Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 18	Día 21
21.55	22.89	23.14	22.95	22.52	23.86	29.62	33.38

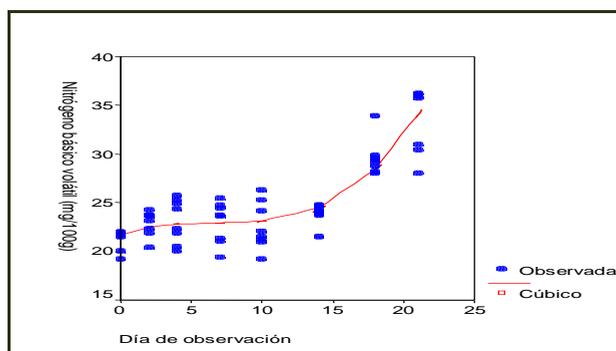


Fig. 15. Evolución del NBVT en dorada. Observado y tras ajuste cúbico

3.2.1 Lubina evaluación sensorial. La evaluación sensorial cualitativa de la legislación Comunitaria (ESUE), indicó que las muestras estudiadas eran de categoría E para los dos primeros días experimentales y pasaban a categoría de frescura A en las evaluaciones sensoriales de los días 4 y 7. En los ejemplares de los días 10, 14 y 18, la frescura fue de categoría B, mientras que se consideró *No admitido* (NA) a partir del 21, día que finalizó el periodo de observación. En la Tabla IX, se exponen los valores medios de la evaluación sensorial cualitativa a lo largo del tiempo de estudio.

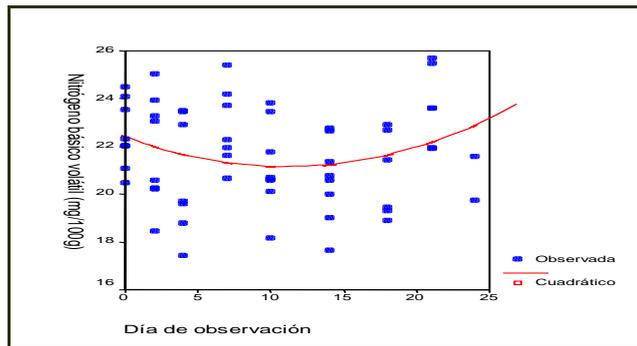
Tabla IX. Valor medio del análisis organoléptico en lubina. ESUE: evaluación sensorial de la Unión Europea

<i>Días en hielo</i>	ESUE
0	Extra
2	Extra
4	A
7	A
10	B
14	B
18	B
21	<i>No Admitido</i>

3.2.2 Lubina NBVT. El NBVT tuvo una evolución muy poco marcada, desde unos valores medios de 22.48 mg en el día del sacrificio, hasta 23.67 mg el día 21 en el que se realizó la última lectura (Tabla X y Fig. 16).

Tabla X. Valores medios de NBVT en lubina (mg/100 g músculo analizado)

Día 0	Día 2	Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 18	Día 21
22.48	21.80	21.07	22.85	21.13	20.58	21.08	23.67

**Fig. 16.** Evolución del NBVT en lubina. Observado y tras ajuste cúbico

Tras obtener los resultados anteriormente expuestos, se planteo la realización de una ampliación de los días a estudio. Esta ampliación se realizó con un lote de lubinas de la misma explotación con un peso similar, de $495,05 \text{ g} \pm 7.2 \text{ g}$ de media. Se tomaron sólo 2 peces por punto estudiado, excepto a partir del día 18, que se estudiaron 3 ejemplares, con lo que fueron 24 el número total de peces a estudiar. Debido a que según la valoración organoléptica, la vida útil de la lubina cultivada en Canarias era de 21 días, aumentamos los puntos de estudio por encima de los 21 días, ya que los valores máximos de NBVT se alcanzan en los días próximos a su rechazo para el consumo desde el punto de vista sensorial. Los valores alcanzados en esta validación se presentan en forma de resumen, con los valores medios alcanzados por día estudiado (Tabla XI y Fig. 17).

Tabla XI. Valores medios de NVBT en lubina (Ampliación del estudio) (mg/100 g músculo analizado)

Día 0	Día 2	Día 4	Día 7	Día 10	Día 14	Día 18	Día 21	Día 24	Día 28
18.21	19.61	19.89	20.87	17.39	19.19	18.87	19.00	20.63	24.51

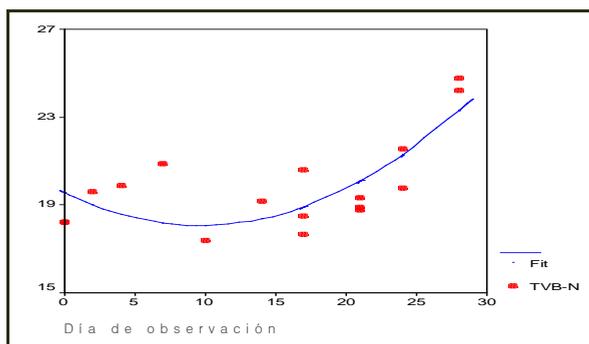


Fig. 17. Evolución del NVBT en lubina (Ampliación del estudio). Observado y tras ajuste cúbico

Los valores de NBVT durante la ampliación del estudio tuvieron unos valores crecientes a partir del día 21 terminando con unos valores máximos de 24.51 mg de NBVT/100 g músculo analizado en el día 28 de almacén en hielo.

4. DISCUSIÓN

4.1 Vida útil y NBVT en dorada

Los resultados de la valoración sensorial mostraron que en el día 18 la dorada fue considerada como no admitida para consumo. Similares resultados obtuvieron González *et al.*, (2000) en dorada cultivada en Canarias, Kyra *et al.*, (1997), en dorada cultivada en Grecia y Alasalvar *et al.*, (2001), en dorada obtenida en el Reino Unido. En

todos los casos observaron un periodo de vida útil de la dorada cultivada y conservada en hielo de 17-19 días.

Los valores químicos de NBVT en el día 18 cuando el pescado fue considerado no admitido, fueron de 29.62 mg de NBVT/100 g de músculo. Los autores que han estudiado este parámetro en dorada establecieron límites desde 25 mg de NBVT como límite químico de aceptabilidad en dorada, como en el caso de González *et al.*, (2000) y Grigorakis *et al.*, (2003a), hasta los 35 mg de NBVT establecido por Kyrana *et al.*, (1997). Alasalvar *et al.*, (2001) no estableció límites respecto a este parámetro. Debemos tener en cuenta que estos autores no utilizaron el método oficial de determinación de NBVT, excepto en el caso de Kyrana, pudiendo existir ciertas variaciones a la baja, como estableció Vyncke en sus estudios comparativos (Vyncke, 1996). En el estudio de Kyrana (Kyrana *et al.*, 1997) no marca un valor concreto, sino que refiere los límites de NBVT habituales en carne de pescado determinados por Huss (Huss, 1995), de 35 mg/100 g de músculo analizado. En el caso del estudio de Grigorakis (Grigorakis *et al.*, 2003a) estudiando las variaciones de los distintos patrones de deterioro según la estación de cosecha y sacrificio de la dorada, los autores consideran el límite de aceptabilidad en el valor de 25 mg de NBVT/100 g de músculo. Sin embargo en el diseño del experimento, solo mantuvieron los animales en hielo durante 15 días frente a los 21 de nuestro experimento.

Por tanto es importante destacar que los resultados varían con respecto de las técnicas utilizadas, en nuestro caso y con el uso de la técnica de referencia parece lógico establecer un límite de aceptabilidad en la dorada de 30 mg de NBVT.

4.1.1 Modelo de crecimiento de NBVT. El mejor ajuste para el crecimiento fue el cúbico. El modelo indicaría que hay crecimiento desde el día 0, el cual va desacelerando hasta detenerse el día 6-7, para crecer a continuación de forma acelerada (la aceleración viene dada por la segunda derivada).

$$NBVT'' = -0.15 + 0.0222 \cdot (día)$$

El crecimiento del NBVT no es lineal. Esto es debido a que en las primeras fases del almacenaje, el NBVT crece a expensas de la TMA que es la mayor responsable del NBVT. Sin embargo, en el pescado deteriorado (alrededor del día 7) el suministro de óxido de Trimetilamina (OTMA) precursor de la TMA, decae. La TMA alcanza su valor máximo y los valores de NBVT siguen incrementándose a partir de la formación de amoníaco (NH_3) y otras aminas volátiles (Huss, 1995).

4.2. Vida útil y NBVT en lubina

Los resultados de la valoración sensorial mostraron que en el día 21 la lubina fue considerada no admitido para consumo. Semejantes resultados obtuvieron Kyrana *et al.*, (2002) para la misma especie cultivada en Grecia, y Bchang *et al.*, (1998) en lubina japonesa (*Lateolabrax japonicus*) que obtuvieron un período de vida útil de 17-19 días. Sólo dos autores han estudiado los límites de NBVT en la lubina, por un lado el estudio de Kyrana (Kyrana *et al.*, 2002), en el que los autores consideran la vida útil en 19 días y los límites de NBVT en 25 mg/100 g de músculo analizado, frente a las conclusiones de Papadopoulos (Papadopoulos *et al.*, 2003) en el que sensorialmente considera en 16 días el máximo de aceptabilidad para esta especie, y no considera valor límite de NBVT, fijándose como referencia el máximo de 30-35 mg considerado por Huss (1995) y Conell (1995).

Estos resultados muestran una cierta discrepancia debido a que, si a tenor del estudio de Kyrana marcamos como límite 25 mg de NBVT/100 g de músculo, en el estudio de Papadopoulos deberíamos rechazar los ejemplares desde el inicio de la experiencia. Como ya comentamos en el caso de la dorada, la técnica de elección para la determinación del NBVT es sensible de producir estas variaciones significativas. Por otro lado, un estudio en el que se compara la lubina salvaje con la cultivada (Alasalvar *et al.*, 2002b) señala una vida útil de 16 días para la cultivada y 18 para la salvaje durante su almacén en hielo, pero usando como metodología indicadores sensoriales y estudios de los nucleótidos en vez de niveles de NBVT.

4.2.1 Modelo de crecimiento de NBVT. La evolución del NBVT en nuestro estudio no presentó ninguna tendencia dentro del rango de los 21 días estudiados. Estadísticamente se intentaron distintos ajustes, pero sin establecerse ninguna significación. Estos hechos, nos llevaron a pensar en problemas asociados a la técnica.

El NBVT determina las bases volátiles producidas durante los fenómenos *post mortem*, por tanto, durante la primera parte del almacén en hielo con el pescado en la condiciones de máxima frescura, tendremos poco o nulo incremento de las bases volátiles, por tanto el NBVT es considerado un indicador del deterioro más que un indicador de frescura. Basándonos en este comportamiento del NBVT, la ampliación de la experiencia hizo hincapié en los últimos días del experimento. Tras la determinación de los valores de NBVT con los nuevos puntos muestrales del día 24 y día 28, se puede observar que existe una evolución de las bases volátiles en la lubina, sin embargo esta evolución ocurre fuera de la vida útil de esta especie determinada desde el punto de vista sensorial entre 18 y 21 días.

Este fenómeno de baja producción de bases volátiles puede ser explicado desde dos puntos de vista, por un lado poca cantidad de precursores del NBVT y por otro, baja tasa de transformación de estos precursores. La TMA es la principal fuente de bases volátiles en las primeras semanas de almacén, hasta la aparición del deterioro (Huss, 1995). En el pescado deteriorado el suministro de OTMA decae, la TMA alcanza sus valores máximos y el incremento del NBVT crecería a expensas de la formación de NH_3 y otras aminos volátiles. En la experiencia de los otros autores sobre la vida útil en la lubina, todos ellos encuentran bajos niveles de trimetilamina (TMA) en la evolución de este pescado mantenido en hielo (Kyra & Lougovois, 2002; Papadopoulos *et al.*, de 2003). Respecto a la baja tasa de transformación, es necesario señalar que es típico de las bacterias del deterioro utilizar el OTMA como aceptor terminal de electrones durante la respiración anaerobia, produciendo así TMA que a su vez se transformara en dimetilamina, monometilamina y amoniaco, componentes fundamentales del NBVT. El OTMA es un componente típico de pescados marinos cuya función parece ser osmorreguladora. El

paso a TMA dependerá como hemos apuntado, de su uso por parte de las bacterias del deterioro como sustrato para su ciclo metabólico.

Kyraná & Lougovois (2002), relacionan estos bajos niveles a la composición de la flora y a los bajos niveles de pH encontrados durante el almacén. El óptimo pH para la actividad de las bacterias reductoras de OTMA a TMA es de 7.2 a 7.4 (Castell & Snow, 1949; Elliot, 1952). En estos casos la producción de TMA sería más activa al final de la vida comestible de estos animales. Por otro lado, Kyraná & Lougovois (2002) consideran que *Pseudomonas spp.*, que parecen ser las bacterias predominante en el almacén de peces de agua templada, no son reductoras de OTMA y por tanto el almacén puede ocurrir con baja o ninguna producción de TMA (Gram *et al.*, 1989, 1990). En el caso del estudio de Papadopoulos *et al.*, (2003) los autores relacionan los bajos niveles de OTMA en la carne de lubina, a la baja proporción de *Shewanella putrefaciens* capaz de la producción de H₂S y la reducción de OTMA (Hebard *et al.*, 1982). Serían necesarios unos niveles de entre 10⁸ y 10⁹ ufc. g⁻¹ de *Shewanella Putrefaciens* para la producción de TMA (Dalgaard *et al.*, 1993). Existe un estudio realizado en lubina que tiene como objeto predecir la vida útil de este alimento teniendo en cuenta la temperatura de conservación y la microflora acompañante (Koutsoumanis *et al.*, 2002). En este trabajo la flora predominante a lo largo del estudio y en las diferentes temperaturas testadas, fue siempre *Pseudomonas spp.*

Al realizar la ampliación de los días de estudio del pescado, es fácil observar que en las primeras fases del deterioro de los peces, cuando el NBVT crece a expensas del OTMA acumulado y que se transformara en TMA, no se aprecia ningún incremento significativo de las bases volátiles. Por otro lado, al final de la vida útil de estos ejemplares cuando el incremento es a partir de la formación de NH₃ y otras aminas volátiles procedentes del deterioro del tejido muscular, se aprecia un incremento gradual y significativo.

Por otro lado, comentar que existen pescados como los de agua dulce, que no contienen OTMA (Gelman *et al.*, 1990), o en los que el deterioro no está producido por flora reductora de OTMA, podemos observar un leve aumento de las bases volátiles totales durante el almacén debida a la desaminación de aminoácidos (Huss, 1995).

5. CONCLUSIONES

El resultado de este estudio indica que la vida útil de la dorada conservada en hielo desde el punto de vista del baremo de clasificación de la frescura del pescado blanco es inferior a los 18 días, y los valores máximos de NBVT son 30 mg/100 g de músculo analizado. En el caso de la lubina cuando el pescado fue considerado inaceptable desde el punto de vista organoléptico (18 días), los valores de NBVT no registran incrementos significativos y por tanto no debe considerarse este parámetro adecuado para determinar la vida útil en esta especie.



CAPÍTULO 5

5. EFECTO DEL TIEMPO Y LA TEMPERATURA EN EL ALMACÉN DE LOS EXTRACTOS PARA DETERMINACIONES DE NBVT.

RESUMEN

El nitrógeno básico volátil total (NBVT) es un parámetro ampliamente usado para determinar frescura en el pescado. El NBVT, así como múltiples determinaciones de la fracción proteica, como las aminas biógenas o el valor K, se mide principalmente sobre extractos musculares en medio ácido. Por tanto, los laboratorios analíticos se beneficiarían conociendo como los métodos para almacenar los extractos afectan a los resultados de NBVT. Para examinar esta materia, se prepararon y almacenaron extractos del músculo de dorada mediante extractos en ácido perclórico. Se analizaron diversas temperaturas (4 °C, -20 °C, y -80 °C) y períodos de almacenaje (de siete a 60 días). Para valorar como diferentes concentraciones de NBVT se verían afectados por los métodos de almacenaje, el estudio aprovechó el hecho de que los valores de NBVT cambian dependiendo del tiempo de almacenaje de la dorada en hielo. Los extractos fueron preparados a partir de pescados mantenidos en el hielo por 0, 2, 4, 6, 8, y 10 días *post mortem*. Tras el análisis estadístico todos los métodos del almacenaje ofrecieron iguales resultados entre ellos. Sin embargo, solamente el extracto mantenido en 4 °C por siete días alcanzó valores estadísticamente iguales a la "lectura inmediata".

Keywords: dorada, NBVT, vida útil, calidad.

Enviado para publicar como: Time and temperature effect on acid extracts storage on NBVT determinations. *Journal of Muscle Foods* (enviado).

Autores: Castro, P.L., Millán, R., Caballero, M.J., Sanjuán, E., Santana, A., Penedo, J.C.

1. INTRODUCCIÓN

La determinación del nitrógeno básico volátil total (NBVT) es probablemente el método químico más antiguo usado para medir frescura de los pescados. Los valores límite de NBVT se han convertido en obligatorios por autoridades oficiales y compañías privadas, especialmente para el pescado que se importa internacionalmente. Desde 1995, el NBVT ha sido el método de referencia de la Comunidad Europea (CEE, 1995) como indicador del deterioro en el pescado, y su uso ha sido confirmado en una reciente reestructuración de la norma (CEE, 2005). Hay varios métodos para la determinación de NBVT. Los más usados incluyen la destilación con el óxido del magnesio (Antonacopoulos, 1968), la extracción con el ácido tricloroacético (Codex Alimentario, 1968), y la extracción con el ácido perclórico (PCA) (CEE, 2005). En todos estos métodos, se titula el destilado y el resultado se convierte en mg de NBVT/100 g de músculo. Los métodos que se basan en la extracción ácida pueden permitir almacenaje antes de la destilación. Este período se puede prolongar, por ejemplo en el caso de fallo de los equipos, de sobrecarga de trabajo, o en períodos largos de muestreo. El almacenaje prolongado también puede ser necesario en trabajos de campo cuando el lugar de muestreo y el laboratorio están en distinto lugar (Gramm *et al.*, 1989).

Se dispone de poca información sobre almacenaje de los extractos, solo las pautas oficiales para el método de la CEE (extracción con PCA) donde dice "el extracto de tal modo obtenido se puede guardar por lo menos siete días en una temperatura entre aproximadamente 2 °C y 6 °C" (CEE, 2005).

El objetivo del presente experimento fue conocer los periodos máximos de almacén de los extractos para la determinación del NBVT con distintos métodos de conservación.

2. CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.1. Material experimental. Se estudiaron dieciocho ejemplares de dorada con un peso medio de 421 ± 11.3 g y una longitud media de 30.1 ± 2.4 cm.

2.2. Dietas experimentales. Las doradas se obtuvieron de la empresa ADSA, donde habían sido sometidos a regímenes nutricionales estándar de las granjas comerciales.

2.3. Preparación de las muestras y puntos muestrales. Tras el sacrificio, los peces se almacenaron en hielo. Los puntos muestrales del experimento fueron los días 0, 2, 4, 6, 8, y 10. Se estudiaron 3 ejemplares por cada uno de los 6 puntos muestrales.

Se realizó un extracto con el músculo procedente de las tres doradas de cada punto. El extracto obtenido fue filtrado, y alícuotas de 50 ml fueron dispuestas en 25 envases (botellas del polietileno, Kartell, Milano, Italia). Cinco de estas alícuotas fueron destiladas inmediatamente y las otras fueron almacenadas. Cinco condiciones de procesamiento del extracto fueron probadas: determinación inmediata (método 1), una semana a 4 °C (método 2), 60 días a 4 °C (método 3), 60 días a -20 °C (método 4), y 60 días a -80 °C (método 5). Los análisis fueron realizados por quintuplicado.

A lo largo del presente experimento "**días en hielo**" se refieren al almacenaje de pescados enteros, mientras que el "**método del almacenaje**" se refiere al almacenaje de los extractos del músculo de pescado.

2.4. Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS v. 14.0. Los datos fueron estudiados mediante el análisis de la varianza de dos vías (ANOVA), con el número de los días en hielo antes del de la determinación y el método de almacenaje como factores principales. La significación estadística fue definida como un p-valor de ANOVA igual a o menos de 0.05. Los resultados de la significación fueron analizados más a fondo por comparaciones *post hoc* de Scheffe para buscar diferencias entre los grupos. Las asunciones subyacentes el uso de ANOVA fueron probadas: la

normalidad residual fue evaluada por la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y el homoscedasticidad fue evaluada usando la prueba de Levene.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de NBVT de la dorada entera almacenada en hielo, procesada inmediatamente y después de los diversos métodos de conservación de los extractos probados, se pueden observar en la Tabla XII.

