



MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

Las Palmas de Gran Canaria, España

2010-2012

Evaluación de la disponibilidad de fuentes alternativas de aceite de pescado, y efecto de la sustitución en la calidad y conservación del filete de lubina (*Dicentrarchus labrax* L)

Mohamed BOURTIMA

**TESIS PRESENTADA Y PUBLICAMENTE
DEFENDIDA PARA LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE
MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS**

Las Palmas de Gran Canaria
junio de 2012



MASTER OFICIAL EN CULTIVOS MARINOS

VI MASTER INTERNACIONAL EN ACUICULTURA

Organizado conjuntamente por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), el Instituto Canario de Ciencias Marinas (Gobierno de Canarias) y el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM), a través del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ)

Evaluación de la disponibilidad de fuentes alternativas de aceite de pescado para, y efecto de la sustitución en la calidad y conservación del filete de lubina (*Dicentrarchus labrax* L)

Trabajo realizado en el Instituto Canario de Ciencias Marinas de Las Palmas de Gran Canaria, España, bajo la dirección del Dr. Rafael GINES y Dra. Lidia ROBAINA.

Presentado como requisito parcial para la obtención del Título oficial de Máster Universitario en Cultivos Marinos otorgado por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y del Diploma de Master of Science en Acuicultura otorgado por el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (CIHEAM).

Director

Directora

Autor

Fdo: Dr. Rafa GINES

Fdo: Dra. Lidia ROBAINA

Fdo: Mohamed BOURTIMA

Las Palmas de Gran Canaria, junio de 2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la oportunidad de poder alcanzar este objetivo y a mi familia, por haber soportado tanto tiempo sin vernos, pero sin embargo, haberme hecho llegar vuestra presencia, cariño y apoyo en la distancia. Principalmente a mis padres porque sois el principio de todo, no tengo palabras para agradecer esto y tanto como habéis hecho por mí siempre. Además, a mis hermanos y mi hermana. Pero sobre todo, estoy muy agradecida a mi mujer y mi hijo, porque son mi razón de ser y el motor de mi vida, en definitiva, lo que más quiero en este mundo.

Quiero realizar un agradecimiento especial a mis directores de Tesis, al Doctor Rafael Ginés Ruiz y a la Doctora Lidia Robaina, por haberme dado esta oportunidad, junto a la dedicación de su tiempo y esfuerzo para que este trabajo llegara a su culminación. En segundo lugar, quiero agradecer al Doctor José Antonio Beltrán y su grupo de investigación, especialmente Laura, Elena y Juan, por las ayudas brindadas sobre todo durante las duras y áridas horas transcurridas en laboratorio de ciencia y tecnología de la carne y el pescado de la facultad de veterinaria (Universidad de Zaragoza). Asimismo, quiero agradecer a la técnica Ada su colaboración.

El siguiente párrafo lo quiero dedicar a toda la gente del segundo máster de cultivos marinos, tanto a los que actualmente están como a los que durante estos dos años han formado parte de él en algún momento. Como me es imposible citarlos a todos uno por uno sin olvidar algún nombre, prefiero simplemente decirlos ¡Gracias a todos! Pero sobre todo y en especial, quiero agradecerles a mis compañeros, los que tanto me han apoyado, animado, ayudado y soportado, el haberme demostrado su amistad y cariño tanto en los buenos, como en los malos momentos. Ellos son Aymen Bafoun y Lahoussine Aarab.

Finalmente agradezco al Ministerio de Pesca de Argelia y a sus autoridades por sus consejos y recomendaciones.

Aquí termino este apartado, esperando haber transmitido mi más sincero agradecimiento a todos. A pesar de saber que no son todos los que están, estoy totalmente seguro de que todos los que están aquí citados son. A todos los que sois y habéis sido parte de esta dura pero a la vez bonita etapa de mi vida, ¡GRACIAS!

INDICE

Lista de figuras	I
Lista de tablas.....	III
RESUMEN.....	IV
1. INTRODUCCION	2
1.1 Estado actual de la acuicultura	2
1.2 La lubina.....	4
1.2.1 Composición y valor nutritivo.....	5
1.2.2 Hábitat, zona de pesca y producción en piscifactorías	6
1.2.3 Importancia económica	8
1.3 Materias primas	9
1.3.1 Sustitución lipídica	11
1.3.1.1 Aceites vegetales	12
1.4 Conservación del pescado	14
1.4.1 Envasado.....	15
1.4.1.1 Envasado en atmósfera modificada	15
1.4.1.1.1 Definición	15
1.4.1.1.2 Gases empleados en el envasado en atmósfera protectora.....	16
1.4.2 La Calidad	18
2. OBJETIVO GENERAL.....	23
2.1 Objetivos específicos	23
3. MATERIALES Y METODOS	25
3.1 Experimentos de crecimiento	25
3.1.1 Tanques de cultivo.....	25
3.1.2 Dietas	26
3.1.3 Condiciones de cultivo	28
3.1.4 Parámetros productivos evaluados	28