Tabla XII. Valores de NBVT (mg NBVT/100g músculo) durante el almacén en hielo y tras los métodos de almacén. Datos expresados como medias \pm SD. n=5

Método de Almacenaje	Días en hielo					
	0	2	4	6	8	10
Método 1 0 días/ 4 °C	22,74 \pm 0,24	21,97 \pm 0.35	20,91 \pm 0.81	18,37 \pm 1.13	16,88 \pm 1.54	15,56 \pm 0.29
Método 2 7 días/ 4 °C	22,54 \pm 0,99	21,45 \pm 0.35	20,15 \pm 0.30	18,04 \pm 0.56	16,55 \pm 1.33	15,91 \pm 0.96
Método 3 60 días/4 °C	21,98 \pm 0.91	21,53 \pm 0.43	19,75 \pm 0.33	17,45 \pm 0.97	15,82 \pm 0.61	14,92 \pm 1.56
Método 4 60 días/-20 °C	22,79 \pm 0.67	20,78 \pm 0.86	20,16 \pm 0.17	17,77 \pm 1.17	15,43 \pm 0.66	14,08 \pm 0.87
Método 5 60 días/-80 °C	22,22 \pm 0.61	21,21 \pm 0.46	20,17 \pm 0.51	17,35 \pm 0.45	16,04 \pm 1.03	14,19 \pm 1.17

El patrón seguido por los niveles de NBVT observados en el curso de los 10 días de almacén de los pescados en hielo, corresponde la fase que precede a un incremento progresivo del NBVT, causada principalmente por el descarboxilación bacteriana del músculo del pescado (Fig. 18).

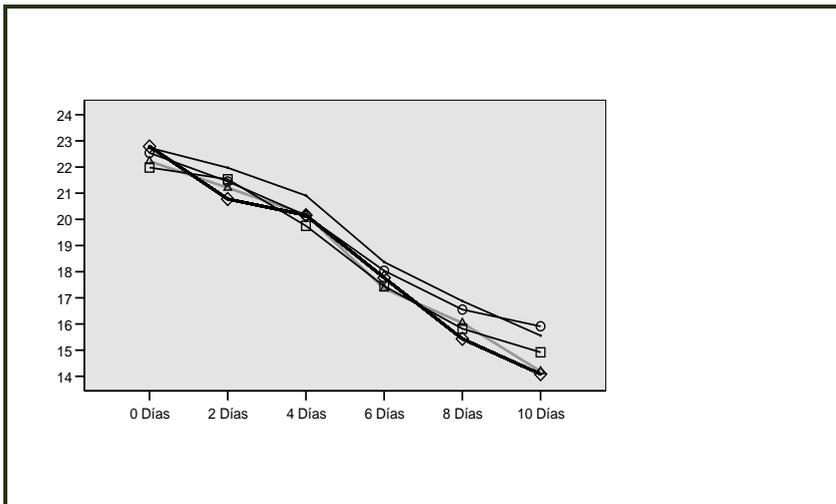


Fig. 18. Cambios en el NBVT cada método testado. Línea sólida: Lectura inmediata, Línea sólida- Δ): 7 días a 4 °C, Línea sólida ζ): 60 días a 4 °C, línea discontinua (Δ): 60 días at -20 °C y línea discontinua (\diamond): 60 días a -80 °C

La ANOVA no reveló ninguna interacción significativa entre el número de días en hielo, antes de la determinación, y el método del almacenaje del extracto en los valores de NBVT determinados ($P=0.768$). Sin embargo analizando estos factores por separado, sí se muestran efectos significativos ($P=0.0001$). Lo supuesto por ANOVA es válido para estos datos ya que el test de Levene da un p-valor de 0.05 que nos permite aceptar la hipótesis homoscedástica. La normalidad de los datos es confirmada por el test de Kolmogorov-Smirnov ($P=0.213$).

Comparando los valores medios de NBVT para cada método de almacenaje testado, se muestra que la lectura inmediata (método 1) da, en general, valores algo más altos. Esto puede ser observado gráficamente en la Figura 18, donde cada uno de los métodos testados es trazado contra el número de días en hielo. Los análisis *post hoc* de Scheffe confirman que los métodos 3, 4 y 5 no muestran diferencias significativas entre ellos ($p\text{-values}>0.47$). En contraste, el método 1 produce un valor medio de NBVT perceptiblemente más alto que en los métodos 3, 4 y 5 ($P=0.008$). El método 2 no puede ser distinguido estadísticamente de los métodos 3, 4 y 5 ($P>0.23$) o el método 1 ($P=0.355$).

Este resultado es consistente con lo mencionado en el método oficial, que indica que el extracto se puede guardar por lo menos siete días en una temperatura entre aproximadamente 2° C y 6° C. Así, el método 2 se puede considerar un método intermedio entre la determinación de los extractos frescos y la determinación de los extractos almacenados. La ausencia de diferencias significativas entre métodos 2-5 significa que, por los períodos de almacenaje igual o más de largo que una semana en 4 °C, los resultados de NBVT serán iguales, sin importar el método del almacenaje del extracto. Además, usar una técnica de congelación para almacenar los extractos, el uso de temperaturas más bajas (-80° C en vez de -20° C) parece innecesario.

Tabla XIII. Múltiples comparaciones de los métodos testados. (*) Las diferencias son significativas al nivel 0.05

Método Conservación	Método Conservación	Diferencias medias	Error Standard	p-valor
Método 1 Lectura inmediata	Método 2 7 días a 4 °C	0.48	0.22	0.35
	Método 3 60 días a 4 °C	0.88 (*)	0.23	0.008
	Método 4 60 días a -20 °C	1.04 (*)	0.23	0.001
	Método 5 60 días a -80 °C	0.92 (*)	0.23	0.005
	Método 3 60 días a 4 °C	0.40	0.23	0.56
Método 2 7 días a 4 °C	Método 4 60 días a -20 °C	0.56	0.23	0.23
	Método 5 60 días a -80 °C	0.43	0.23	0.47
	Método 4 60 días a -20 °C	0.16	0.23	0.97
Método 3 60 días a 4 °C	Método 5 60 días a -80 °C	0.03	0.23	1.00
	Método 5 60 días a -80 °C	-0.12	0.23	0.99

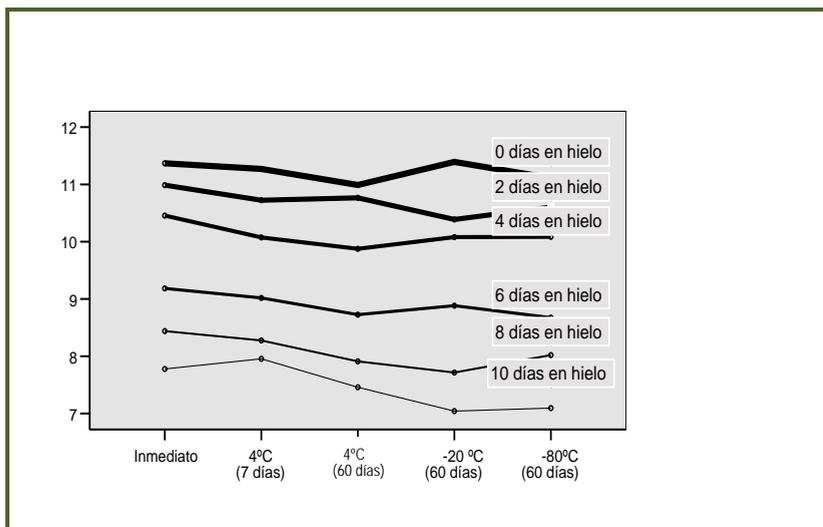


Fig. 19: Cambios en NBVT cada día de almacén (ml de HCl)

En la Figura 2 los valores de NBVT obtenidos con cada uno de los métodos se muestran en función de los días en hielo. Si cada uno de los métodos de almacén de los extractos mostrara los mismos valores de NBVT independientemente de los días en hielo, las líneas que representan cada uno de los métodos se mostrarían horizontales. Todas las líneas muestran una separación neta y varían en función de cada uno de los días de almacén en hielo. Los valores medios de NBVT oscilaron entre 22.45 mg/100 g (día 0) y 14.96 mg/100 g tras 10 días de almacén en el hielo (Tabla XII). Las regulaciones de la CEE establecen que el método aplicado es válido si la diferencia entre los duplicados no excede 2 mg/100 g. Atendiendo a este criterio, todos los métodos del almacenaje dieron los mismos valores (Tabla XII).

5. CONCLUSIONES

No hubo diferencias significativas entre las mediciones de NBVT realizadas inmediatamente y mediciones a partir de extractos almacenados a 4 °C durante siete días. Períodos de almacenamiento del extracto a 4 °C superiores a 7 días dieron estadísticamente iguales valores de NBVT. Además, la congelación de los extractos a -20°/-80° C con diferentes concentraciones de NBVT no modificaron estos valores.



CAPÍTULO 6

6. INCLUSIÓN DEL ACEITE DE LINO EN LAS DIETAS DE DORADA. EFECTO EN COMPOSICIÓN PROXIMAL Y ÁCIDOS GRASOS DEL FILETE DURANTE LA VIDA ÚTIL.

RESUMEN

Se evaluó el impacto en la composición proximal y en el perfil de ácidos grasos del filete de dorada producido por la sustitución parcial y completa en la dieta del aceite de pescado (AP) por el aceite de lino (AL) durante 17 días de almacenaje en hielo. Las dietas experimentales fueron las siguientes: 100% AP (AP), 70% AL+30% AP (70AL) y 100% AL (100AL). A los 0 días de almacenaje en hielo, no se determinaron diferencias significativas en la composición proximal entre los distintos grupos experimentales. En cuanto al perfil de ácidos grasos del filete de dorada alimentada con la dieta conteniendo AP mostró altas proporciones de ácidos grasos saturados y de insaturados preferentemente ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosahexanoico (DHA). En los filetes de dorada alimentados con dietas conteniendo 70AL y 100AL aumentó principalmente el contenido del 18:3 n -3, y el de ácidos grasos n -3 poliinsaturados (PUFA). A lo largo del almacenaje en hielo no se encontraron pérdidas significativas en las proporciones de ningún ácido graso para ningún grupo experimental. Los filetes de doradas de las dietas AL mantuvieron los niveles más altos del 18:3 n -3, y además presentaron una proporción n -3/ n -6 cercana a la de los filetes de las doradas de la dieta 100AP.

Keywords: aceite de lino, dorada, vida útil, ácidos grasos, calidad.

Publicado como: Linseed oil inclusion in sea bream diets: Effect on fatty acid composition during ice storage. *European Journal of Lipids Food Science and Technology*. (en prensa), DOI: 10.1002/ejlt.200900240. **Autores:** Castro, P.L., Caballero, M.J., Millán, R., Ginés, R., Montero, D., Izquierdo, M.

1. INTRODUCCIÓN

Muchos de los estudios sobre alimentación potencialmente beneficiosa para el ser humano apuntan al pescado y particularmente al pescado de acuicultura como una fuente alimentaria nutritiva y saludable. La composición bioquímica del filete de pescado es uno de los factores que más influye en su calidad. En este sentido, es bien conocido que el tipo de aceite incluido en las dietas de pescado procedente de la acuicultura determina su composición en ácidos grasos (Sargent *et al.*, 2002) y, consecuentemente la calidad del producto final.

Debido a su tradicional buena disponibilidad, digestibilidad y alto contenido en ácidos grasos del grupo *n*-3 altamente insaturados ≥ 20 carbonos (HUFA), el aceite de pescado (AP) ha sido la principal fuente de aceite para dietas en acuicultura. Sin embargo, la demanda de este producto ha crecido significativamente en los últimos años, mientras que, su producción ha permanecido estable. Por esta razón, se han desarrollado numerosos estudios en busca de fuentes alternativas al aceite de pescado como pueden ser el aceite de soja, colza o lino (AL).

Por ejemplo, alimentando con diferentes proporciones de aceite de lino, una conocida fuente de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) *n*-3 concretamente de 18:3 *n*-3, el perfil de ácidos grasos parece ser más similar al obtenido con el aceite de pescado que con el uso de otros aceites vegetales (Izquierdo *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2005; Menoyo *et al.*, 2004). Mantener, e incluso, incrementar la proporción de los ácidos grasos del tipo *n*-3 tiene un interés nutricional y económico, ya que los beneficios del consumo de pescado han sido atribuidos a los efectos de los *n*-3 PUFA que son considerados como potencialmente cardio-protectores y con acción anti-trombogénica (Din *et al.*, 2004). Estos beneficios del pescado deben ser conservados a lo largo de la vida útil del producto (Huss, 1995).

La actual investigación sobre sustitución de fuente lipídica ha mostrado, hasta ahora, efectos en el crecimiento y en aprovechamiento de estos piensos (Caballero *et al.*, 2002, Izquierdo *et al.*, 2005), bienestar y efecto sobre la resistencia a las enfermedades y

al estrés (Montero *et al.*, 2005, 2008). Especial interés han tenido los estudios sobre el efecto en la modificación del perfil de ácidos grasos (Izquierdo *et al.*, 2003, 2005). Sin embargo ningún estudio se ocupado del efecto de esta sustitución en la vida útil del pescado, como producto perecedero, a pesar de su significado comercial.

Por todo esto, el objetivo del presente estudio ha sido evaluar el uso del aceite de lino como fuente lipídica alternativa sobre la calidad proximal y la composición de ácidos grasos del filete de la dorada a lo largo de la vida útil.

2. CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.1. Material experimental

Ejemplares juveniles de dorada con un peso corporal inicial de 40 g suministrados por una granja local (ADSA S.A. Gran Canaria) fueron distribuidos aleatoriamente en tanques de fibra de vidrio de 1000 l (50 peces/tanque) en las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas (Islas Canarias, España). En todos los tanques hubo un flujo continuo de agua de mar, con aireación constante y fotoperiodo natural. A lo largo del periodo de engorde la temperatura y el oxígeno disuelto del agua osciló entre 21.8-22.4 °C y 5.5-7.2 ppm, respectivamente.

2.2. Dietas experimentales

Dos dietas isonitrogenadas (contenido proteínico del 45%) y isoenergéticas con un contenido lipídico del 22%, fueron elaboradas por BioMar Iberia (Dueñas, España). Estas dietas se formularon con un nivel de sustitución parcial (dieta 70AL) y completo (dieta 100AL) del aceite de pescado (anchoa peruana) por aceite de lino. Además, una dieta conteniendo exclusivamente aceite de pescado al 100% se utilizó como dieta control (dieta AP). Los peces fueron alimentados hasta la saciedad tres veces al día, 6 días a la semana durante 330 días. Las dietas fueron proporcionadas a grupos de animales por duplicado.

2.3. Preparación de las muestras y puntos muestrales

Después de 330 días de alimentación con las dietas experimentales, un total de 126 doradas (21 por tanque, 42 por dieta) con un peso y talla final de 506.9 ± 12.8 g y 30.2 ± 0.2 cm (AP), 496.0 ± 11.2 y 29.8 ± 0.3 cm (70AL) y 501.1 ± 12.5 g y 30.1 ± 0.3 cm (100AL) se sacrificaron en tanques de 100 litros con una proporción agua:hielo de 1:1 (v/v). Posteriormente, fueron empaquetados y mantenidas en cajas de poliuretano expandido provistas de agujeros para drenaje, con hielo en escamas durante 17 días *post mortem* reponiendo según necesidad y mantenidas a 4 °C. Los días 0, 2, 4, 7, 10, 14 y 17 de almacenaje, seis pescados por cada dieta, elegidos aleatoriamente, fueron extraídos del hielo y fileteados. Los filetes fueron sometidos individualmente a las determinaciones analíticas conducidas por triplicado.

La metodología de estas determinaciones es explicada en el capítulo 2 (Material y Métodos) de la presente tesis.

2.4. Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza de dos vías ANOVA. Cuando los efectos principales fueron significativamente diferentes se analizaron los resultados con test múltiple de Scheffe a un nivel de $P < 0.01$ utilizando el software estadístico SPSS 14,0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). Se aplicó la regresión entre el tiempo en el hielo y cada uno de los parámetro analizados. Las diferencias se consideraron significativas a nivel de $P < 0.05$ y $P < 0.01$ (Sokal & Rohlf, 1995).

3. RESULTADOS

3.1 Crecimiento

Como era de esperar y se ha descrito anteriormente para esta especie, la sustitución total de aceite de pescado por aceite de lino redujo significativamente ($P < 0.05$) el crecimiento de la doradas al final del período cuando se compara con los peces

alimentados con dieta AP o sustitución parcial de aceite de pescado por aceite de lino (dieta 70AL).

3.2 Composición proximal y ácidos grasos de las dietas experimentales

La composición proximal de las dietas fue similar entre las distintas dietas experimentales (Tabla XIV). En cuanto al perfil de ácidos grasos de las dietas, el reemplazo del AP por 70% y 100% de AL redujo el contenido en ácidos grasos saturados (SFA) y monoinsaturados (MUFA), aumentó el contenido de *n*-3 y de *n*-6 PUFA (Tabla XV), y disminuyó el contenido en *n*-3 HUFA. El porcentaje del ácido linolénico (18:3*n*-3) fue más alto en las dietas 70AL (31.51%) y 100AL (34.60%) que en la dieta AP (1.48%). De igual manera, el porcentaje del ácido linoleico (18:2*n*-6) varió desde 3.00% (AP) hasta 11.87% (70AL) y 16.31% (100AL). La dieta AP presentó el contenido más alto del ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido docosapentanoico (DHA) (7.58% y 5.32% respectivamente).

3.3. Composición del filete de dorada

3.3.1. Al día de sacrificio (día 0 de almacenamiento en hielo)

3.3.1.1. Composición proximal. En el día 0 de almacén en hielo, el contenido proteico del filete de las doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales fue de aproximadamente el 22% (Tabla XIV). Los valores máximos fueron encontrados en el filete de la dorada alimentada con la dieta 70AL (22.47%) pero sin diferencias significativas. El contenido lipídico total (Tabla XIV) en el filete de las doradas alimentadas con las dietas AL oscilo desde un 3.94% (100AL) a un 4.42% (70AL), y de un 4.32% para las doradas alimentadas con la dieta AP. La humedad en el filete de dorada (Tabla XIV) osciló de un 72.77% para los peces de la dieta 70AL, a un 73.49% para los de la 100AL. El contenido en ceniza fue similar entre grupos experimentales, oscilando entre 1.76-1.79% (Tabla XIV).

Tabla XIV. Composición proximal de las dietas y del filete al día 0 en hielo
Datos expresados como valores medios. n=6

Composición Proximal	AP		70AL		100AL	
	Dieta	Filete	Dieta	Filete	Dieta	Filete
Proteína	45.64	21.96	45.47	22.47	45.64	22.05
Lípidos Totales	20.23	4.32	21.69	4.42	21.92	3.94
Humedad	6.70	72.88	6.28	72.77	7.28	73.49
Cenizas	9.91	1.79	9.86	1.79	9.86	1.76

3.3.1.2. Perfil de ácidos grasos. En el día de sacrificio, el contenido de SFA fue menor en los filetes de doradas alimentadas con dietas AP (Tabla XV), comparándolo con el contenido en la dieta. Por el contrario, con dietas AL, mostraron niveles de SFA similares a lo determinado en las dietas (Tabla XV). El contenido de los SFA totales fue menor en los filetes de las doradas alimentadas con AL (25.59% y 21.48%; 70AL y 100AL respectivamente), en comparación con la dieta AP (35.69%) ($P<0.05$) principalmente observándose una reducción en el ácido mirístico (14:0) y ácido esteárico (16:0) (Tabla XV). El contenido de MUFA en los filetes fue mayor que lo determinado en las dietas (Tabla XV). Además, los niveles de los MUFA de los filetes de los doradas alimentadas con las dietas AL (alrededor de un 25%) fue significativamente más bajo ($P<0.05$) que lo determinado en los filetes de los peces alimentados con la dieta AP (cerca de 30%, Tabla XV). Un aumento de ácido oleico (18:1n-9) fue encontrado en los filetes de doradas alimentadas con las dietas AP y 70AL con respecto a su inclusión en la dieta. Este ácido graso estuvo presente en mayor cantidad en los filetes de doradas alimentadas con dietas AL (15.99% 70AL y 18.25% 100AL) que en comparación con la dieta AP (12.28%, Tabla XV).

La relación encontrada entre el contenido de ácidos grasos del grupo $n-6$ del filete y el de las dietas experimentales indicó que la cantidad de 18:2n-6 en el filete estuvo relacionada con la concentración aportada por la dieta. Así, 18:2n-6 fue más alto ($P<0.05$) en los peces alimentados con dietas AL (alrededor de un 11% con 70AL, alrededor de un 14% con 100AL) que con dietas AP (alrededor de un 4%). Similares resultados fueron

encontrados en el 18:3 n -3, que fue el ácido graso que más se incrementó con la inclusión del aceite de lino, desde un 1.41% (AP) a 20.50% (70AL) y a 26.52% (100AL). No obstante, los niveles de 18:3 n -3 en el filete fueron inferiores a lo determinado en las correspondientes dietas a base de AL.

La concentración de ácido araquidónico (ARA) fue mayor en todos los filetes que lo determinado en las dietas experimentales. Los valores de ARA en los peces alimentados con las dietas AL (0.70%, 70AL y 0.28%, 100AL) fue menor ($P<0.05$) que lo determinado para aquellas de la dieta AP (1.14%).

Comparando con lo proporcionado por las dietas, el valor de EPA, fue similar a lo determinado en las dietas excepto en los lípidos de los filetes de pescados alimentados con la dieta 100AL que pudo acumular dos veces más EPA en el filete que lo proporcionado en la dieta. Las proporciones de EPA en el filete de las doradas alimentadas con la dieta AP (6.67%) fueron significativamente más altas ($P<0.05$) que lo determinado en las doradas alimentadas con las dietas AL (2-3%, Tabla XVII). El contenido de DHA en el filete fue mayor que lo observado en las dietas. En los peces alimentados con las dietas AL, la proporción de DHA fue significativamente reducida ($P<0.05$) (alrededor de un 5-6.7%) comparado con lo determinado en el filete de doradas alimentadas con la dieta AP (10.52%). En general, el contenido de n -3 HUFA fue más alto en los filetes que lo determinado en las dietas. Los mayores niveles se alcanzaron en los filetes de las doradas alimentadas con la dieta AP (20.84%), comparando con las dietas basadas en AL (11.45% 70AL y 100AL 8.38%).

El ratio n -3/ n -6 calculado a partir del contenido de los ácidos grasos determinados en el filete, fue similar a los valores obtenidos a partir de las dietas experimentales (Tabla XV). El ratio n -3/ n -6 disminuyó en los grupos alimentados con las dietas AL en comparación con el obtenido a partir de los lípidos de los filetes de las doradas alimentadas a partir de AP ($P<0.05$). Los valores observados para este ratio en los peces alimentados la dieta AL fue de 2.86% y de 2.35% alimentando con las dietas 70AL y 100AL respectivamente (3.78% con AP).

Tabla XV. Perfil de ácidos grasos (%) de las dietas y del filete al día 0 en hielo
Diferentes superíndices (a-c) en cada fila denotan diferencias significativas ($P < 0.05$)
Datos expresados como valores medios. nd: no determinado. n=6

Ácidos grasos	AP		70AL		100AL	
	Dieta	Filete	Dieta	Filete	Dieta	Filete
14:0	10.51	7.01 ^c	3.51	3.40 ^b	1.71	2.27 ^a
15:0	0.81	0.84 ^b	0.36	0.54 ^{ab}	0.23	0.17 ^a
16:0	24.81	22.04 ^b	13.28	15.74 ^a	11.84	13.82 ^a
17:0	1.00	1.29 ^b	0.44	0.67 ^{ab}	0.34	0.13 ^a
18:0	4.34	4.70	4.34	5.27	5.22	4.66
20:0	2.43	0.11	1.90	0.09	2.01	0.10
∑ Saturados (SFA)	43.91	35.69 ^c	23.71	25.59 ^b	21.21	21.48 ^a
16:1 _{n-7}	0.14	11.60 ^c	0.05	5.00 ^b	0.00	3.20 ^a
16:1 _{n-5}	12.15	0.11	4.28	0.06	2.00	0.04
18:1 _{n-9}	9.17	12.28 ^a	14.13	15.99 ^b	18.41	18.25 ^c
18:1 _{n-7}	3.43	3.73 ^b	1.84	2.06 ^a	1.52	1.86 ^a
20:1 _{n-9}	0.35	0.69	0.10	1.17	0.10	1.15
22:1 _{n-11}	1.66	0.41	1.50	0.51	1.64	0.52
∑ Monoinsaturados (MUFA)	27.11	30.27 ^b	22.53	25.14 ^a	23.90	25.33 ^a
16:2 _{n-4}	1.92	0.66	0.76	0.30	0.33	0.17
16:3 _{n-4}	1.86	1.15 ^b	0.77	0.44 ^a	0.32	0.17 ^a
16:3 _{n-3}	0.23	1.08 ^b	0.13	0.54 ^{ab}	0.11	0.03 ^a
18:2 _{n-6}	3.00	3.87 ^a	11.87	10.86 ^b	16.31	13.95 ^c
18:2 _{n-4}	0.42	0.17	0.11	0.08	0.01	0.05
18:3 _{n-6}	0.42	0.16	0.12	0.09	nd	0.10
18:3 _{n-4}	0.45	0.75 ^b	0.15	0.11 ^a	0.02	0.04 ^a
18:3 _{n-3}	1.48	1.41 ^a	31.51	20.50 ^b	34.60	26.52 ^c
18:4 _{n-3}	1.53	1.04 ^a	0.70	0.61 ^b	0.26	0.23 ^b
20:2 _{n-6}	0.27	0.06	nd	0.04	0.14	0.04
20:4 _{n-6} (ARA)	0.92	1.14 ^b	0.41	0.70 ^b	0.13	0.28 ^a
20:4 _{n-3}	0.84	0.76 ^b	nd	0.60 ^{ab}	0.12	0.20 ^a
20:5 _{n-3} (EPA)	7.58	6.67 ^c	3.52	3.11 ^b	1.01	1.98 ^a
22:4 _{n-6}	0.31	0.22	nd	0.13	0.00	0.09
22:5 _{n-3}	1.35	2.89 ^c	0.66	1.39 ^b	0.11	0.95 ^a
22:6 _{n-3} (DHA)	5.32	10.52 ^b	3.57	6.70 ^a	1.20	5.25 ^a
∑ n-3 Polinsaturados	18.54	24.49 ^a	40.11	33.04 ^b	37.31	35.42 ^b
∑ n-6 Polinsaturados	5.12	6.66 ^a	12.53	12.11 ^b	16.65	14.99 ^c
∑ n-3 HUFA	14.91	20.84 ^b	7.68	11.45 ^a	2.34	8.38 ^a
n-3/n-6	3.62	3.78 ^b	3.22	2.86 ^a	2.24	2.35 ^a

3.3.2. A lo largo de la vida útil (17 días de almacenamiento en hielo)

3.3.2.1. Composición proximal. En la Tabla XVI se muestran los resultados de la composición proximal del filete de dorada durante el periodo de almacenaje en hielo (día 0, 2, 4, 7, 10, 14, 17) para los diversos grupos experimentales. Como fue mencionado para el día 0 en hielo, no se encontró ningún efecto de la dieta sobre el contenido proteico durante el almacenaje en hielo dentro de ningún grupo. El contenido graso del filete mostró el siguiente patrón a lo largo del periodo de almacenaje junto con el período de almacenaje. Así, los valores iniciales de grasa total fueron de 4% de peso húmedo, experimentando un aumento durante los primeros días de almacenaje del hielo y posteriormente disminuyendo hacia el final del período del almacenaje en hielo, siendo determinados los valores mínimos en el décimo día en hielo (3.5-3.7). A pesar de estos valores durante el almacenaje, las variaciones solo fueron significativas para los filetes de las doradas alimentadas con la dieta 100AL (Tabla XVI). Los valores de la humedad en los filetes disminuyeron desde valores iniciales alrededor de 72.8% (73.5% con 100AL) hasta el décimo día en hielo donde registraron un máximo de alrededor 74.8%. A partir de este momento, los valores disminuyeron (alrededor 73.3% para todas las dietas experimentales) hasta el 17 día de almacenaje en hielo. Se encontraron correlaciones entre humedad y contenido en grasa siendo de -0.91 para la dieta AP, -0.91 (70AL) y -0.79 (100AL) ($P>0.01$). A lo largo de almacenaje del hielo, el contenido en cenizas decreció, de modo que, los valores más bajos fueron encontrados en el día 17 en el hielo (1.05%- 1.15%).

Tabla XVI. Composición proximal (w/w) en el filete de dorada alimentada con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenamiento en hielo (0-17 días)

Diferentes superíndices (a-c) en cada columna denotan diferencias significativas ($P<0.05$)

Datos expresados como valores medios \pm SD. n=6

Días en hielo	Proteína			Lípidos Total		
	AP	70AL	100AL	AP	70AL	100AL
0	21.96 \pm 0.98	22.47 \pm 1.02	22.05 \pm 0.83	4.32 \pm 1.65	4.42 \pm 2.19	3.94 \pm 0.67 ^{ab}
2	21.63 \pm 0.44	20.76 \pm 1.10	21.01 \pm 0.32	5.18 \pm 1.46	5.36 \pm 1.81	6.53 \pm 1.06 ^b
4	21.23 \pm 1.09	21.46 \pm 0.99	21.02 \pm 0.54	5.59 \pm 0.83	5.82 \pm 1.31	6.09 \pm 1.40 ^{ab}
7	21.54 \pm 0.48	21.19 \pm 0.47	21.12 \pm 0.46	6.09 \pm 3.76	6.13 \pm 2.27	5.81 \pm 1.91 ^{ab}
10	21.75 \pm 1.17	21.37 \pm 0.63	21.42 \pm 1.13	3.54 \pm 0.88	3.93 \pm 1.63	3.72 \pm 1.46 ^a
14	21.37 \pm 1.03	21.20 \pm 1.52	21.50 \pm 1.01	4.57 \pm 1.09	4.08 \pm 0.94	4.64 \pm 1.63 ^{ab}
17	21.81 \pm 0.62	21.58 \pm 1.16	20.77 \pm 1.43	5.28 \pm 1.06	4.65 \pm 0.89	4.67 \pm 1.67 ^{ab}
Días en hielo	Humedad			Cenizas		
	AP	70AL	100AL	AP	70AL	100AL
0	72.88 \pm 1.81	72.77 \pm 2.13	73.49 \pm 1.01 ^{abc}	1.79 \pm 0.17 ^c	1.79 \pm 0.11 ^d	1.76 \pm 0.13 ^c
2	71.96 \pm 1.55	71.90 \pm 2.25	71.57 \pm 1.52 ^{ab}	1.70 \pm 0.15 ^c	1.56 \pm 0.17 ^c	1.58 \pm 0.01 ^{bc}
4	71.59 \pm 0.83	71.40 \pm 1.12	70.98 \pm 1.43 ^a	1.47 \pm 0.13 ^b	1.41 \pm 0.12 ^{bc}	1.54 \pm 0.06 ^{bc}
7	71.80 \pm 4.58	72.14 \pm 3.07	72.63 \pm 2.77 ^{abc}	1.29 \pm 0.09 ^b	1.33 \pm 0.02 ^{ab}	1.39 \pm 0.14 ^{ab}
10	74.78 \pm 1.62	74.83 \pm 2.20	74.92 \pm 1.39 ^c	1.33 \pm 0.10 ^b	1.34 \pm 0.07 ^{ab}	1.31 \pm 0.14 ^{ab}
14	73.98 \pm 0.66	74.66 \pm 1.03	73.55 \pm 1.49 ^{abc}	1.35 \pm 0.10 ^b	1.32 \pm 0.09 ^{ab}	1.32 \pm 0.09 ^{ab}
17	73.33 \pm 1.61	73.35 \pm 1.05	74.33 \pm 1.92 ^{bc}	1.05 \pm 0.09 ^a	1.15 \pm 0.11 ^a	1.13 \pm 0.10 ^a

3.3.2.2. Perfil de ácidos grasos. En relación con la composición de ácidos grasos (Tabla XVII y Tabla XVII continuación), las diferencias de SFA encontradas en el día 0 de almacén en hielo con todas las dietas experimentales fue mantenida durante los 17 días en hielo. La evolución de SFA totales a lo largo de la vida útil produjo una reducción en su contenido comparado con lo determinado en el día 0 en hielo (Tabla XVII). Sin embargo, una correlación significativa negativa con el tiempo en hielo, fue encontrada solamente en el filete de la dorada alimentada la dieta AP ($r = -0.35$, $P < 0.05$). Las diferencias del efecto de las dietas en el día 0 encontradas en ácidos grasos saturados, como por ejemplo el 14:0 y 16:0, fueron mantenidas durante la vida útil (Tabla XVII).

Además no fue detectado ningún efecto del tiempo en hielo respecto a los SFA independientemente de la dieta testada. Similares resultados fueron encontrados en 18:1n-9 y en MUFA, manteniendo durante el tiempo de vida útil el efecto de las dietas en el día 0.

En el filete, las diferencias con 18:2n-6 y el 18:3n-3 relacionadas con las dietas fueron mantenidas durante el almacenaje del hielo. Además, por extensión, no se observó ninguna variación significativa durante la vida útil (Tabla XVII) de las proporciones de n-3 PUFA y n-6 PUFA (Tabla XVII continuación). La proporción n-3/n-6 calculada a partir del contenido de los lípidos determinados de los filetes de las doradas alimentadas con las dietas experimentales no produjeron ninguna diferencia con los resultados encontrados en el día 0 en hielo.

Las diferencias determinadas en los tres principales HUFAs: ARA, EPA y DHA en el día 0 fueron mantenidas a través del tiempo de almacenaje (Tabla XVII continuación). Solamente el contenido de EPA en el filete de doradas alimentadas con la dieta a base de AP mostró variaciones durante el almacenaje del hielo (Tabla XVII continuación). Además, ARA ($r = 0.482$; $P < 0.01$), EPA ($r = 0.350$; $P < 0.05$) y DHA ($r = 0.438$; $P < 0.01$) mostraron una correlación positiva significativa con tiempo en hielo en los lípidos del filete de las doradas alimentadas la dieta 100AL.

Esta misma correlación fue encontrada en EPA alimentando los pescados con las dietas AP ($r = 0.394$; $P < 0.01$), y en DHA ($r = 0.324$; $P < 0.05$) en el filete de los pescados alimentados con la dieta 70AL.

Tabla XVII. Evolución de los principales ácidos grasos (%) en el filete de dorada durante la vida útil (0-17 días de almacenamiento en hielo)
 Datos expresados como valores medios±SD. n=6

	14:0	18:0	SFA	MUFA	18:1n-9	18:3n-3	18:2n-6	
AP	0	7.01±0.64	4.70±0.65	35.69±2.22	30.27±2.75	12.28±0.96	1.41±0.48	3.87±0.17
	2	6.58±0.91	4.06±0.64	32.67±1.33	28.56±0.61	11.84±0.25	1.63±0.42	4.11±0.48
	4	6.70±1.55	4.15±0.51	32.04±4.68	28.99±3.91	12.71±1.50	1.64±7.78	5.55±2.50
	7	6.51±0.46	3.90±0.86	31.71±1.39	28.48±2.14	11.78±0.81	1.59±0.45	3.82±0.23
	10	7.06±0.48	3.96±1.10	32.38±3.51	31.17±1.35	13.01±0.65	1.59±0.46	3.93±0.23
	14	6.83±0.63	3.99±0.16	32.05±2.37	28.63±2.91	11.78±1.09	1.73±0.38	4.12±0.21
	17	7.16±0.34	3.85±0.42	30.69±2.12	29.58±1.77	11.82±0.72	1.71±0.32	4.14±0.22
70 AL	0	3.40±0.40	5.27±1.02	25.59±1.80	25.14±1.98	15.99±1.64	20.50±1.32	10.86±0.48
	2	3.48±0.42	4.72±1.03	24.37±3.97	25.11±1.45	15.88±1.16	22.39±1.86	10.81±0.53
	4	3.31±0.50	4.45±0.54	23.05±3.08	25.74±2.12	16.97±1.35	22.21±3.96	11.99±1.10
	7	3.24±0.44	4.39±0.43	23.51±1.46	25.08±1.23	16.31±1.16	21.61±3.67	10.88±0.50
	10	3.35±0.40	4.74±0.82	24.29±2.31	26.18±2.78	16.57±1.67	20.98±3.75	11.31±0.53
	14	3.15±0.14	4.45±0.41	23.38±0.52	24.61±1.51	15.58±1.10	22.06±1.11	11.21±0.26
	17	3.28±0.23	4.50±0.46	23.58±1.50	25.06±1.95	15.94±1.05	22.30±1.22	10.93±0.55
100 AL	0	2.27±0.24	4.66±0.41	21.48±1.49	25.33±1.47	18.25±1.11	26.52±2.97	13.95±0.30
	2	2.17±0.31	4.67±0.74	21.90±4.11	24.37±1.49	17.81±0.63	29.29±0.40	13.51±0.86
	4	2.47±0.29	4.58±0.66	22.04±2.86	26.83±2.78	19.00±1.93	28.08±5.04	13.96±0.63
	7	2.13±0.30	4.55±0.42	20.50±0.77	23.81±0.76	17.13±0.17	28.63±1.88	14.00±0.52
	10	2.10±0.23	4.51±0.58	21.01±1.89	24.19±2.07	17.53±1.36	28.08±3.25	13.99±0.02
	14	2.10±0.14	4.47±0.41	20.75±0.59	24.14±1.80	17.58±1.24	28.25±2.42	13.84±0.22
	17	2.07±0.26	4.77±0.72	21.37±2.46	23.41±1.58	17.01±0.91	28.08±3.36	13.63±0.60

Tabla XVII (continuación). Evolución de los principales ácidos grasos (%) en el filete de dorada durante la vida útil (0-17 días de almacenamiento en hielo)
 Diferentes superíndices (a-c) en cada columna denotan diferencias significativas ($P<0.05$)
 Datos expresados como valores medios \pm SD. n=6

	ARA	EPA	DHA	n-3 PUFA	n-6 PUFA	n-3/n-6	AI	TI
	0	1.14 \pm 0.19	6.67 \pm 0.40 ^{ab}	10.52 \pm 2.11	24.49 \pm 1.62	6.66 \pm 0.37	3.78 \pm 0.43	0.72 0.35
	2	1.09 \pm 0.11	8.34 \pm 0.99 ^c	13.16 \pm 1.47	29.37 \pm 3.32	6.89 \pm 0.63	4.32 \pm 0.39	0.72 0.28
	4	1.00 \pm 0.02	6.99 \pm 0.83 ^a	11.39 \pm 0.79	27.26 \pm 3.51	6.96 \pm 0.56	3.84 \pm 0.18	0.71 0.28
AP	7	1.24 \pm 0.34	7.91 \pm 0.21 ^{ac}	12.06 \pm 1.57	26.28 \pm 1.80	6.71 \pm 0.33	4.12 \pm 0.24	0.74 0.30
	10	1.07 \pm 0.08	7.91 \pm 0.59 ^{abc}	10.81 \pm 1.00	26.14 \pm 2.89	6.58 \pm 0.58	3.93 \pm 0.28	0.75 0.30
	14	1.10 \pm 0.11	8.28 \pm 0.45 ^{bc}	13.37 \pm 0.95	29.60 \pm 1.01	6.93 \pm 0.19	4.61 \pm 0.43	0.75 0.28
	17	1.09 \pm 0.10	8.02 \pm 0.54 ^{abc}	11.92 \pm 0.74	27.54 \pm 0.83	6.88 \pm 0.24	4.03 \pm 0.19	0.75 0.29

	ARA	EPA	DHA	n-3 PUFA	n-6 PUFA	n-3/n-6	AI	TI
	0	0.70 \pm 0.38	3.11 \pm 0.30	6.70 \pm 1.40	33.04 \pm 2.14	12.11 \pm 0.62	2.86 \pm 0.16	0.42 0.20
	2	0.60 \pm 0.38	3.32 \pm 0.74	6.88 \pm 1.75	35.60 \pm 3.85	11.93 \pm 0.42	2.83 \pm 0.41	0.41 0.19
	4	0.54 \pm 0.39	2.75 \pm 0.99	7.05 \pm 0.98	36.78 \pm 3.98	13.01 \pm 1.10	2.79 \pm 0.26	0.37 0.17
70 AL	7	0.81 \pm 0.22	3.29 \pm 0.48	6.88 \pm 0.86	34.94 \pm 4.53	12.27 \pm 0.58	2.84 \pm 0.34	0.39 0.18
	10	0.81 \pm 0.21	3.26 \pm 0.83	7.16 \pm 0.42	34.12 \pm 4.98	12.66 \pm 0.65	2.66 \pm 0.42	0.39 0.19
	14	0.79 \pm 0.23	3.60 \pm 0.45	8.44 \pm 1.54	37.35 \pm 1.83	12.37 \pm 0.43	2.90 \pm 0.12	0.37 0.17
	17	0.76 \pm 0.27	3.43 \pm 0.63	7.50 \pm 1.50	36.57 \pm 3.08	12.41 \pm 0.43	2.85 \pm 0.16	0.38 0.17

	ARA	EPA	DHA	n-3 PUFA	n-6 PUFA	n-3/n-6	AI	TI
	0	0.28 \pm 0.24	1.98 \pm 0.33	5.25 \pm 1.22	35.42 \pm 3.74	14.99 \pm 0.32	2.35 \pm 0.42	0.30 0.16
	2	0.16 \pm 0.16	1.79 \pm 0.39	4.72 \pm 0.98	38.06 \pm 3.37	14.46 \pm 0.82	2.61 \pm 0.37	0.28 0.15
	4	0.18 \pm 0.16	1.76 \pm 0.77	5.26 \pm 0.99	35.10 \pm 6.54	14.68 \pm 0.67	2.42 \pm 0.55	0.31 0.17
100 AL	7	0.23 \pm 0.26	2.20 \pm 0.24	6.21 \pm 0.87	39.40 \pm 0.72	14.88 \pm 0.70	2.77 \pm 0.26	0.28 0.14
	10	0.21 \pm 0.22	1.98 \pm 0.02	6.04 \pm 0.81	38.68 \pm 4.40	15.02 \pm 0.06	2.65 \pm 0.38	0.28 0.15
	14	0.26 \pm 0.37	2.24 \pm 0.40	6.03 \pm 0.97	38.68 \pm 1.97	14.85 \pm 0.22	2.76 \pm 0.26	0.28 0.14
	17	0.30 \pm 0.34	2.30 \pm 0.56	6.60 \pm 1.81	39.04 \pm 3.79	14.65 \pm 0.64	2.69 \pm 0.34	0.29 0.15

3.3. Índices AI y TI

Los índices de calidad AI y TI, calculados a partir de los ácidos grasos determinados del filete se modificaron significativamente por el cambio de dietas (Tabla XVII cont.). El valor más bajo de TI ($P<0.05$), y más deseable desde el punto de vista nutricional fue 0.16 determinado en el músculo del pescado alimentado con la dieta 100AL. El peor (valor más alto) para AI ($P<0.05$) fue determinado en el pescado alimentado con la dieta AP (0.72). Estos resultados no variaron significativamente durante la vida útil, no se determinó correlación con el tiempo de almacenaje en hielo.

4. DISCUSIÓN

La proporción de proteína en el músculo no mostró variaciones dependientes de la composición de la dieta. Este resultado ha sido descrito en especies como Tilapia (*Oreochromis sp.*). Así, Ng & Bahurmiz (2009) determinaron que Tilapias alimentadas con aceite de palma como sustituto del aceite de pescado mostraban el mismo contenido en proteínas a lo largo de un periodo de almacenamiento. La proteína está considerada como un componente estable en el pescado, dependiendo sus variaciones principalmente de la edad, manteniéndose bastante estable en ejemplares adultos (Shearer, 1994). Existe información limitada sobre cambios en la proteína total durante el almacenaje *post mortem*, que puede variar dependiendo de una gama de factores tales como la especie, condición fisiológica, estrés antes del sacrificio y temperatura de almacenaje (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006). Los resultados del presente estudio muestran que la sustitución parcial o completa del AP por AL en dietas para dorada no altera el contenido proteico, ni en el día de sacrificio, ni durante el almacenaje en hielo.

El contenido total de la grasa del filete de la dorada no fue modificado por la inclusión parcial o completa de AL, mostrando que el contenido de grasa total es constante independientemente de la fuente lipídica en la dieta. Resultados similares fueron encontrados en ejemplares juveniles de sargo picudo (*Diplodus puntazzo*) cuando AL y aceite de soja fueron probados como sustitutos del AP (Piedecausa *et al.*, 2007). El

patrón de variación del contenido de grasa determinado por igual para todos los grupos experimentales a lo largo del período de almacenaje fue similar a lo mostrado por Kyrana *et al.*, (1997) en dorada alimentada con una dieta comercial y conservada durante 24 días en hielo. Las variaciones en el contenido de grasa total determinado y durante el almacenaje en hielo podrían estar relacionadas con los fenómenos iniciales de hidrólisis y de producción de ácidos grasos libres.

Los valores de humedad no mostraron cambios significativos entre los distintos grupos experimentales. La evolución de los valores de humedad durante el almacenaje en hielo fue similar a lo determinado por Kyrana *et al.*, (1997) en dorada alimentada con una dieta comercial y almacenada en hielo, alcanzando en su experimento los máximos valores en el día 11 de almacenamiento en hielo. Estas variaciones parecen tener relación principalmente con el contenido lipídico del pez. La relación entre lípidos y humedad es inversamente proporcional, estando los máximos valores de grasa total asociados con los valores mínimos de humedad, tal como ha sido previamente descrito por Kyrana *et al.*, (1997) y Huss (1995).

La inclusión parcial y completa del AL en dietas de dorada no produjo diferencias significativas en la composición de la ceniza comparada con aquellas alimentadas con la dieta a base de AP. Sin embargo, el contenido de ceniza en el músculo de la dorada fue el único parámetro proximal que demostró una reducción clara del contenido durante el almacenaje del hielo, con independencia de la dieta experimental. La reducción de la ceniza durante la vida útil se podría relacionar con las pérdidas por goteo, estando implicados probablemente potasio, fósforo, yodo y sodio como contenido mineral principal en dorada (Erkan & Özden, 2007).

Respecto al perfil de los ácidos grasos y en concreto a los ácidos grasos saturados, el mayor contenido de SFA en el filete de dorada alimentada con la dieta 70AL que lo proporcionada por dieta, sugiere un almacenaje selectivo de estos ácidos grasos, mientras que el filete de los pescados alimentado con la dieta AP mostró unos niveles de SFA más bajo que lo determinado en la dieta. Un resultado similar ha sido descrito con un 60% y el 80% de sustitución del aceite de pescado por el aceite de lino (Izquierdo *et al.*,

2005). El contenido total de SFA en el filete de las doradas alimentadas con dietas a base de AP siguió una evolución descendente a lo largo del periodo de almacenaje del hielo. Pirini *et al.*, (2000) encontraron en lubina de acuicultura almacenada en hielo durante 12 días que las proporciones del ácido grasos saturados (14:0, el 16:0 y el 18:0) eran estables durante el almacenaje, no obstante el valor total de SFA disminuyó levemente, semejante a lo encontrado en el presente estudio. En la sardina (*Sardinella gibbosa*) almacenada en el hielo por 15 días (Chaijan *et al.*, 2006), se apreció una disminución leve del 14:0 y del 16:0 pero un aumento del 18:0 y de los SFA totales.

La cantidad de 18:3 n -3 aumentó en el filete de dorada con la sustitución parcial (70AL) y total (100AL) del aceite de pescado, similar a lo demostrado para dorada (Izquierdo *et al.*, 2003, 2005, Menoyo *et al.*, 2004). Su evolución a lo largo del almacenaje del hielo mostró un comportamiento estable, manteniéndose sus valores. A pesar de su importancia en nutrición humana existen muy pocos alimentos ricos en 18:3 n -3. Los nutricionistas sugieren que la adición de n -3 PUFA mejora el valor nutritivo de los productos para consumo humano y previene diversas enfermedades (Moreira *et al.*, 2001). Por lo tanto, la presencia y la estabilidad de estos ácidos grasos en el filete de dorada supone un valor adicional a la dorada de acuicultura como producto para alimentación humana.

La sustitución del aceite de lino produjo un aumento de los ácidos grasos del grupo n -3 como resultado del aumento de 18:3 n -3 así como el aumento de 18:2 n -6 contribuyó al grupo n -6. Ackman & Takeuchi (1986) encontraron que el porcentaje de n -3 PUFA en los peces marinos procedentes de la acuicultura es a menudo más bajo que en los peces salvajes ya que los piensos manufacturados contienen generalmente porciones elevadas de lípidos ricos en SFA y MUFA y son deficientes en n -3 PUFA; por lo tanto, esta baja proporción de n -3 PUFA y una inadecuada proporción entre los ácidos grasos de los grupos n -3 y n -6 en pescados de acuicultura podría reducir la calidad alimentaria de su componente lipídico. En el presente trabajo, la sustitución de AL produjo una proporción de ácidos grasos n -3/ n -6 (3:1) en el filete, inferior a lo determinado con la dieta AP aunque superior a lo determinado para la dorada salvaje (Izquierdo *et al.*, 2005, Grigorakis, 2007).

Además, el hecho de que la proporción $n-3/n-6$ siguieran siendo estable a lo largo del almacenaje del hielo asegura la alta calidad nutritiva a lo largo de la vida útil, deseable para los consumidores.

Los ácidos grasos ARA, EPA y de DHA fueron determinados en proporciones más elevadas en el filete de la dorada que lo determinado en la dieta. A pesar de esta ventaja, la inclusión del aceite de lino produjo una reducción de los niveles de EPA, DHA y ARA con respecto a lo determinado en el filete de dorada de la dieta AP. No obstante, estas proporciones fueron similares que las encontradas en otras especies magras de pescado como el rodaballo o el pez espada (*Xiphias Gladius*) (Ackman, 2008). Además, hay que tener en cuenta que incluso los niveles más bajos de $n-3$ HUFA encontrados en el presente estudio, son sensiblemente mayores que los niveles encontrados en otras fuentes animales (Izquierdo *et al.*, 2003), mostrando de esta manera los efectos beneficiosos del pescado incluso con la inclusión total del aceite de lino.

La variación en las proporciones de EPA, DHA y ARA, a lo largo del período de almacenaje en hielo puede estar relacionada con los fenómenos fisiológicos que se producen durante un adecuado periodo de almacenaje. Bajo tales condiciones, aunque los HUFA tienen una alta susceptibilidad a la rancidez oxidativa, los procesos hidrolíticos parecen prevalecer sobre reacciones oxidativas. La conservación en hielo de pescados enteros, tiende a retrasar la producción de malonaldehído (indicador de la oxidación), mientras que permite fenómenos de hidrólisis con una acumulación de ácidos grasos libres (Kyra & Lougovois, 2002). La rancidez por medio de fenómenos de hidrólisis originada por lipasas como triacyl-lipasa, fosfolipasa B y particularmente la fosfolipasa A_2 (Audley *et al.*, 1978), puede explicar las variaciones de HUFA observadas en el presente estudio. El índice de hidrólisis parece ser más pronunciado con el avance del almacenaje, probablemente debido a una mayor difusión de enzimas lipolíticas desde las vísceras, así como a la intervención de lipasas de origen bacteriano. Tanaka *et al.*, (1992) mostraron un aumento en las proporciones de DHA en el aceite de pescado mediante una hidrólisis con lipasas microbianas desde los ácidos grasos libres. En sardina almacenada en hielo durante 15 días (Chaijan *et al.*, 2006), el EPA y DHA experimentaron una disminución de

menor importancia durante almacenaje del hielo, sin embargo el ARA aumentó levemente comparado con los niveles determinados en el día 0. Por el contrario, en lubina, los valores de EPA y de DHA fueron homogéneos mientras que los valores del ARA disminuyeron, durante los 12 días de almacenaje del hielo (Pirini *et al.*, 2000). En la anchoa marinada (*Engraulis encrasicolus*) (Özden, 2005), encontraron que tras 60 días de almacenaje ARA y de DHA aparecían en una mayor cantidad que lo determinado al principio del almacenaje, como ocurrió en el presente estudio. Estos resultados sugieren que la proporción de los ácidos grasos durante almacenaje es un proceso dinámico, ya que la degradación lipídica envuelve una secuencia de eventos compleja que implica interacciones con otros compuestos próximos, principalmente las proteínas.

Tanto el índice aterogénico como el trombogénico consisten en valiosos indicadores de la calidad alimenticia. Ulbricht & Southgate (1991) propusieron un índice aterogénico (AI) para la composición grasa basada en la información disponible sobre el efecto de varios ácidos grasos sobre el colesterol plasmático (Turan *et al.*, 2007). La inclusión de aceite de lino en las dietas de dorada fue eficaz en la reducción de SFA y de los índices AI y del TI, con las ventajas consiguientes en la calidad alimenticia. No obstante, de acuerdo con Grigorakis (2007), este índice debe ser usado solamente de manera orientativa puesto que los procesos fisiológicos, donde están implicados los ácidos grasos, tienen múltiples actividades biológicas adicionales, y una mayor información *in vivo* debería ser realizada.

5. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio han mostrado que el contenido proximal y el perfil de ácidos grasos de los filetes de dorada alimentadas con dietas conteniendo una substitución parcial y completa del aceite de pescado por aceite de lino, no muestra variaciones relevantes durante la vida útil, manteniendo la calidad del producto incluso a lo largo del período de almacenaje comestible.

6. AGRADECIMIENTOS

Agradecer al Gobierno de España bajo el programa del Plan Nacional I+D+I 2004 (proyecto nº AGL2004-08151-C03-01) que financió este estudio.



CAPÍTULO 7

7. INCLUSIÓN DEL ACEITE DE LINO EN LAS DIETAS DE DORADA. EFECTO EN LOS PARÁMETROS FISCOQUÍMICOS Y SENSORIALES DURANTE LA VIDA ÚTIL DEL FILETE

RESUMEN

Se investigó el efecto en la calidad y en la vida útil del filete de dorada alimentada con dietas con sustitución parcial y completa del aceite de pescado (AP) por aceite de lino (AL). Las dietas se formularon con aceite de pescado al 100% (AP), 70% AL + 30% AP (70AL) y 100% AL (100AL). Para ello, se estudiaron parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad eléctrica, NBVT, TBARS y textura) y atributos (QIM, perfil sensorial y aceptación) durante 17 días de almacenamiento en hielo.

Respecto a la textura, en el filete de dorada crudo recién sacrificado (al día 0 de almacén en hielo) se determinaron valores más altos de dureza en el grupo alimentado con la dieta AP aunque las diferencias sólo fueron significativas en el estudio de la textura sobre filete cocinado. A lo largo del periodo de almacenamiento, los valores de TBARS permanecieron más bajos en los filetes de dorada alimentada con dietas a base de AL que en aquellos procedentes de doradas alimentadas con la dieta a base de aceite de pescado. La evaluación sensorial no mostró diferencias significativas entre grupos, ni en el perfil sensorial ni en la cata de aceptación durante la vida útil de la dorada.

Keywords: dorada, aceite de lino, vida útil, calidad, textura, perfil sensorial.

Para publicar como: **Linseed oil inclusion in sea bream diets: Effect on physicochemical parameters and sensorial analysis during ice storage** (en preparación).

Autores: Castro, P., Caballero, M.J., Penedo, J.C.; Ginés, R., Montero, D., Lastilla M.T. & Izquierdo, M.

1. INTRODUCCIÓN

La producción anual mundial de la acuicultura se ha triplicado en los últimos 15 años, y para 2015 se prevé que la acuicultura represente el 39% de la producción total mundial de pescado (Sapkota *et al.*, 2008). Sin embargo, en la actualidad los objetivos de este sector se han ampliado una vez que los retos de producción y crecimiento cada vez están más controlados. Actualmente, la calidad del producto final es un objetivo clave para garantizar al consumidor un repertorio de productos acuícolas de alto valor nutritivo y que sean fuente de salud.

Las estrategias nutricionales habituales en los piensos de acuicultura, como puede ser la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales, obligan a profundizar en el estudio de la calidad del producto final de la acuicultura. Existen algunos ejemplos en la literatura que relacionan la inclusión de aceites vegetales, como el aceite de lino, en el perfil de ácidos grasos del músculo, mostrando que la inclusión de aceite de lino modifica preferentemente el contenido de 18:3 n -3 en el músculo de dorada (Izquierdo *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2005; Menoyo *et al.*, 2004). Además, se ha encontrado que el aceite de lino es 4 veces más efectivo que el aceite de colza (con un contenido de 17.5% de ácidos grasos) en aumentar los n -3 PUFA, el ratio n -3/ n -6 PUFA, las concentraciones de ácido α -linolénico, los precursores del 20:5 n -3 (ácido eicosapentaenoico, EPA) y el 22:6 n -3 (ácido docosahexanoico, DHA) (Shapira *et al.*, 2009). El aumento de estos ácidos grasos tiene efectos sobre la salud del consumidor, ya que los beneficios asociados al consumo de pescado son principalmente atribuidos a los n -3 PUFA, los cuales son potencialmente cardioprotectores y con acción antitrombótica (Din *et al.*, 2004).

En el capítulo anterior se estudió el efecto de la inclusión del aceite de lino en la composición proximal y en el perfil de ácidos grasos en el filete de dorada durante la vida útil en hielo. De igual manera, las modificaciones dietéticas en los piensos de acuicultura también parecen modificar la calidad del filete de pescado desde el punto de vista de su apariencia, características organolépticas y frescura. De entre éstos, la frescura es fundamental desde el punto de vista del consumidor, pues el pescado es un producto

alimenticio fácilmente degradable. El estado de la frescura se puede describir por una variedad de características que pueden ser evaluadas por varios indicadores (Bremner & Sakaguchi, 2000). Los indicadores de la frescura, tanto sensoriales, como químicos o físicos, fueron desarrollados para entender y para identificar la vida útil de los pescados salvajes y posteriormente de los cultivados. Así, se han revisado en múltiples especies y específicamente en la dorada (Kyra *et al.*, 1997, Alasalvar *et al.*, 2001, Cakli *et al.*, 2006, Grigorakis, 2007) diversos parámetros como NBVT, TBARS, pH y conductividad eléctrica (TMRs) que son considerados los parámetros fisicoquímicos de mayor relevancia para el estudio de la vida útil del pescado. Respecto al análisis sensorial, destacar los estudios de Huidobro *et al.*, (2000) para el desarrollo del QIM y de Carbonell *et al.*, (2002, 2003) que estudiaron mediante análisis sensorial y de textura, la dorada salvaje y de acuicultura, tanto en fresco como congelada. También con textura, entre otras técnicas, Ayala *et al.*, (2010) revisaron la evolución de las proteínas estructurales en la dorada durante la vida útil. En lubina, salvaje y de acuicultura, Alasalvar *et al.*, (2002b) desarrollaron un estudio comparativo mediante el estudio de la textura y aceptación.

Respecto a la inclusión de aceites vegetales en dietas para dorada, resultados previos han mostrado efectos sobre flavor y textura cuando se utiliza aceite de soja (Izquierdo *et al.*, 2005). Con la inclusión de aceite de lino en la dieta para dorada, no se determinó un efecto significativo sobre la dureza del filete, tanto con niveles de inclusión del 40% (Izquierdo *et al.*, 2003), como del 60 y del 80% (Menoyo *et al.*, 2004; Izquierdo *et al.*, 2005). La sustitución de aceite de pescado por aceite de soja, palma y colza determinó diferencias en la composición de componentes volátiles, como el D-limoneno característico solamente en las dietas a base de aceite de pescado, en el día 0 de almacén en hielo (Grigorakis *et al.*, 2009).

Por lo tanto, en vista de los nuevos retos para la investigación, parece de considerable interés para productores, distribuidores y consumidores, investigar el efecto de las estrategias nutricionales desarrolladas actualmente en los piensos de acuicultura sobre la calidad de la dorada cultivada y los cambios que ocurren durante el almacenaje en hielo. Así, el objetivo del presente estudio fue determinar cómo afecta la sustitución

parcial y total del aceite de pescado por aceite de lino en las dietas de dorada a los parámetros fisicoquímicos más relevantes (pH, TMRs, NBVT, TBARS y textura) así como a los parámetros sensoriales del filete de dorada tanto crudo como cocinado, durante su vida útil.

2. CONDICIONES EXPERIMENTALES

2.1. Material experimental

Ejemplares de juveniles de dorada con un peso inicial de 40 g, suministrados por la granja local ADSA S.A. (Gran Canaria), se distribuyeron aleatoriamente en tanques de fibra de vidrio de 1000 l (50 peces/ tanque) en las instalaciones del Instituto Canario de Ciencias Marinas (Islas Canarias, España). Las condiciones de cría fueron idénticas que las enumeradas en el capítulo 6.

2.2. Dietas experimentales

Tres dietas isonitrogenadas (contenido proteínico del 45%) e isoenergéticas con un contenido lipídico del 22%, fueron fabricadas por BioMar Iberia (Dueñas, España). Las dietas se formularon con un nivel de sustitución parcial (dieta 70AL) y completo (dieta 100AL) del aceite de pescado (anchoa peruana) por aceite de lino. Una dieta con aceite de pescado al 100% fue utilizada como dieta control (dieta AP).

2.3. Preparación de las muestras y puntos muestrales

La preparación de las muestras fue idéntica a lo enumerado en el capítulo 6. Sobre cada filete se realizaron las siguientes determinaciones por triplicado; **Parámetros fisicoquímicos:** pH, conductividad eléctrica, NBVT, TBARS y textura (filete crudo los días 0, 2, 4, 7, 10, 14 y 17 en hielo y cocinado en el día 0 en hielo). **Sensorial:** QIM, perfil sensorial, cata de aceptación.

La metodología aplicada para cada uno de estos análisis se detalla en el capítulo 2 (Material y Métodos) de la presente tesis.

2.4. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados siguiendo un modelo lineal general con dos factores fijos, la dieta y el tiempo de conservación en hielo. Cuando para alguno de los factores hubo efecto significativo, las diferencias entre tratamientos se cuantificaron mediante el test múltiple de Scheffe a un nivel de $P < 0.05$. El paquete estadístico utilizado fue el PASW 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois). De cara a determinar la evolución en el tiempo de los parámetros estudiados se realizó un análisis de regresión (Sokal & Rohlf, 1995). Por último, la estructura multivariante de los resultados de la evaluación sensorial fue descrita mediante un análisis de componentes principales (PCA) con el paquete estadístico Unscrambler® 9.8 (Camo A/S, Oslo, Norway).

3. RESULTADOS

3.1 Análisis fisicoquímico

Los valores de pH en el día 0 estuvieron alrededor de 6.5 para todos los grupos experimentales (Tabla XVIII). Los valores de pH mínimos se determinaron al cuarto día de almacenaje en hielo, registrándose desde este punto un aumento gradual hasta el último día del estudio. Esta evolución del pH fue similar para todos los grupos a lo largo del tiempo de almacenaje.

Las lecturas con el Torrymeter (TMRs) en el día 0 en hielo oscilaron entre 11.33 (AP y 70AL) y 11.50 (100AL) (Tabla XVIII), no detectándose diferencias significativas entre dietas. A lo largo del periodo de conservación en hielo, los valores medios de conductividad eléctrica disminuyeron respecto al tiempo de almacén en hielo de manera gradual determinándose un coeficiente de regresión de -0.658 ($P < 0.01$).

Tabla XVIII. Valores de pH, Torrymeter (TMRs), nitrógeno básico volátil total (NBVT) e índice del ácido tiobarbiturico (TBARS) en el filete de dorada alimentada con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo
 Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas respecto a las dietas ($P<0.05$). Datos expresados como valores medios \pm SD. n=6 (Torrymetro=12)

Dietas	pH						
	Días en hielo						
	0	2	4	7	10	14	17
AP	6.56 \pm 0.26	6.04 \pm 0.14	5.92 \pm 0.66	5.98 \pm 0.36	6.42 \pm 0.19	6.77 \pm 0.18	6.78 \pm 0.36
70AL	6.46 \pm 0.31	5.95 \pm 0.12	5.61 \pm 0.61	5.92 \pm 0.39	6.44 \pm 0.14	6.77 \pm 0.28	6.79 \pm 0.40
100AL	6.48 \pm 0.37	6.00 \pm 0.05	5.29 \pm 0.17	5.93 \pm 0.37	6.26 \pm 0.11	6.76 \pm 0.36	6.78 \pm 0.36
Dietas	TMRs						
	Días en hielo						
	0	2	4	7	10	14	17
AP	11.33 \pm 1.03	10.83 \pm 0.75	9.83 \pm 1.17	8.67 \pm 1.03	7.83 \pm 1.47	7.50 \pm 1.52	7.17 \pm 2.04
70AL	11.33 \pm 0.52	11.00 \pm 0.63	9.83 \pm 2.14	10.00 \pm 1.55	8.17 \pm 1.72	8.17 \pm 2.04	7.33 \pm 2.34
100AL	11.50 \pm 1.87	11.40 \pm 1.14	10.33 \pm 1.63	10.33 \pm 1.21	8.00 \pm 3.03	8.67 \pm 1.97	7.17 \pm 2.56
Dietas	NBVT						
	Días en hielo						
	0	2	4	7	10	14	17
AP	20.02 \pm 3.24	21.66 \pm 1.34	20.36 \pm 0.78	20.37 \pm 1.36	19.95 \pm 1.24	18.75 \pm 1.72	18.96 \pm 3.06
70AL	21.22 \pm 1.00	22.02 \pm 1.09	21.13 \pm 2.27	20.24 \pm 1.35	20.12 \pm 2.17	18.51 \pm 1.63	18.59 \pm 4.07
100AL	21.48 \pm 1.80	21.89 \pm 1.71	21.99 \pm 2.14	19.62 \pm 1.40	20.03 \pm 2.26	17.95 \pm 1.53	18.85 \pm 3.16
Dietas	TBARS						
	Días en hielo						
	0	2	4	7	10	14	17
AP	0.16 \pm 0.09	0.23 \pm 0.01 ^b	0.23 \pm 0.06 ^b	0.26 \pm 0.05 ^b	0.22 \pm 0.08 ^b	0.22 \pm 0.07	0.27 \pm 0.12 ^b
70AL	0.14 \pm 0.05	0.18 \pm 0.06 ^{ab}	0.17 \pm 0.04 ^{ab}	0.17 \pm 0.07 ^{ab}	0.17 \pm 0.04 ^{ab}	0.19 \pm 0.07	0.22 \pm 0.01 ^{ab}
100AL	0.12 \pm 0.06	0.12 \pm 0.01 ^a	0.13 \pm 0.04 ^a	0.12 \pm 0.03 ^a	0.13 \pm 0.04 ^a	0.16 \pm 0.03	0.20 \pm 0.06 ^a

Los valores de NBVT al día 0 oscilaron desde 20.02 mg NBVT/100 g para la dieta AP, 21.22 mg NBVT/100 g para la dieta 70AL y de 21.48 mg NBVT/100 g para la dieta 100AL (Tabla XVIII), sin efecto significativo de la dieta. Con el avance del periodo de almacén los valores de NBVT disminuyeron gradualmente determinándose un coeficiente de regresión -0.493 ($P<0.05$) aunque sin diferencias significativas entre los distintos grupos experimentales.

Por su parte, los valores de TBARS en el filete del pescado recién sacrificado fueron de 0.16, 0.14 y 0.12 mg de malonaldehído/100 g, para las dietas AP, 70AL y 100AL respectivamente, aunque no fueron estadísticamente diferentes (Tabla XVIII). Sin embargo, durante el periodo de almacenaje en hielo si se apreciaron diferencias significativas entre dietas ($P<0.05$) en todos los puntos experimentales excepto en el día 14 (Tabla XVIII). Durante la vida útil, los valores de TBARS aumentaron de manera progresiva y significativa ($P<0.01$). Se determinó una coeficiente de regresión entre los valores de los TBARS y el tiempo en hielo, con pendientes positivas en los tres grupos experimentales de 0.274 (AP), 0.356 (70AL), y 0.506 (100AL) significativamente diferentes ($P<0.05$).

3.2 Textura

3.2.1 Análisis de la textura en el filete crudo (0-17 días en hielo). Los parámetros de textura (Tabla XIX) alcanzaron valores altos en el filete de dorada alimentada con la dieta AP al día 0 en hielo (dureza, 6.23 N; gomosidad, 1.48 N; adhesividad, -0.04 N*sg.; masticabilidad, 0.76 N) aunque no fueron significativamente diferentes a aquellos filetes de doradas de las dietas a base de AL. Los valores más altos de recuperación (0.55), cohesividad (0.26) y de elasticidad (0.16) se encontraron para la dieta 70AL, aunque las diferencias no fueron significativas. Los días en hielo provocaron una pérdida significativa de las características de la textura (Tabla XIX), mostrando una evolución negativa y significativa con el tiempo de almacenaje en hielo en todos los parámetros testados excepto gomosidad y adherencia. Así, se necesitó aplicar una fuerza menor, con el paso del tiempo, para fracturar el filete durante la compresión (fracturabilidad -0.539 , $P<0.01$),

decreció la resistencia a la máxima compresión (dureza -0.404 , $P<0.01$) y la fuerza y velocidad con las cuales el filete se recuperó después de la primera compresión (recuperación -0.424 , $P<0.01$) hasta valores mínimos en el día 17 de almacén en hielo. Además, la capacidad del filete de mantener su perfil y recuperar su estructura durante la pausa entre dos compresiones se fue reduciendo, siendo necesaria una menor fuerza en la segunda compresión (cohesividad -0.304 , $P<0.05$), además de ser aplicada en menos tiempo para deformarlo (elasticidad -0.505 , $P<0.01$). Los parámetros calculados a partir de las relaciones entre dureza y cohesividad (gomosidad) y entre dureza, cohesividad y elasticidad (masticabilidad) también mostraron una clara modificación con los días de almacenaje en hielo siendo esta evolución para la gomosidad de -0.505 , y para la masticabilidad de -0.421 ($P<0.01$) por cada día de almacenamiento. La adhesividad, entendida como la fuerza generada por la retención del plato de compresión tras su primer descenso, no mostró una dependencia lineal con el tiempo de almacenamiento en hielo.

Tabla XIX. Evolución de la textura instrumental en el filete crudo de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales durante 17 días de almacenamiento en hielo
 Datos expresados como valores medios±SD. nd: no determinado. n=6

<i>Días hielo</i>	Dureza (N)			Recuperación (ratio)		
	AP	70AL	100AL	AP	70AL	100AL
0	6.23±1.47	5.93±1.64	6.01±1.93	0.52±0.01	0.55±0.079	0.50±0.11
2	6.13±4.58	5.11±6.60	4.91±7.81	0.41±0.11	0.37±0.018	0.39±0.04
4	4.83±1.14	5.00±1.35	4.56±1.33	0.38±0.04	0.36±0.025	0.37±0.04
7	4.60±9.80	4.68±2.49	4.46±1.54	0.36±0.09	0.34±0.066	0.32±0.02
10	4.04±5.54	4.29±4.76	4.40±4.01	0.34±0.08	0.34±0.043	0.31±0.01
14	4.02±3.47	3.77±1.03	4.40±5.31	0.33±0.02	0.33±0.035	0.30±0.08
17	3.51±6.09	3.41±7.36	3.72±3.38	0.33±0.01	0.30±0.060	0.29±0.03
<i>Días hielo</i>	Fracturabilidad (N)			Cohesividad (ratio)		
	AP	70AL	100AL	AP	70AL	100AL
0	nd	nd	nd	0.24±0.04	0.26±0.04	0.22±0.03
2	1.94±0.21	2.39±0.53	2.22±0.83	0.17±0.02	0.15±0.03	0.29±0.19
4	1.88±0.15	1.92±0.41	2.01±0.93	0.17±0.02	0.15±0.02	0.18±0.02
7	1.83±0.75	1.61±0.47	1.43±0.26	0.17±0.02	0.17±0.02	0.18±0.02
10	1.75±0.48	1.28±0.37	1.38±0.29	0.16±0.03	0.17±0.02	0.17±0.03
14	1.26±0.17	1.15±0.14	1.27±0.12	0.16±0.02	0.16±0.02	0.14±0.03
17	1.23±0.12	0.98±0.08	1.13±0.05	0.13±0.02	0.15±0.02	0.13±0.22
<i>Días hielo</i>	Gomosidad (N)			Adhesividad (N*sg)		
	AP	70AL	100AL	AP	70AL	100AL
0	1.48±0.50	1.25±0.32	0.97±0.40	-0.04±0.02	-0.04±0.01	-0.03±0.01
2	0.94±0.18	0.93±0.40	0.92±0.93	-0.05±0.01	-0.05±0.01	-0.05±0.02
4	0.80±0.20	0.78±0.15	0.82±0.29	-0.06±0.00	-0.06±0.02	-0.06±0.01
7	0.67±0.11	0.66±0.20	0.80±0.14	-0.06±0.02	-0.05±0.01	-0.05±0.01
10	0.57±0.21	0.57±0.17	0.72±0.23	-0.05±0.02	-0.05±0.01	-0.05±0.01
14	0.42±0.12	0.51±0.18	0.51±0.12	-0.05±0.01	-0.05±0.02	-0.05±0.01
17	0.43±0.25	0.50±0.15	0.43±0.56	-0.05±0.04	-0.05±0.03	-0.04±0.02
<i>Días hielo</i>	Masticabilidad (N)			Elasticidad (ratio)		
	AP	70AL	100AL	AP	70AL	100AL
0	0.76±0.26	0.68±0.19	0.49±0.25	0.14±0.02	0.16±0.02	0.14±0.03
2	0.30±0.05	0.31±0.13	0.30±0.24	0.09±0.02	0.08±0.01	0.09±0.00
4	0.29±0.04	0.27±0.05	0.30±0.11	0.08±0.01	0.08±0.01	0.09±0.01
7	0.28±0.09	0.24±0.81	0.21±0.08	0.08±0.01	0.08±0.01	0.08±0.02
10	0.20±0.09	0.20±0.49	0.24±0.08	0.08±0.01	0.08±0.01	0.08±0.06
14	0.20±0.02	0.20±0.07	0.16±0.05	0.07±0.01	0.07±0.01	0.08±0.00
17	0.14±0.07	0.10±0.06	0.18±0.07	0.07±0.00	0.07±0.00	0.07±0.01

2.2 Análisis de la textura en el filete cocinado (día 0). Al analizar la textura del filete cocinado, la influencia de la composición de la dieta fue más evidente en la mayoría de parámetros estudiados que en el filete crudo (Tabla XX).

En referencia a la resistencia a la compresión máxima (dureza), los valores más altos correspondieron a los filetes de la dieta AP (3.73 N), disminuyendo en los grupos AL, alcanzando los valores más bajos y significativamente diferentes en el filete de doradas alimentadas con la dieta 100AL (2.85 N). Así mismo, relacionado con la resistencia a la compresión máxima (gomosidad y masticabilidad), los valores máximos también se encontraron con la dieta AP (1.40 y 0.67 N respectivamente), estadísticamente diferentes de 100AL (0.98 N, gomosidad y 0.50 N masticabilidad, $P<0.05$). En los parámetros relacionados con la resistencia a la compresión máxima, como pueden ser la recuperación, se siguió un patrón opuesto, en el que las dietas AL marcaron los valores máximos (0.53, 70AL; 0.51, 100AL), siendo el valor en la dieta 70AL significativamente diferente al encontrado con la dieta AP (0.48) ($P<0.05$). Igualmente, la cohesividad fue significativamente más alta con la dieta 70AL (0.38) que con la dieta 100AL (0.35) ($P<0.05$), aunque en ninguno de los dos casos fue diferente de la dieta AP (0.37). Otro parámetro con variaciones significativas ($P<0.05$) en la textura cocinada del filete fue la elasticidad, con un valor inferior y perceptiblemente diferente con la dieta AP (0.12) comparado con las dietas AL (0.13). Por último, respecto a la adhesividad, no fueron encontradas diferencias significativas aunque los valores determinados fueran diferentes, probablemente debido a la alta dispersión de este parámetro. En cuanto a la fracturabilidad, esta no pudo ser determinada en los filetes cocinados ya que se basa principalmente en la cohesión de los miómeros. Así, tras el cocinado, el colágeno encargado de mantener la estructura del filete se gelatiniza por la acción térmica lo que origina que tras la primera compresión se produzca una pérdida de la estructura, a diferencia de lo que ocurre con el pescado crudo donde existe una cierta recuperación de dicha estructura por deslizamiento de los miómeros dentro de la red elástica del colágeno.

Tabla XX. Textura instrumental del filete cocinado de doradas alimentada con las distintas dietas experimentales en el día de sacrificio (día 0 en hielo)
 Letras diferentes (a-b) en una misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas respecto a las dietas ($P < 0.05$)
 Datos expresados como valores medios \pm SD. n=6

Dietas	Dureza	Recuperación	Cohesividad	Gomosidad
AP	3.73 \pm 1.05 ^b	0.48 \pm 0.05 ^a	0.37 \pm 0.02 ^{ab}	1.40 \pm 0.42 ^b
70AL	3.17 \pm 1.31 ^{ab}	0.53 \pm 0.07 ^b	0.38 \pm 0.03 ^b	1.21 \pm 0.56 ^{ab}
100AL	2.85 \pm 0.90 ^a	0.51 \pm 0.06 ^{ab}	0.35 \pm 0.06 ^a	0.98 \pm 0.33 ^a

Dietas	Adhesividad	Masticabilidad	Elasticidad
AP	-0.01 \pm 0.02	0.67 \pm 0.19 ^b	0.12 \pm 0.01 ^a
70AL	-0.00 \pm 0.00	0.63 \pm 0.27 ^{ab}	0.13 \pm 0.02 ^b
100AL	-0.00 \pm 0.00	0.50 \pm 0.18 ^a	0.13 \pm 0.02 ^b

3.3. Análisis sensorial

3.3.1. En el pescado crudo

Quality Index Method (QIM) (0-17 días en hielo). Siguiendo el protocolo del QIM, los registros realizados por los miembros del panel no mostraron diferencias significativas entre dietas ni inmediatamente tras el sacrificio, ni a lo largo de la vida útil (Tabla XXI). Así pues, la inclusión del AL en la dorada no produjo diferencias sensoriales durante el período comestible (hasta el día 17) con respecto a las doradas alimentadas con la dieta AP. En el día 0 en hielo, con la máxima frescura, los pescados han de tener los valores mínimos (Huidobro *et al.*, 2000). Sin embargo, en el presente estudio algunos pescados obtuvieron valoraciones distintas de 0, debido a una apreciación del olor como neutro en lugar de fresco para todos los grupos experimentales (Tabla XXI). Los valores obtenidos con el QIM tuvieron una positiva relación con el tiempo de almacenaje determinándose un coeficiente de regresión de 0.954 ($P < 0.01$).

Tabla XXI. Cambios en los valores del Quality Index Method (QIM) de doradas enteras y sin eviscerar alimentadas con las distintas dietas experimentales durante el período de almacenaje en hielo. Datos expresados como valores medios \pm SD. n=12

<i>Dietas</i>	<i>Días en hielo</i>						
	0	2	4	7	10	14	17
AP	0.40 \pm 0.55	0.97 \pm 0.97	4.33 \pm 1.51	6.75 \pm 1.08	9.00 \pm 1.76	10.56 \pm 0.91	11.67 \pm 0.93
70AL	0.55 \pm 0.55	1.17 \pm 0.58	4.03 \pm 0.73	7.25 \pm 1.08	9.17 \pm 0.75	10.44 \pm 0.87	12.58 \pm 1.43
100AL	0.40 \pm 0.55	0.92 \pm 0.74	4.39 \pm 1.61	6.58 \pm 2.33	8.67 \pm 1.17	10.75 \pm 0.43	13.00 \pm 1.26

3.3.2. En el pescado cocinado

Perfil sensorial (día 0). No se encontraron diferencias significativas para ninguno de los atributos incluidos en el perfil sensorial (olor, apariencia, gusto residual, flavor, textura y aceptación) atendiendo a la dieta empleada (Tabla XXII). Mediante el análisis de componentes principales se identificaron aquellos atributos que más han contribuido a explicar la variación del modelo (Fig. 1). Así, los filetes de doradas alimentadas con las dietas 70AL y 100AL presentaron una textura más cohesiva, siendo además de un color más blanquecino y una apariencia más compacta tras su cocinado. Los filetes de las doradas de la dieta 100AL se caracterizaron por su textura más jugosa y adhesiva. Por otra parte, aquellos filetes de doradas alimentadas con la dieta AP mantuvieron el gusto residual tras la deglución durante más tiempo.

Tabla XXII. Perfil sensorial del filete cocinado de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo
 Datos expresados como valores medios. n=9

<i>Dietas</i>	Olor			Apariencia				Gusto residual	
	marino	aceitoso	atípico	blanco	brillante	compacto	Liq. expelido	persistencia	aceitoso
AP	77.76	5.94	3.27	79.58	70.36	51.58	5.45	52.91	4.31
70AL	77.06	7.21	3.91	82.00	71.52	54.18	6.42	48.85	5.52
100AL	78.48	5.47	3.06	81.95	70.77	52.96	5.33	49.57	4.56
<i>Dietas</i>	Flavor			Textura				Aceptación	
	marino	aceitoso	atípico	cohesividad	jugosidad	dureza	adhesividad		
AP	75.64	5.45	3.58	52.97	51.58	34.55	31.15	63.03	
70AL	75.94	6.12	3.97	56.24	50.76	34.24	29.88	65.41	
100AL	76.76	5.52	3.27	56.35	53.67	35.34	31.95	65.59	

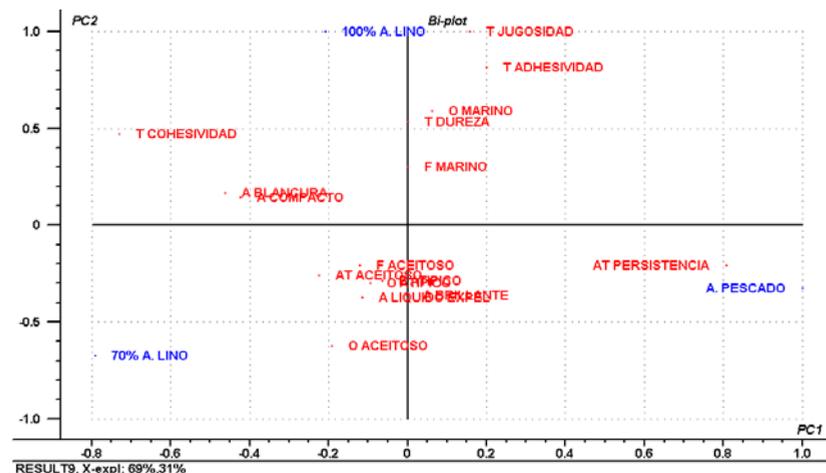


Fig. 20. Perfil sensorial del filete cocinado de dorada alimentada con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo

Aceptación a lo largo de la vida útil (0-17 días en hielo). Los filetes cocinados de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales se evaluaron usando el esquema de cocinado de Torry. Los cambios sensoriales en su calidad son mostrados en la Tabla XXIII (flavor, olor, textura y aceptación). Apenas se detectaron diferencias significativas provocadas por la inclusión de aceite de lino, solamente las encontradas para el flavor entre el séptimo y décimo día de conservación en hielo, con valores más elevados ($P < 0.05$) para los filetes de las doradas alimentadas con la dieta AP. Esto contribuyó a que la puntuación para la aceptación global fuera mayor en ese mismo grupo. Junto con las valoraciones correspondientes, los miembros del panel fueron invitados a expresar aquellas observaciones que consideraran oportunas. Varios panelistas hicieron referencia a una mayor sensación aceitosa y mayor firmeza para los filetes de las doradas alimentadas con la dieta AP. Como era de esperar, las características sensoriales disminuyeron en puntuación durante el almacenaje en hielo, especialmente las referidas a la aceptación global.

Tabla XXIII. Cata de aceptación con los cambios en el flavor, olor, textura y aceptación general de los filetes de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo

Letras diferentes en una misma columna denotan diferencias estadísticamente significativas respecto a las dietas ($P < 0.05$). Datos expresados como valores medios \pm SD. $n = 9$

Flavor							
Días en hielo							
Dietas	0	2	4	7	10	14	17
AP	9.9 \pm 0.3	9.5 \pm 0.5	7.9 \pm 1.3	8.1 \pm 0.9 ^b	7.1 \pm 0.9 ^b	6.1 \pm 1.0	5.5 \pm 0.9
70AL	10.0 \pm 0.0	9.3 \pm 0.6	8.3 \pm 1.2	7.4 \pm 0.8 ^{ab}	6.1 \pm 1.3 ^a	5.6 \pm 0.9	5.1 \pm 0.8
100AL	9.9 \pm 0.3	9.1 \pm 0.8	8.0 \pm 1.5	7.1 \pm 1.2 ^a	6.4 \pm 0.8 ^{ab}	5.9 \pm 1.1	5.2 \pm 0.9
Olor							
Días hielo							
Dietas	0	2	4	7	10	14	17
AP	10.0 \pm 0.0	9.3 \pm 0.5	8.4 \pm 0.6	8.3 \pm 0.9	7.5 \pm 1.2	6.9 \pm 1.1	6.5 \pm 0.9
70AL	10.0 \pm 0.0	9.5 \pm 0.7	7.9 \pm 0.7	7.5 \pm 1.4	6.9 \pm 1.0	6.6 \pm 1.0	5.9 \pm 1.1
100AL	10.0 \pm 0.0	8.9 \pm 0.7	7.9 \pm 1.0	7.5 \pm 0.8	6.7 \pm 1.2	6.7 \pm 1.4	5.9 \pm 0.9
Textura							
Días hielo							
Dietas	0	2	4	7	10	14	17
AP	9.9 \pm 0.3	9.3 \pm 0.7	8.2 \pm 1.3	7.9 \pm 1.2	6.9 \pm 1.0	6.2 \pm 1.2	5.5 \pm 1.0
70AL	10.0 \pm 0.0	9.1 \pm 0.6	7.8 \pm 0.9	7.3 \pm 0.9	6.5 \pm 1.4	6.1 \pm 1.2	5.3 \pm 0.9
100AL	9.9 \pm 0.3	8.7 \pm 1.1	7.8 \pm 1.3	7.3 \pm 0.7	6.6 \pm 1.2	6.0 \pm 1.4	5.1 \pm 0.7
Aceptación							
Días hielo							
Dietas	0	2	4	7	10	14	17
AP	10.0 \pm 0.2	9.4 \pm 0.4	8.2 \pm 0.9	8.1 \pm 0.9 ^b	7.2 \pm 0.8	6.4 \pm 1.0	5.9 \pm 0.7
70AL	10.0 \pm 0.0	9.3 \pm 0.4	8.0 \pm 0.8	7.4 \pm 0.8 ^{ab}	6.5 \pm 1.0	6.1 \pm 0.9	5.5 \pm 0.5
100AL	10.0 \pm 0.2	8.9 \pm 0.7	7.9 \pm 1.1	7.3 \pm 0.7 ^a	6.6 \pm 0.8	6.2 \pm 1.2	5.4 \pm 0.6

4. DISCUSIÓN

4.1. Análisis fisicoquímico

La inclusión del aceite de lino a un nivel del 70 y 100% en las dietas para dorada no produjo cambios significativos en los valores del pH del músculo en el día 0 en hielo ni a lo largo del almacenaje en hielo. Similares resultados se obtuvieron con un nivel de sustitución del aceite de pescado por aceite de lino del 60 y 80% según Menoyo *et al.*,

(2004). Este parámetro se vio modificado a lo largo del tiempo en hielo estando en concordancia con los resultados presentados por Kyrana *et al.*, (1997), que mostraban una disminución gradual de los valores de pH durante los primeros días de la vida útil en hielo. Este hecho se correspondería por un lado a la producción de ácido láctico como consecuencia de la instauración de un metabolismo anaerobio tras el sacrificio del pescado, y a un aumento posterior relacionado con la producción de compuestos básicos de origen bacteriano. Los valores de pH en pescados frescos y durante su vida útil van a depender de la capacidad tampón del músculo, lo que unido con el comportamiento cambiante del pH durante la vida útil, hacen que este parámetro sea demasiado irregular para ser considerado como parámetro definitivo del grado de frescura.

Las variaciones en las condiciones dieléctricas de la piel y del músculo de los pescados se relacionan con la pérdida de frescura. En este sentido, el GR Torrímetro ha sido descrito como un indicador fiable de la calidad del pescado (sin procesar) almacenado en hielo (Morales *et al.*, 1996). Diversos autores han descrito valores desde 12 hasta 5 unidades almacenando doradas en hielo durante 18 días (Lougovois *et al.*, 2003), o inferiores con periodos más amplios de almacenaje (Tejada *et al.*, 2006). Entre los factores que afectan a las características dieléctricas de los pescados están el contenido graso y las pérdidas de la integridad de la piel y/o el músculo (Pivarnik *et al.*, 1990). La inclusión de aceite de lino en las dietas para dorada produjo cambios en las proporciones de ácidos grasos del músculo como se ha mostrado en el capítulo 6 de la presente tesis, sin embargo estas parecen no conducir a cambios significativos en las lecturas del Torrímetro.

Los valores de NBVT son ampliamente utilizados como indicadores de deterioro oscilando en pescados frescos entre 5 y 20 mg/100 g músculo (Connell, 1995). En el presente estudio, las dietas experimentales no produjeron cambios significativos del NBVT en el filete de la dorada ni en el día 0 ni durante los días del almacenaje en hielo. A lo largo del tiempo de almacenaje, el NBVT siguió una evolución descendiente propia de los pescados de aguas templadas, que parece estar relacionada con la flora acompañante del deterioro (Castro *et al.*, 2006).

La peroxidación lipídica tiene importancia en términos de calidad del pescado debido a su impacto negativo en el flavor, el color y las características alimenticias (Monahan, 2000). Además, Álvarez *et al.*, (1998) han sugerido que las variaciones dietéticas en los piensos para acuicultura producen modificaciones en este parámetro debido a la distinta susceptibilidad oxidativa de las fuentes lipídicas. Si bien, en el día 0 no se apreció ningún efecto de la composición de la dieta sobre los valores del TBARS, durante el almacenaje en hielo los valores de TBARS progresaron en todos los grupos, aunque se encontraron valores más altos y significativamente diferentes en los filetes de doradas alimentadas con la dieta AP. Estos resultados están de acuerdo con los referidos por Menoyo *et al.*, (2004), que encontraron una disminución de la peroxidación lipídica en el músculo de la dorada después del reemplazo del aceite de pescado dietético tanto por aceite de soja como por aceite de lino. Como aspecto destacado, el aumento del nivel de inclusión de AL en la dieta 100AL disminuyó la susceptibilidad de los lípidos a la peroxidación en el filete encontrándose valores de TBARS más bajos. Esta susceptibilidad más baja a la peroxidación lipídica tiene un interés notable durante los periodos de almacenaje en congelación donde la peroxidación lipídica es un factor principal y restrictivo durante el periodo de comercialización (Monahan, 2000).

4.2. Textura

4.2.1 Análisis de la textura en el filete crudo (0-17 días en hielo). La dureza, quizá el parámetro más importante desde el punto de vista de caracterización de la textura, aunque tuvo valores más altos en los filetes de doradas alimentadas con la dieta AP, no fueron suficientemente diferentes para producir diferencias significativas entre grupos al día 0 de almacenaje en hielo. Tampoco fueron encontradas diferencias en dureza con niveles de inclusión del 60 y 80% de AL en la compresión de la carne sobre la dorada entera y sobre la incisión y compresión de la carne en el filete de dorada (Menoyo *et al.*, 2004; Izquierdo *et al.*, 2005). En otras especies como la lubina, ejemplares alimentados con dietas conteniendo el 60 y 80% de AL mostraron también valores más bajos de dureza (Montero *et al.*, 2005) aunque como en el presente estudio las diferencias no fueron

significativas. A lo largo de la vida útil, los cambios más notables de la textura ocurrieron en todos los grupos experimentales durante los primeros cuatro días. Durante este período hubo una disminución acusada de todos los parámetros excepto para la cohesividad. La estabilidad de la cohesividad se puede relacionar con una rigidez cadavérica máxima. Así, durante el periodo de contracción máxima del rigor parece probable que el músculo se contraiga fuertemente después de un estiramiento forzado desarrollando un pico en cohesividad. Esto coincide con el estudio referido por Veland & Torrisen, (1999) en otra especie como es el salmón. Respecto a la disminución de la fracturabilidad observada durante el periodo de almacenaje, esta estaría producida por un debilitamiento del tejido conectivo del músculo (Veland & Torrisen, 1999).

Otros estudios previos en dorada (Alasalvar *et al.*, 2002a), han mostrado que los valores de la dureza variaron desde 7.4 N en el día 1 hasta unos 5 N de dureza en el día 17 de almacén en hielo. En nuestro estudio los valores oscilaron desde aproximadamente 5.9-6.2 N hasta 3.4-3.7 en el día 17.

4.2.2. Análisis de la textura en el filete cocinado (día 0). La tendencia fue similar a lo determinado en la textura en crudo, siendo dureza, gomosidad y masticabilidad significativamente mayores en los filetes de la dieta AP mientras que elasticidad y recuperación caracterizaron a las doradas de las dietas AL. Estas diferencias encontradas pueden deberse principalmente al perfil de ácidos grasos del filete. Así, tal como se ha mostrado en el capítulo 6, el perfil de ácidos grasos del músculo está extremadamente influenciado por la composición dietética. Los filetes de las doradas alimentadas con las dietas de aceite de lino aumentan su contenido en ácidos grasos poliinsaturados, y los filetes de doradas de la dieta AP se caracterizan por un contenido alto de saturados y HUFAs. De modo que estas diferencias en el contenido de ácidos grasos pueden influenciar la valoración de la textura. El contenido graso del filete ha mostrado tener un efecto importante sobre la textura. Concretamente para dorada, Orban *et al.*, (1997), mostraron que un aumento del contenido de grasa, produjo una disminución de la

resistencia a la compresión instrumental pero en el filete crudo. En nuestro caso, el efecto de la composición lipídica del músculo fue más apreciable en el filete cocinado.

4.3. Análisis sensorial

4.3.1. En el pescado crudo

Quality Index Method (QIM) (0-17 días en hielo). Las ventajas del QIM se ponen en evidencia durante el periodo de almacenaje en hielo con el avance de la vida útil del pescado. Independientemente de la dieta, en el día 0 de almacén en hielo no se encontraron diferencias, alcanzándose valores similares a los obtenidos en dorada por Huidobro *et al.*, (2000, 2001). En otras especies, comparando cualidades sensoriales entre lubina salvaje y cultivada mediante el TFRU (Tasmanian Food Research Unit), un esquema de análisis sensorial previo al desarrollo del QIM, no se obtuvo ninguna diferencia en el día 0 de almacén en hielo (Alasalvar *et al.*, 2002b). Durante la vida útil, como fue comentado anteriormente, el QIM ha demostrado tener una buena correlación con el tiempo del almacenaje en hielo. De esta manera y basándonos en esta metodología es posible desarrollar una curva de calibración del número total de deméritos asignados a los pescados (índice de calidad) frente a tiempo del almacenaje en hielo. En el presente estudio, los valores concedidos por el panel aumentaron junto con el tiempo de almacenaje, siendo este aumento homogéneo en todas las dietas probadas y puntos muestrales. Las dietas no produjeron diferencias en la apreciación sensorial de la dorada que produjeran un rechazo temprano en ninguno de los lotes, y no hubo diferencias de aspecto durante los 17 días de vida útil. Alasalvar *et al.*, (2002a) encontró diferencias en las cualidades sensoriales solamente a partir del día 16 en hielo usando el método del TFRU durante un estudio sensorial que comparó la vida útil de la dorada cultivada y salvaje entera no cocinada durante 23 días de almacenaje del hielo.

4.3.2. En el pescado cocinado.

Perfil sensorial (día 0). Los atributos sensoriales de la dorada no se afectaron perceptiblemente con la sustitución parcial y completa del aceite de pescado por aceite de lino en las dietas. Así, la inclusión del aceite de lino parece producir una opinión sensorial no diferente de la determinada con la dieta AP. El flavor de una muestra en boca debe confirmar la apreciación basada en el olor. Así, “aceitoso” y “anormal”, respecto de el olor y el flavor, rindieron resultados similares que los encontrados en los filetes de doradas alimentadas con la dieta AP. Similares resultados, con sustitución parcial al 60 y 80% de AL en la dorada fueron considerados como no perceptiblemente diferentes de los de las doradas alimentadas con una dieta control a base de AP (Izquierdo *et al.*, 2003, 2005). En la lubina, la sustitución del aceite de pescado por aceite de soja alteró las cualidades del olor y del flavor, aunque no de manera significativa (Montero *et al.*, 2005) comparado con otros aceites vegetales como lino y colza.

El aspecto, y particularmente el color, tienen gran importancia desde el punto de vista comercial, estando directamente relacionados con la aceptación o el rechazo del producto por parte del consumidor. La inclusión de 70 o 100% de AL no produjeron un efecto significativo en estos parámetros sobre el aspecto, aunque los filetes de las doradas alimentadas con las dietas AL fueron descritos como más blancos. De igual manera, en doradas alimentadas con dietas conteniendo aceite de lino se encontró una disminución en la intensidad de amarillo y rojo determinada mediante un colorímetro de reflectancia en el filete crudo según Menoyo *et al.*, (2004). En lubina, se determinó solamente una ligera disminución de la intensidad de amarillo en los filetes de las doradas alimentadas con aceite de colza (Montero *et al.*, 2005). Respecto al filete de pescado cocinado, por medio de las descripciones del panel se apreciaron cambios en la coloración del filete de lubina por la inclusión de AL (Izquierdo *et al.*, 2003).

Atributos tales como dureza, tampoco mostraron diferencias entre grupos. Izquierdo *et al.*, (2003) describieron con el perfil sensorial cocinado, una mejor pero no significativa aceptación y dureza en el filete de doradas alimentadas con una dieta conteniendo un 60% de AL que con una dieta 100% AP. La cohesividad fue el parámetro

que más ayudo a diferenciar las dietas a base de AP y AL estando probablemente la composición lipídica del filete implicada en estas diferencias. También dentro de las cualidades de la textura, el aumento de la jugosidad se ha relacionado con los cambios en el perfil del ácidos grasos, mejorando en los filetes de las doradas alimentadas con un nivel de inclusión del 60 y del 80% de AL caracterizados por un contenido más bajo en SFA y más alto en PUFA que los filetes de la dieta AP (Izquierdo *et al.*, 2005). De igual manera, en el presente estudio la jugosidad también alcanzó valores más altos en los filetes de doradas alimentadas con la dieta 100AL que aquellos alimentados con las dietas AP y 70AL.

Aceptación a lo largo de la vida útil (0-17 días en hielo). El grado de aceptación del filete de dorada cocinado a través de la vida útil, a diferencia de lo evaluado con el perfil sensorial, pretende determinar la magnitud y sentido de los cambios que condicionan el mayor o menor agrado que se obtiene del producto, todo ello en base a la información previa que los panelistas tienen como consumidores habituales de pescado. Así, el objetivo principal del estudio de aceptación es determinar cuando los pescados llegan a ser inaceptables y especialmente, en este caso, si la inclusión de AL en las dietas de la dorada modifica o reduce la aceptación de la dorada durante el tiempo de conservación en hielo. En esta escala el valor 10 muestra pescados absolutamente frescos y valores iguales o inferiores a 3 corresponden a pescado completamente deteriorado (Alasavar *et al.*, 2001). En el presente estudio los valores mínimos concedidos fueron de 5 unidades a los 17 días de almacenaje en hielo, no siendo considerado inaceptable por los miembros del grupo de expertos. Estos resultados concuerdan con los divulgados por otros autores para la misma especie (Kyraña *et al.*, 1997, Huidobro *et al.*, 2001). El perfil sensorial cocinado de la dorada durante la vida útil comparando distintos métodos de sacrificio (Huidobro, 2001) o comparando la dorada salvaje y cultivada (Alasavar *et al.*, 2001) tampoco mostró diferencias significativas a través de la vida útil en hielo. Cuando se realiza una substitución del aceite de pescado por aceites vegetales, la compleja composición de ácidos grasos producida en el filete podría conllevar a una diversa

formación de compuestos volátiles, por la acción de los organismos específicos del deterioro. Sin embargo, el cocinado de las muestras puede enmascarar estos cambios de composición, principalmente el olor, y evaluar como aceptable o sin diferencias, lo que en crudo sería catalogado como diferente. Con el desarrollo de las técnicas cromatográficas (GC-MS), Grigorakis *et al.*, (2003b, 2009) han determinado gran cantidad de estos complejos volátiles en el pescado crudo, que incluso son característicos de cada especie. Con esta tecnología, aplicada a pescado cocinado, se podrían cuantificar las pequeñas variaciones difíciles de apreciar mediante la evaluación sensorial.

5. CONCLUSIONES

El resultado de este estudio indica que la sustitución parcial y completa del aceite de pescado por aceite de lino en las dietas para dorada no modifica la calidad desde punto de vista fisicoquímico. Como factor favorable, una disminución de la susceptibilidad de la oxidación lipídica determinada a partir de los valores de TBARS fue encontrada cuando se alimenta las doradas con dietas formuladas a base de AL. La textura instrumental en filete crudo no fue afectada substancialmente por la inclusión del aceite de lino. En el filete de dorada cocinado, las distintas dietas experimentales produjeron diferencias en la mayoría de parámetros de textura instrumental analizados. Desde el punto de vista sensorial no se apreciaron diferencias entre grupos experimentales.

6. AGRADECIMIENTOS

Agradecer al Gobierno de España bajo el programa del Plan Nacional I+D+I 2004, proyecto nº AGL2004-08151-C03-01 que financió este estudio.



CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES

1ª. La vida útil de la dorada conservada en hielo desde el punto de vista del baremo de clasificación de la frescura del pescado blanco es inferior a los 18 días, siendo los valores máximos de NBVT 30mg/100g.

2ª. Cuando la lubina es considerada inaceptable desde el punto del baremo de clasificación de la frescura del pescado blanco a los 18 días, los valores de NBVT no registraron incrementos significativos, y por tanto no debe considerarse el NBVT adecuado para determinar la vida útil en esta especie.

3ª. La determinación de NBVT puede ser realizada tanto en extractos conservados a 4 °C durante siete días como en congelación (-20/-80° C) durante 60 días, sin verse alterados los resultados con respecto a la determinación inmediata en fresco.

4ª. Las modificaciones en la composición de ácidos grasos del filete de dorada debido a la inclusión de aceite de lino, destacando el aumento del ácido linolénico y linoleico como la disminución en HUFA, se mantienen a lo largo de la vida útil.

5ª. Las modificaciones del perfil lipídico de los filetes de doradas alimentadas con aceite de lino son menos susceptibles a la oxidación lipídica durante todo el periodo del almacenamiento en hielo.

6ª. La evolución del NBVT a lo largo de la vida útil del filete no se vio alterada por la inclusión de aceite de lino en la dieta para dorada.

7ª. Los parámetros físicos (pH, conductividad eléctrica, textura) que determinan la frescura del filete y su calidad no se modificaron por la sustitución parcial y completa del aceite de pescado por aceite de lino durante la vida útil del filete de dorada crudo. Sin embargo, la inclusión de aceite de lino varió los parámetros de textura instrumental en el filete de dorada cocinado.

8ª. Los atributos sensoriales del filete así como su aceptación a lo largo de la vida útil no cambiaron al incluir aceite de lino en la dieta para dorada.



BIBLIOGRAFÍA

9. BIBLIOGRAFÍA

- ACKMAN, R.G. & TAKEUCHI, T. (1986). Comparison of fatty acids and lipids of smolting hatchery fed and wild Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids*, 21: 117-120.
- ACKMAN, R.G. (2008). Fatty acids in fish and shellfish. In *Fatty Acids in Foods and Their Health Implications*, 3rd edition (pp 153-174). Eds. C. K. Chow, Marcel Dekker, New York.
- ALASALVAR, C., TAYLOR, K.D.A., ÖKSÜZ, A., GARTHWAITE, T., ALEXIS, M.N. & GRIGORAKIS, K. (2001). Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chemistry*, 72: 33–40.
- ALASALVAR, C., TAYLOR, K.D.A. & SHAHIDI, F. (2002a). Comparative Quality Assessment of Cultured and Wild Sea Bream (*Sparus aurata*) Stored in Ice. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 2039–2045.
- ALASALVAR, C., TAYLOR, K.D.A., ÖKSÜZ, A., SHAHIDI, F. & ALEXIS, M. (2002b). Comparison of freshness quality of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *J Food Sci.*, 67(9): 3220–3226.
- ALI, S.S., KASOJU, N., LUTHRA, A., SINGH, A., SHARANABASAVA, H., SAHU, A., & BORA, U. (2007). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1): 1-15.
- ÁLVAREZ, M.J., LOPEZ-BOTE, C.J., DIEZ, A., CORRAZE, G., ARZEL, J., DIAS, J., KAUSHIK, S.J. & BAUTISTA, J.M. (1998). Dietary fish oil and digestible protein modify susceptibility to lipid peroxidation in the muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *British J. Nutr.*, 80: 281-289.
- ANDO, M., NISHIYABU, A., TSUKAMASA, Y. & MAKINODAN, Y. (1999). Postmortem softening of fish muscle during chilled storage as affected by bleeding. *J. of Food Sci.*, 64 (3): 423-428.
- ANTONACOPOULOS, N. (1968). In Acker, I. (ed) *Handbuch der Lebensmittelchemie*, Bd III/2. Springer Verlag, Berlin. 1493-1494.

- AOAC. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, 16TH ED. (1995). Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC.
- AOKI, H., SHIMAZU, H., FUKUSHIGE, T., AKANO, H., YAMAGATA, Y. & WATANABE, T. (1996). Flesh quality in red sea bream fed with diet containing a combination of different protein sources as total substitution for fish meal. *Bull. Fish. Res. Inst. Mie.*, 6: 47–54.
- APROMAR (2007). Informe APROMAR sobre la acuicultura marina de peces en España 2007.
- APROMAR (2009). Informe APROMAR sobre la acuicultura marina de peces en España 2009.
- AUDLEY, M.A., SHETTY, K.J. & KINSELLA, J.E. (1978). Isolation and properties of phospholipase A from pollock muscle. *Journal of Food Science*, 43: 1771–1775.
- AYALA, M.D., ABDELA, I., SANTAELLA, M., MARTÍNEZ, C., PERIAGO M.J., GIL, F., BLANCO, A., & LÓPEZ ALBORS, O. (2010). Muscle tissue structural changes and texture development in sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem storage. *LWT - Food Science and Technology* 43, 3: 465-475
- BCHANG, K.L., CHANG, J., YUAN, C. & PAN, B.S. (1998). Biochemical, microbiological and sensory changes of sea bass (*LateLabrax japonicus*) under partial freezing storage. *J. Agric. Food Chem.*, 46 (2): 682-686.
- BHALE, S.D., XU, Z., PRINYAWIWATKUL, W., KING, J.M. & GODBER, J.S. (2007). Oregano and Rosemary Extracts Inhibit Oxidation of Long-Chain n-3 Fatty Acids in Menhaden. *Oil Journal of Food Science*, 72 (9): 504-508
- BITO, M., YAMADA, K., MIKUNO, Y. & AMANO, K. (1983). Studies on the rigor mortis of fish I. Difference on the mode of rigor mortis among some varieties of fish by modified Cutting's method. *Bul Tokai reg Fish Res Lab.*, 109: 89.
- BOTTA, J.R. (1991). Instrument for non destructive texture measurement of raw Atlantic cod (*Gadus morhua*) fillet. *Journal of Food Science*, 52: 928.
- BOTTA, J.R. (1995). Evaluation of Seafood Freshness Quality. VSH. Publisher, United Stated of America: 180.

- BREMNER, H.A. & SAKAGUCHI, M. (2000). A critical look at whether 'Freshness' can be determined. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 9 (3): 5–25.
- BRINK, B., DAMIRIK, C., JOOSTEN, H.M.L.J. & HUIS IN'T VELD, J.H.J. (1990). Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int J Food Microbiol.*, 11: 73-84.
- BURNS, B.G. & KE, P.J. (1985). Liquid chromatographic determination of hypoxanthine content in fish tissue. *J. Assoc. Off. Ana. Chem.*, 68: 444-448.
- CABALLERO, M.J., OBACH, A., ROSEN LUND, G., MONTERO, D., GISVOLD, M. & IZQUIERDO, M.S. (2002). Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 214: 253-271.
- CABALLERO, M.J., BETANCOR, M., ESCRIG, J.M., MONTERO, D., ESPINOSA DE LOS MONTEROS, A., CASTRO, P., GINÉS, R. & IZQUIERDO, M. (2009). Post mortem changes produced in the muscle of sea bream (*Sparus aurata*) during ice storage. *Aquaculture* 291: 210-216.
- CAKLI, S., KILINC, B., CADUN, A. & TOLASA, S. (2006). Effects of using slurry ice on the microbiological, chemical and sensory assessments of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored at 4 °C. *European Food Research and Technology*, 222 (1-2): 130-138.
- CARBONELL, I., IZQUIERDO, L. & COSTELL, E. (2002): Sensory profiling of cooked gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Sensory evaluation procedures and panel training. *Food Sci. Tech. Int.*, 8: 169–177.
- CARBONELL, I., DURAN, L., IZQUIERDO, L. & COSTELL, E. (2003). Texture of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Instrumental and sensory measurement. *Journal of Texture Studies*, 34: 203–217.
- CASTELL, C.H. & SNOW, J.M. (1949). The effect of pH on the enzymatic reduction of trimethylamine oxide. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 7: 561-562.

- CASTRO, P., PENEDO, J.C., CABALLERO, M.J., SANJUÁN, E. & MILLÁN, R. (2006). Total volatile base nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice. *Food Control*. 17: 245-248.
- CASTRO, P., CABALLERO, M.J., MILLÁN, R., GINÉS, R., MONTERO, D. & IZQUIERDO, M. (2010). Linseed oil inclusion in sea bream diets: Effect on fatty acid composition during ice storage. En prensa. DOI: 10.1002/ejlt.200900240.
- CEE. (1976). Reglamento 103. Normas comunes para la comercialización de productos de la pesca. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, L30:29.
- CEE. (1995). Total volatile basic nitrogen (TVB-N) limit values for certain categories of fishery products and specifying the analysis methods to be used. Commission Decision 95/149/EEC of 8 March 1995, *Official Journal of European Communities*, L97: 84–87.
- CEE. (1996). Reglamento 2406. Normas comunes para la comercialización de productos de la pesca. *Diario Oficial de las Comunidades Europeas*, L334:1229.
- CEE. (2005). Commission Regulation 2074/2005/CEE of 5 December 2005 laying down implementing measures for certain products. *Official Journal series*, L338: 36-39.
- CEE. (2006). Directive 2006/52/CEE of the European Parliament and of the Council of 5 July 2006 amending Directive 95/2/CEE on food additives other than colours and sweeteners and Directive 94/35/CEE on sweeteners for use in foodstuffs.
- CHAIJAN, M., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W. & FAUSTMAN, C. (2006). Changes of lipids in sardine (*Sardinella gibbosa*) muscle during iced storage. *Food Chemistry*, 99: 83-91.
- CHARM, S.E., LEARSON, R.J., ROSIVALLI, L.J. & SCHWARTZ, M. (1972). Organoleptic technique predicts refrigeration shelf life of fish. *Food Technol.*, 26: 65-68.
- CHERET, R., DELBARRE-LADRAT, C., VERREZ-BAGNIS, V. & DE LAMBALLERIE-ANTON, M. (2007). Effect of High Pressure on the Calpain–Calpastatin System in Fish Muscle. *Journal of fish Science*, 72 (6): 313-316.
- CHOULIARA, I., SAVVIDIS, I.N., RIGANAKOS, K. & KONTAMINAS, M.G. (2004). Preservation of salted, vacuum-packaged, refrigerated sea bream (*Sparus aurata*) fillets by

- irradiation: microbiological, chemical and sensory attributes. *Food Microbiol.*, 21(3): 351–359.
- CHOULIARA, I., SAVVAIDIS, I.N., PANAGIOTAKIS, N. & KONTAMINAS, M.G. (2005). Shelf life extensión of vacuum-packaged sea bream (*Sparus aurata*) fillets combined alpha-irradiation and refrigeration. Microbiological, chemical and sensory changes. *Journal of food science of Food and Agriculture*, 85: 779-784.
- CODEx ALIMENTARIUS (1968). Method for determination of total volatile basic nitrogen (TVB) in fish muscle. Presented to the codex Committee on Fish and Fishery Products, 3rd session, Bergen (Norway) as Codex Fish 1/7.
- CONNELL, J.J. (1995). Control of fish quality. 4th edn. 157: 159-160. Farnham, Surrey: Fishing news (Books) Ltd.
- CHRISTIE, W.W. (2003). *Lipid Analysis*, 3th edition (277) Pergamon, Oxford.
- CURRAN, C.A. & DISNEY, J. (1979). The iced storage life of tropical fish. Paper present at IPFC Workshop on fish technology. Jakarta, Indonesia, September.
- DALGAARD, P., GRAM, L. & HUSS, H.H. (1993). Spoilage and shelf-life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres, *International Journal of Food Microbiology* 19: 283–294.
- DALGAARD, P. (1995). Modelling of microbial activity and prediction of shelf life for packed fresh fish. *Int. J. Food Microbiol.*, 26: 305-317.
- DALGAARD, P., MEJLHOLM, O., CHRISTIANSEN, T.J. & HUSS, H.H. (1997). Importance of *Photobacterium phosphoreum* in relation to spoilage of MAP fish products. *Lett. Appl. Microbiol.* 24, 373-378.
- DAVIES, A.R. (1997). Modified-atmosphere packaging of fish and fish products. In: G.M. Hall, Editor, *Fish processing technology* (2nd ed.), Blackie Academic and Professional, London (1997): 200–223.
- DE FRANCESCO, M., PARISI, G., MEDALE, F., LUPI, P., KAUSHIK, S.J. & POLI, B.M. (2004). Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 236: 413–429.

- DE FRANCESCO, M., PARISI, G., PEREZ-SANCHEZ, J., GOMEZ-REQUENI, P., MEDALE, F., KAUSHIK, S.J., MECATTI, M. & POLI, B.M. (2007). Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. *Aquaculture nutrition*, 13 (12): 361-372.
- DELBARRE-LADRAT, C., CHERET, R., TAYLOR, R. & VERREZBAGNIS, V. (2006). Trends in Post mortem aging in fish: understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46: 409-421.
- DIN, J.N., NEWBY, D.E. & FLAPAN, A.D. (2004). Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease-fishing for a natural treatment. *B.M.J.*, 328: 30-35.
- DROSINOS, E.H. & NYCHAS, G.J.E. (1996). *Brochothrix thermosphacta*, a dominant organism in Mediterranean fresh fish (*Sparus aurata*) stored under modified atmosphere. *Ital. J. Food Sci.*, 4: 323-329.
- EHIRA, S. & UCHIYAMA, H. (1986). Determination of fish. Kramer, D. E.; Liston, J. (ed.). *Seafoods quality determination. Proceedings of an international symposium coordinated by the University of Alaska. Anchorage, Alaska, USA. Elsevier Publishers, Amsterdam: 185-207.*
- EHLERMANN, D.A.E., & REINACHER, E. (1978). Some conclusions from shipboard experiments on the radurization of the whole fish in the Federal Republic of Germany In: *Food Preservation by Irradiation, Vol. 1. International Atomic energy, Vienna: 321.*
- ELLIOT, R.P. (1952). Reduction of trimethylamine oxide in dogfish. *Food Research*, 17: 225-233.
- ERKAN, N. & ÖZDEN, Ö. (2007). Proximate composition and mineral contents in aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sea bream (*Sparus aurata*) analyzed by ICP-MS. *Food Chemistry*, 102: 721-725
- FAO. FISHERIES DEPARTMENT (2002). *The State of World Fisheries and Aquaculture.* Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy.

- FAO. FISHERIES DEPARTMENT (2004). The State of World Fisheries and Aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy.
- FAO/IAEA/WHO (2005). Wholesomeness of Irradiated Food. WHO, Geneva. www.who.int/mediacentre/fsctsheets/
- FAO/WHO. FOOD STANDARDS (2005). Codex Alimentarius. General Standard for Food Additives Codex, Rev. 6.
- FAO (2007). La contribución de la acuicultura al desarrollo sostenible. 34 periodo de sesiones. Roma 17-24 septiembre 2007.
- FAO, FISHERIES DEPARTMENT (2009). The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. Fisheries and Aquaculture Department. Rome, Italy.
- FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE-STANLEY, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509.
- FEAP. The Federation of European Aquaculture Producers. (2010). Aquamedia, Aquaculture in the European Union. <http://www.aquamedia.org>.
- GELMAN, A., PASTEUR, R. & RAVE, M. (1990) Quality changes and storage life of common carp (*Cyprinus carpio*) at various storage temperatures. *Journal of Science Food and Agriculture*, 52: 231-247.
- GIMENEZ, B., RONCALES, P. & BELTRAN, J.A. (2004). The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilt-head sea bream fillets (*Sparus aurata*) packaged in a modified atmosphere, *Journal of the Science of Food Agric.*, 84: 1053-1060.
- GINES, R., VALDIMARSDOTTIR, T., SVEINSDOTTIR, K. & THORARENSEN, H. (2004). Effects of rearing temperature and strain on sensory characteristics, texture, colour and fat of Arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Food Quality and Preference*, 15: 177-185.
- GONZÁLEZ, M.A., PENEDO, J.C., MILLÁN, R., SANJUÁN E. & ESTUPIÑÁN, S. (2000). Cambios en la vida útil de la dorada acuacultivada en Canarias (*Sparus aurata*) conservada en hielo. *Alimentaria*, 310: 61-64.

- GOULAS, A.E. & KONTOMINAS M.G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100: 287-296.
- GRAM, L., OUNDO, J. & BON, J. (1989). Storage life of Nile perch (*Lates niloticus*) dependent on storage temperature and initial bacterial load. *Tropical Science*, 29: 221-236.
- GRAM, L., WEDELL-NEERGAARD, C. & HUSS, H.H. (1990). The bacteriology of fresh and spoiling Lake Victorian Nile perch (*Lates niloticus*). *International Journal of Food Microbiology*, 10 (3-4): 303-316.
- GRIGORAKIS, K. (1999). Quality of cultured and wild gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). PhD thesis, University of Lincolnshire and Humberside.
- GRIGORAKIS, K., TAYLOR, K.D.A. & ALEXIS, M.N. (2003a). Seasonal patterns of spoilage of ice-stored cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chemistry*, 81: 263-268.
- GRIGORAKIS, K., TAYLOR, K.D.A. & ALEXIS, M.N. (2003b). Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis. *Aquaculture*, 225: 109-119.
- GRIGORAKIS, K. (2007). Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*S. aurata*) and sea bass (*D. labrax*) and factors affecting it: a review. *Aquaculture*, 272: 55-75.
- GRIGORAKIS, K., FOUNTOULAKIA, E., GIOGIOSA, I. & ALEXIS, M.N. (2009). Volatile compounds and organoleptic qualities of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed commercial diets containing different lipid sources *Aquaculture*, 290 (1-2): 116-121.
- GUERIN, M., HUNTLEY, M.E. & OLAIZOLA, M. (2003). *Haematococcus astaxanthin*: Applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, 21 (5): 210-216.

- GUILLOU, A., SOUCY, P., KHALIL, M. & ADAMBOUNOU, L. (1995). Effects of dietary vegetable and marine lipid on growth, muscle fatty acid composition and organoleptic quality of flesh of brook charr (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 136: 351-362.
- HALÁSZ, A., BARÁTH, A., SIMON-SARKADI, L. & HOLZAPFEL, W. (1994). Biogenic amine and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Tech.*, 5: 42-49.
- HALL, G.M. (1997). *Fish Processing Technology*. Blackie academic and professional 2-6 boundary road London.
- HEBARD, C.E., FLICK, G.J. & MARTIN, R.E. (1982). Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish. En: Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E. (Ed.), *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. AVI, Westport, CT, USA, AVI.: 149-204.
- HITE, B.H. (1899). The effect of pressure in the preservation of milk, *Bulletin of West Virginia University of Agriculture Experimental Station Morgantown*, 58: 15–35.
- HOLLINGWORTH, T.A., WEKELL, M.M., SULLIVAN, J.J., TORKELESON, J.D. & THROM, H.R. (1990). Chemical indicators of decomposition for raw surimi and flaked artificial crab. *J. Food Sci.*, 55 (2): 349-352.
- HOUJAJI, N. (2000). The application of high pressure treatment and its effect on the quality attributes. M.Sc Thesis, Department of Food Science and Agricultural Chemistry, Macdonald Campus of McGill University, Montreal, Quebec, Canada: 14-28.
- HUIDOBRO, A. & TEJADA, M. (1990). Determinación analítica de los compuestos nitrogenados no proteicos en el músculo de pescado. Aplicación al control de calidad. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 30: 293-302.
- HUIDOBRO, A., PASTOR, A. & TEJADA, M. (2000). Quality index method developed for raw gilthead seabream (*Sparus aurata*). *J. of Food Science*, 65: 1202–1205.
- HUIDOBRO, A., MENDES, R. & NUNES, M. (2001). Slaughtering of gilthead seabream (*Sparus aurata*) in liquid ice: influence on fish quality. *European Food Research and Technology*, 213: 267-272.
- HURLING, R., RODELL, J.B. & HUNT, H.D. (1996). Fibre diameter and fish texture. *J. Texture Studies* 27: 679–685.

- HURTADO, J.L., MONTERO, P. & BORDERÍAS, J. (2000) Extension of shelf life of chilled hake (*Merluccius capensis*) by high pressure, Food Science and Technology International, 6: 243–249.
- HUSS, H.H., DALSGAARD, D., HANSEN, L., LADEFOGED, H., PEDERSEN, A. & ZITTAN, L. (1974). The influence of hygiene in catch handling on the storage life of iced cod and plaice. J. Food Technol., 9: 213-221.
- HUSS, H.H. (1995). Fresh fish-quality and quality changes. FAO Fisheries Series No 29. Roma, 33-50.
- HUSS, H.H. (1996). Predictive modelling of shelf life of fish and meat products. Danish Institute for Fisheries Research (DIFRES). Proyecto AIR2-CT93-1251, Draft Final Report: 36.
- ISO 6658 (2005). International Standard: Sensory analysis – methodology – general guidance.
- ISO 8589 (2007). International Standard: Sensory analysis -- General guidance for the design of test rooms.
- ISO 5492 (2008). International Standard: Sensory analysis – Vocabulary.
- IVERSEN, E.S. (1982). Cultivos Marinos. Ed. Acribia. Zaragoza.
- IWAMOTO, M., YAMANAKA, H., WATABE, S. & HASHIMOTO, K. (1987). Effects of storage temperature on rigor mortis and ATP degradation in plaice (*Paralichthys olivaceus*) muscle. J. Food Sci., 52: 1514–1517.
- IZQUIERDO, M.S., WATANABE, T., TAKEUCHI, T., ARAKAWA, T. & KITAJIMA, C. (1990) Optimum EFA levels in Artemia to meet the EFA requirements of red sea bream (*Pagrus major*). In: The Current Status of Fish Nutrition in Aquaculture, (221–232) (ed. by M. Takeda & T. Watanabe), Tokyo University of Fisheries, Tokyo.
- IZQUIERDO, M.S., OBACH, A., ARANTZAMENDI, L., MONTERO, D., ROBAINA, L. & ROSENLUND, G. (2003). Dietary lipid sources for sea bream and sea bass: growth performance, tissue composition and flesh quality. Aquaculture Nutrition, 9: 397–407.
- IZQUIERDO, M.S., MONTERO, D., ROBAINA, L., CABALLERO, M.J., ROSENLUND, G. & GINÉS, R. (2005). Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in gilthead seabream

- (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture*, 250: 431-444.
- KAUSHIK, S.J., CRAVEDI, J.P., LALLES, J.P., SUMPTER, J., FAUCONNEAU, B. & LAROCHE, M. (1995). Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 133: 257–274.
- KIETZMANN, U., PRIEBA, K., RAKOW, D. & REICHSTEIN, K. (1974). Inspección veterinaria del pescado. Editorial Acribia. Zaragoza: 326.
- KILINC, B., CAKLI, S., CADUN, A., DINCER, T. & TOLASA, S. (2007). Comparison of effects of slurry ice and flake ice pretreatments on the quality of aquacultured sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored at 4 °C. *Food Chemistry*, 104 (4): 1611-1617.
- KODAIRA, M., TOME, E. & PÉREZ, M. (2001). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre los cambios post-mortem y frescura en híbridos de Cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) cultivados. *An Venez Nutr.* 14 (2): 53-59.
- KOUTSOUMANIS, K., GIANNAKOUROU, M.C., TAOUKIS, P.S. & NYCHAS, G.J.E. (2002). Application of shelf life decision system (SLDS) to marine cultured fish quality. *International Journal of Food Microbiology*, 73: 375-382.
- KYRANA, V.R., LOUGOVOIS, V.P. & VALSAMIS, D.S. (1997). Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 32: 339–347.
- KYRANA, V.R. & LOUGOVOIS, V.P. (2002). Sensory, chemical and microbiological assessment of farm-raised European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 319-328.
- LAMBOUIJ, E., KLOOSTERBOER, R.J., GERRITZEN, M.A. & VAN DE VIS, J.W. (2004). Head-only electrical stunning and bleeding of African catfish (*Clarias gariepinus*): assessment of loss of consciousness. *Anim. Welfare*, 13: 71–76.
- LEHANE, L. & OLLEY, J. (2000). Histamine fish poisoning revisited. *International Journal of Food Microbiology* 58: 1–37.

- LINES, J.A., ROBB, D.H., KESTIN, S.C., CROOK, S.C. & BENSON, T. (2003). Electric stunning: a humane slaughter method for trout. *Aquacult. Eng.*, 28: 141–154.
- LOUGOVOIS, V.P., KYRANAS, E.R. & KYRANA, V.R. (2003). Comparison of selected methods of assessing freshness quality and remaining storage life of iced gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Research International*, 36 (6): 551–560.
- LOWE, T.E., RYDER, J.M., CARRAGHER, J.F. & WELLS, R.M.G. (1993). Flesh quality in snapper (*Pagrus auratus*) affected by capture stress. *J. Food Sci.*, 58: 770–773.
- LUNDSTROM, R.C. & RACICOT, L.D. (1983). Gas chromatographic determination of dimethylamine and trimethylamine in seafoods. *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, 66: 1158-1163.
- LUONG, J., MALE, K., MASSON, C. & NGUYEN, A. (1992). Hypoxanthine ratio determination in fish extracts using capillary electrophoresis and immobilized enzymes. *J. Food Sci.*, 57: 77-81.
- LYVER, A. (1997). Formation, shelf-life and safety studies on value-added seafood products. M.Sc. Thesis. Department of Food Science and Agricultural Chemistry, MacDonald Campus, McGill University. Montreal, Quebec, M. Sc, Thesis: 200.
- MAPA. MINISTERIO DE MEDIO AMBIENTE Y MEDIO RURAL Y MARINO. (2009). La pesca en España, indicadores. Agosto 2009.
- MARINÉ-FONT, A., VIDAL-CAROU, M.C., IZQUIERDO-PULIDO, M. & VECIANA-NOGUÉS, M.T. (1995). Aminas biógenas en alimentos: unos microcomponentes de interés múltiple. *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*, 1 (4): 138-141.
- MARTIN, R.E. (1988). Seafood products, technology, and research in the U.S. *Food Technol.* 42(3): 58-62.
- MASSA, A.E. (2006). Cambios bioquímicos *post-mortem* en el músculo de diferentes especies pesqueras. Determinación de la vida útil de las mismas en frío. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Exactas y Biología, Departamento de Biología, Universidad Nacional Mar de Plata.
- MENOYO, D., IZQUIERDO, M.S., ROBAINA, L., GINÉS, R., LÓPEZ-BOTE, C.J. & BAUTISTA, J.M. (2004). Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in

- gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. *British Journal of Nutrition*, 92: 41-52.
- MENOYO, D., LÓPEZ-BOTE, C.J., OBACH, D. & BAUTISTA, J.M. (2005). Effect of dietary fish oil substitution with linseed oil on the performance, tissue fatty acid profile, metabolism, and oxidative stability of Atlantic salmon. *J. Anim. Sci.*, 83: 2853-2862.
- MOLINA-GARCIA, A.D. & SANZ, P.D. (2002). *Anisakis simplex* larva killed by high-hydrostatic-pressure processing. *Journal of Food Protection*, 65 (2):383-388.
- MONAHAN, F.J. (2000). Oxidation of lipids in muscle foods: Fundamentals and applied concerns. Pages 3–24 in *Antioxidants in Muscle Foods*. E.A. Decker, C. Faustman, and C. J. López-Bote. eds. Wiley & Sons, Inc., New York, NY.
- MONTERO, D., ROBAINA, L., CABALLERO, M.J., GINÉS, R. & IZQUIERDO, M.S. (2005). Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture*, 248: 121–134.
- MONTERO, D., GRASSO, V., IZQUIERDO, M.S., GANGA, R., REAL, F., TORT. L., CABALLERO, M.J. & ACOSTA, F. (2008). Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish Shellfish immunology*, 24: 147-155.
- MORALES, P., HAZA, A.I., IKKEN, Y., MARTINEZ, A., SANZ B., & HERNÁNDEZ, P.E. (1996). Freshness and quality of fish: Inspection and evaluation. II. Evaluation methods, *Alimentación Equipos y Tecnología*, 15: 139–147.
- MOREIRA, A.B., VISENTAINER, J.V., DE SOUZA, N.E. & MATSUSHITA, M. (2001). Fatty acids profile and cholesterol contents of three Brazilian Brycon freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14: 565–574.
- MØRKØRE, T., NETTEBERG, C., JOHNSSON, L. & PICKOVA, J. (2007). Impact of dietary oil source on product quality of farmed Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, 267: 236–247.

- MSC, MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO (1991). Real Decreto 1521/1991. Orden del 2 de agosto de 1991 por la que se aprueban las normas microbiológicas, los límites de contenido en metales pesados y los métodos analíticos para la determinación de metales pesados para los productos de la pesca y de la acuicultura, Boletín Oficial del Estado, 195: 27513-27515.
- NAIR, R.B., THARAMANI, P.K. & LAHIRI, N.L. (1971). Studies on the chilled storage on fresh waterfish I. changes occurring during iced storage. J. Food Sci. Technol., 11: 118-124.
- NG, W.K. & BAHURMIZ, O.M. (2009). The impact of dietary oil source and frozen storage on the physical, chemical and sensorial quality of fillets from market-size red hybrid tilapia, *Oreochromis sp.* Food Chemistry, 113: 1041-1048.
- NIXON, P.A. (1971). Temperature integration as a means of assessing storage conditions. In: Report on Quality in Fish Products, Seminar No. 3, Fishing Industry Board, Wellington, New Zealand, 34-44.
- ÓLAFSDÓTTIR, G., MARTINSDÓTTIR, E., OEHELENSCHLÄGER, J., DALGAARD, P., JENSEN, B., UNDELAND, I., MACKIE, I.M., HENEHAN, G., NIELSEN, J., & NILSEN, H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. Trends in Food Science & Technology, 8 (8): 258-265.
- ÓLAFSDÓTTIR, G., NESVADBA, P., DI NATALE, C., CARECHE, M., OEHELENSCHLÄGER, J., TRYGGVADÓTTIR, S., SCHUBRING, R., KROEGER, M., HEIA, K., ESAIASSEN, M., MACAGNANO, A. & JORGENSEN, B.M. (2004). Multisensor for fish quality determination. Trends Food Sci Tech, 15: 86-93.
- OLLEY, J. & QUARMBY, A.R. (1981). Spoilage of fish from Hong Kong at different storage temperature III. Prediction of storage life at higher temperatures, based on storage behaviour at 0 °C, and a simple visual technique for comparing taste panel and objective assessment of deterioration. Trop. Sci., 23: 147-153.
- ORBAN, E., SINESIO, F. & PAOLETTI, F. (1997). The functional properties of the proteins, texture and the sensory characteristics of frozen sea bream fillets (*Sparus aurata*) from different farming systems. Lebensm.-Wiss. Technol., 30: 214–217.

- ÖZDEN, Ö. (2005). Changes in amino acid and fatty acid composition during shelf-life of marinated fish. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85: 2015-2020.
- ÖZOGUL, F., ÖZDEN, Ö., ÖZOĞUL, Y. & ERKAN, N. (2010) The effects of gamma-irradiation on the nucleotide degradation compounds in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Chemistry*, 122 (3): 789-794.
- PAPADOPOULOS, V., CHOULIARA, I., BADEKA, A., SAVVAIDIS, I.N. & KONTOMINAS, M.G. (2003). Effect of gutting on microbiological, chemical, and sensory properties of aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Food Microbiology*, 20 (4): 411-420.
- PASCUAL-ANDERSON, M.R. (2000). *Microbiología alimentaria. Metodología para alimentos y bebidas* (441). Ed. Diaz de Santos S.A., 2ª Edición. Madrid.
- PEDROSA-MENABRITO, A. & REGENSTEIN, J.M. (1988). Shelf-life extension of fresh fish. A review. Spoilage of fish. *Journal of Food Quality*, 2: 117-127.
- PIEDECAUSA, M.A., MAZON, M.J., GARCIA-GARCIA, B. & HERNANDEZ, M.D. (2007). Effects of total replacement of fish oil by vegetable oil in the diets of sharp snout sea bream (*Diplodus pintazzo*). *Aquaculture*, 263, 211-219.
- PIRINI, M., GATTA, P.P., TESTI, S., TRIGARI, G. & MONETTI, P.G. (2000). Effect of refrigerated storage on muscle lipid quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed on diets containing different levels of vitamin E. *Food Chemistry*, 68: 289–293.
- PIVARNIK, L.F., KAZANTZIS, D., KARAKOLTSIDIS, P.A., CONSTANTINIDES, S., JHAVERI, S.N. & RAND, A.G. (1990). Freshness assessment of six New England fish species using the Torrymeter. *J. Food Sci.*, 55: 79–82.
- PONS, S. (2005). Estudio para las alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del Boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y sus derivados. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia. Departamento de Nutrición y Bromatología, Universidad de Barcelona.
- PROCTOR, B.E., NICKERSON, I.T., FAZZINI, T.C., ROSIVALLI, L., SMITH, R.K. & STERN, Y. (1959). *Food Technology*, 13: 224-228.

- QUEVEDO, J. (1996). Piscicultura: la revolución pendiente. Canarias, Agraria y Pesquera, 33: 37-39.
- RANKEN, M.D. (1993). Manual de Industrias de los Alimentos. Ed. Acribia, Zaragoza.
- RAO, A.V. & RAO, L.G. (2007) Carotenoids and human health. Pharmacological Research, 55 (3): 207-216.
- RASMUSSEN, R.S. (2001). Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield and sensory characteristics. Aquaculture Research 32 (10): 767–786.
- REAL DECRETO 1437 (1992). Por el que se fijan las normas sanitarias aplicables a la producción y comercialización de los productos pesqueros y de la acuicultura.
- REGENSTEIN, J.M. & REGENSTEIN, E.C. (1991). Specialty products and by-products: Introduction to fish technology (169–174), Van Nostrand Reinhold, New York.
- REGOST, C., ARZEL, J., CARDINAL, M., ROBIN, J., LAROCHE, M. & KAUSHIK, S.J. (2001). Dietary lipid level, hepatic lipogenesis and flesh quality in turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture, 193: 291-309.
- REINITZ, G.L., ORME, F.L. & HITZEL, F.N. (1979). Variations of body composition and growth among strains of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc., 108: 204-207.
- ROBB, D.H.F. & KESTIN, S.C. (2002). Methods used to kill fish: Field observations and literature reviewed. Anim. Welfare, 11: 269–82.
- RODRÍGUEZ, Ó., BARROS-VELÁZQUEZ, J., OJEA, A., PIÑEIRO, C. & AUBOURG, S. (2003). Evaluation of sensory and microbiological changes and identification of proteolytic bacteria during the iced storage of farmed turbot (*Psetta maxima*). Journal of Food Science, 68: 2764-2771.
- ROTH, B., MOELLER, D., VELAND, J.O., IMSLAND, A. & SLINDE, E. (2002). Effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). J Food Sci., 67:1462–1466.

- ROTH, B., IMSLAND, A., MOELLER, D. & SLINDE, E. (2003). Effect of electric field strength and current on stunning and injuries in market-sized Atlantic salmon held in seawater. *N. Am. J. Aquacult.*, 65: 8–13.
- RUFF, N., FITZGERALD, R.D., CROSS, T.F., HAMRE, K. & KERRY, J.P. (2003). The effect of dietary vitamin E and C level on market-size turbot (*Scophthalmus maximus*) fillet quality. *Aquacult. Nutr.*, 9 (2): 91-103.
- RUIZ-CAPILLAS, C., & MORAL, A. (2001). Residual effect of CO₂ on hake (*Merluccius merluccius* L.) stored in modified and controlled atmospheres, *European Food Research and Technology*, 212: 413–420.
- SAITO, T., ARAI, K. & MATSUYOSHI, M. (1959). A new method for estimating the freshness of fish. *Bull Japan Soc. Sci. Fish*, 24: 749-750.
- SÁNCHEZ-ALONSO, I., SOLAS, M.T. & BORDERIAS, A.J. (2007). Study of Minced Fish Muscle with a White-Grape By-Product Added as an Ingredient. *Journal of food Science*, 72 (2): 94-101.
- SAPKOTA, A., SAPKOTA, A.R, KUCHARSKI, M., BURKE, J., MCKENZIE, S., WALKER, P. & LAWRENCE, R. (2008). Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. *Environ Int.*, 34: 1215-1226.
- SARGENT, J.R., TOCHER, D.R., & BELL, J.G. (2002). The Lipids, in *Fish Nutrition*, 3rd ed. (181–257). (Halver, J. E., and Hardy, R. W., eds.). Elsevier Science, New York.
- SCAIFE, J.R., ONIBI, G.E., MURRAY, I., FLETCHER, T.C. & HOULIHAN, D.F. (2000). Influence of α -tocopheryl acetate on the short- and long-term storage properties of fillets from Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed a high lipid diet. *Aquacult. Nutr.*, 6 (1): 65-71.
- SHAHIDI, F. & HONG, C. (1991). Evaluation of malonaldehyde as an indicator of oxidation rancidity in meat products. *J. Food Biochemistry*, 15: 97–105.
- SHAPIRA, N., WEILL, P., SHARON, O., LOEWENBACH, R. & BERZAK, O. (2009). *n*-3 PUFA fortification of high *n*-6 PUFA farmed tilapia with linseed could significantly increase dietary contribution and support nutritional expectations of fish. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (6): 2249–2254.

- SHEARER, K.D. (1994). Factors affecting the proximate composition of cultured fish with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, 119: 63–88.
- SIKORSKI, Z.E. (1990). Chilling of fresh fish. In 'Seafood: Resources, Nutritional Composition and Preservation', Sikorski, Z. E. (ed), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida: 93.
- SOKAL, R.R. & ROHLF F.J. (1995). *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. 3rd edition. W.H. Freeman, New York.
- SPENCER, R. & BAINES, C.R. (1964). The effect of temperature on the spoilage of wet white fish. I. Storage at constant temperatures between -1°C and 25°C . *Food Technol.*, 18: 769-772.
- SPINELLI, J. (1966). *J. of Food Sci.*, 30:1063, en Fletcher *et al.*, 1999.
- STÉPHAN, G., GUILLAUME, J. & LAMOUR, F. (1995). Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acid. *Aquaculture*, 130 (2-3): 251-268.
- STINE, C.M., HARLAND, H.A., COULTER, S.T. & JENNESS, R. (1954). A modified peroxide test for detection of lipid oxidation in dairy products. *Journal of Dairy Science*. 37: 202-207.
- TANAKA, Y., HIRANO, J. & FUNADA, T. (1992). Concentration of docosahexaenoic acid in glyceride by hydrolysis of fish oil with *candida cylindracea* lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69: 1210-1214.
- TEJADA, M. & HUIDOBRO, A. (2001). Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice storage related to the slaughter method and gutting. *European Food Research and Technology*, 215: 1-7.
- TEJADA, M., HUIDOBRO, A. & FOUAD, M.G. (2006). Evaluation of two indices related to ice storage and sensory analysis in farmed gilthead seabream and seabass. *Food Sci. Tech. Int.*, 12: 261–268.
- THOMAS, P.M., PANKHURST, N.W. & BREMNER, H.A. (1999). The effect of stress and exercise on post-mortem biochemistry of Atlantic salmon and rainbow trout, *Journal of Fish Biology* 54: 1177–1196.

- TIDWELL, J.H., & ALLAN, G.L. (2001). Fish as Food: Aquaculture's Contribution. European Molecular Biology Organization Reports Vol. 2, No. 11: 958-963.
- TORRY RESEARCH STATION (1989). Torry advisory note no. 91. Aberdeen, Scotland.
- TOYOMIZU, M., HANAOKA, K. & YAMAGUCHI, K. (1981). Effects of release of fatty acids by enzymatic hydrolysis of phospholipids on lipid oxidation during storage of fish at -5°C, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47 (5): 615-620.
- TRYFINOPOULOU, P., TSAKALIDOU, E. & NYCHAS, G.J.E. (2002). Characterization of *Pseudomonas spp.* associated with spoilage of gilt-head sea-bream fish stored under various storage conditions. *Applied Environmental Microbiology*, 68: 65-72.
- TURAN, H., SÖNMEZ, G. & KAYA, Y. (2007). Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 1: 97-103.
- TURCHINI, G.M., CAPRINO, F., PANSERI, S., MORETTI, V. AND VALFRE, F. (2004) Effects of dietary lipid sources on flavour volatile compounds of brown trout (*Salmo trutta* L.) fillet, *Journal of Applied Ichthyology*, 20: 71-75.
- TURCHINI, G.M., MORETTI, V., MENTASTI, T., ORBAN, E. & VALFRE, F. (2007) Effects of dietary lipid source on fillet chemical composition, flavour volatile compounds and sensory characteristics in the freshwater fish tench (*Tinca tinca* L.). *Food Chemistry*, 102: 1144-1155.
- ULBRICHT, T.L.V. & SOUTHGATE, D.A.T. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338: 985-992.
- VALLE, M., MALLE, P. & BOUQUELET, S. (1998). Evaluation of fish decomposition by liquid chromatographic assay of ATP degradation products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 81: 571-575.
- VECIANA-NOGUÉS, M.T. (1999). Mètodes per a avaluar la frescor del peix. *Tecnologia i Ciència dels Aliments*, 4: 16-24.
- VELAND, J.O. & TORRISEN O.J. (1999). The texture of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle as measured instrumentally using TPA and Warner-Bratzler shear test, *J. Sci. Food Agric.*, 79: 1737-1746.

- VENUGOPAL, V., DOKE, S.N. & THOMAS, P. (1999). Radiation processing to improve the quality of fishery products. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 39: 391-440.
- VYNCKE, W. (1996). Comparison of the official CEE method for the determination of total volatile bases in fish with routine methods. *Archiv. für Lebensmittelhygiene*, 47: 110-112.
- YAMANOUE, M. & TAKAHASHI, K. (1988). Effects of paratromyosin on increase in sarcomere length o frigor-shortened skeletal muscles. *J. Biochem.*, 103: 843-847.
- YUSTE, J., CAPELLAS, M., PLA, R., FUNG, D.Y.C. & MOR-MUR, M. (2001). High pressure processing for food safety and preservation: a review. *J. Rapid Meth. Automation Microbiol.* 9:1-10.



TABLAS Y FIGURAS

10. TABLAS Y FIGURAS

TABLAS

Tabla I. Descripción de los parámetros mecánicos obtenidos mediante el test del análisis de perfil de textura (TPA)	25
Tabla II. Baremo de clasificación de la frescura del pescado blanco. (Reglamento 2406/1996/CEE)	53
Tabla III: Quality Index Method (QIM) aplicado a dorada (Huidobro <i>et al.</i> , 2000)	54
Tabla IV: Descriptores del perfil sensorial para filete de dorada sin cocinar	56
Tabla V. Baremo de frescura para pescado cocinado (Torry) adaptado Alasalvar <i>et al.</i> , (2001)	58
Tabla VI. Componentes del NBVT	63
Tabla VII. Valor medio del análisis organoléptico en dorada. ESUE: Evaluación sensorial de la Unión Europea	65
Tabla VIII. Valores medios de NBVT en dorada	65
Tabla IX. Valor medio del análisis organoléptico en lubina. ESUE: evaluación sensorial de la Unión Europea	66
Tabla X. Valores medios de NBVT en lubina (mg/100 g músculo analizado)	67
Tabla XI. Valores medios de NVBT en lubina (Ampliación del estudio) (mg/100 g músculo analizado)	68
Tabla XII. Valores de NBVT durante el almacén en hielo/ métodos de almacén	78
Tabla XIII. Múltiples comparaciones de los métodos testados	80
Tabla XV. Perfil de ácidos grasos (%) de las dietas y del filete al día 0 en hielo.	90

Tabla XVI. Composición proximal (w/w) en el filete de dorada alimentada con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenamiento en hielo (0-17 días).....	92
Tabla XVII. Evolución de los principales ácidos grasos (%) en el filete de dorada durante la vida útil (0-17 días de almacenamiento en hielo).	95
Tabla XVII (continuación). Evolución de los principales ácidos grasos (%) en el filete de dorada durante la vida útil (0-17 días de almacenamiento en hielo).....	96
Tabla XVIII. Valores de pH, Torrymeter (TMRs), nitrógeno básico volátil total (NBVT) e índice del ácido tiobarbiturico (TBARS) en el filete de dorada alimentada con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo	108
Tabla XIX. Evolución de la textura instrumental en el filete crudo de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales durante 17 días de almacenamiento en hielo...	111
Tabla XX. Textura instrumental del filete cocinado de doradas alimentada con las distintas dietas experimentales en el día de sacrificio (día 0 en hielo).	113
Tabla XXI. Cambios en los valores del Quality Index Method (QIM) de doradas enteras y sin eviscerar alimentadas con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo.....	114
Tabla XXII. Perfil sensorial del filete cocinado de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo.....	115
Tabla XXIII. Cata de aceptación con los cambios en el flavor, olor, textura y aceptación general de los filetes de doradas alimentadas con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo.....	117

FIGURAS

Fig. 1. Suministro previsto de peces comestibles procedentes de la acuicultura y de la pesca de captura.....	2
Fig. 2. Producción acuícola de las especies más representativas de España (MAPA, 2009).....	3
Fig. 3. Factores que contribuyen a la calidad del pescado (Ólafsdóttir et al., 1997).....	5
Fig. 4. Principales cambios autolíticos.....	11
Fig. 5. Dorada durante el rigor.....	22
Fig. 6. Lubina durante el rigor.....	22
Fig. 7. Tanques de 1000 litros utilizados en los capítulos 6 y 7.....	44
Fig. 8. Cubas de sacrificio utilizadas en los capítulos 6 y 7.....	44
Fig. 9. Box de sala de catas.....	51
Fig. 10. Sesión de entrenamiento.....	51
Fig. 11. Detalle de los cuestionarios.....	52
Fig. 12. Detalle del proceso de cata.....	52
Fig. 13. Fragmentos de filete crudo de dorada.....	59
Fig. 14. Texturómetro.....	59
Fig.15. Evolución del NBVT en dorada. Observado y tras ajuste cúbico.....	65
Fig. 16. Evolución del NBVT en lubina. Observado y tras ajuste cúbico.....	67

Fig. 17. Evolución del NVBT en lubina (Ampliación del estudio). Observado y tras ajuste cúbico.....	68
Fig. 18. Cambios en el NBVT cada método testado.....	79
Fig. 19. Cambios en NBVT cada día de almacén (ml de HCl).....	81
Fig. 20. Perfil sensorial del filete cocinado de dorada alimentada con las distintas dietas experimentales durante el periodo de almacenaje en hielo.....	116



LA CALIDAD ES LA PROPIEDAD O CONJUNTO DE PROPIEDADES INHERENTES A UN PRODUCTO QUE PERMITEN CARACTERIZARLO Y COMPARARLO CON AQUELLOS DE SU MISMA ESPECIE. EN EL PESCADO SE REFIERE A UN CONJUNTO DE ATRIBUTOS ENTRE LOS QUE SE INCLUYEN, ENTRE OTROS, EL VALOR NUTRITIVO, LA PRESENTACIÓN Y MUY ESPECIALMENTE LA FRESCURA.

LA VIDA ÚTIL ES LA DURACIÓN ESTIMADA QUE UN PRODUCTO TIENE CUMPLIENDO CORRECTAMENTE CON SU FUNCIÓN. EN EL PESCADO SE DEFINE COMO EL PERÍODO DE TIEMPO QUE TRANSCURRE DESDE SU CAPTURA HASTA EL DETERIORO, POR INACEPTABILIDAD DEL PRODUCTO.