3.1.4.1	Crecimiento y sobrevivencia	28
3.1.4.2	Efectividad del Alimento.....	28
3.2	Experimentos de calidad	29
3.2.1	Determinación de la frescura y Análisis Organoléptico.....	29
3.2.2	Procesado y envasado de las muestras	30
3.2.3	Análisis físico-químicos	30
3.2.3.1	Determinación de pH.....	30
3.2.3.2	Pérdida de agua.....	31
3.2.3.3	Concentración de gases en el espacio de cabeza	31
3.2.3.4	Medida del color.....	31
3.2.3.5	Determinación de bases volátiles totales de nitrógeno BVT-N.....	31
3.2.3.6	Determinación de índice peróxidos	32
3.2.3.7	Determinación de ácido 2-tiobarbitúrico.....	32
3.2.4	Análisis microbiológicos	33
3.2.5	Análisis sensorial.....	34
3.3	Análisis estadístico.....	37
4.	Resultados y discusión.....	39
4.1	Crecimiento	39
4.1.1	Peso.....	39
4.1.2	Tasa de crecimiento	40
4.1.3	Índice de condición.....	41
4.1.4	Tasa de conversión alimentaria	42
4.2	Envase en atmósfera modificada.....	43
4.2.1	Análisis físico-químicos	43
4.2.1.1	Medida del pH.....	43
4.2.1.2	Pérdida de agua.....	45
4.2.1.3	Concentración de gases en el espacio de cabeza	47

4.2.1.4	Medida del color.....	50
4.2.1.5	Medida del nitrógeno.....	54
4.2.1.6	Medida del índice peróxido.....	55
4.2.1.7	Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA).....	56
4.2.2	Análisis microbiológicos.....	58
4.2.3	Análisis sensoriales.....	62
5.	CONCLUSIONES.....	83
6.	DOSSIER FOTOGRÁFICO. Evolución del producto a lo largo del tiempo.....	84
7.	BIBLIOGRAFIA.....	86

Lista de figuras

Figura 1.1. Evolución de la producción pesquera en el mundo.....	2
Figura 1. 2. Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.)	4
Figura 1.3. Ruta biosintética de ácidos grasos poli-insaturados omega-3 C20 y C22 a partir de su precursor C18..	10
Figura 1.4. Producción global de distintos tipos de aceite de 1980 a 2006	13
Figura 3.5. Estanques de 1000 litros utilizados para el bioensayo de crecimiento.....	25
Figura 3.6. Preparación y codificación de las muestras.....	29
Figura 3.7. Presentación de las piezas del filete de lubina.	36
Figura 4.8. Evolución del peso medio de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.....	40
Figura 4.9. Evolución de la tasa de crecimiento específica de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.	41
Figura 4.10. Evolución de índice de condición de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.	42
Figura 4.11. Evolución de la tasa de conversión de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.	43
Figura 4.12. Evolución de los valores de pH de los filetes de lubina, a lo largo del periodo de almacenamiento.	45
Figura 4.13. Evolución de la merma (expresada como % de peso perdido) de los filetes de lubina, envasados bajo diferentes condiciones.	47
Figura 4.14. Evolución de la concentración de CO ₂ a lo largo del periodo de almacenamiento.	48
Figura 4.15. Evolución de la concentración de O ₂ a lo largo del periodo de almacenamiento.	49
Figura 4.16. Evolución del valor L (luminosidad) a lo largo de tiempo.....	51
Figura 4.17. Evolución del valor a* (índice de rojo) a lo largo de tiempo.....	52
Figura 4.18. Evolución del valor b* (índice de amarillo) a lo largo de tiempo.....	53
Figura 4.19. Evaluación los valores de índice de peróxidos durante el periodo de almacenamiento.	56
Figura 4.20. Evolución de la oxidación lipídica expresada como mg malonaldehído por kg de músculo a lo largo del tiempo.	57
Figura 4.21. Evolución de la población de microorganismos mesófilos a lo largo del tiempo.	59

Figura 4.22. Evolución de la población de microorganismos psicrotrofos a lo largo del tiempo.	60
Figura 4.23. Evolución de la población de microorganismos enterobacterias a lo largo del tiempo.	61
Figura 4.24. Evolución del color de los filetes de lubinas en crudo.	63
Figura 4.25. Evolución del olor de los filetes de lubinas en crudo.	64
Figura 4.26. Atributos sensoriales para filetes cocinados de lubina a lo largo del tiempo de almacenamiento en dieta 1.	79
Figura 4.27. Atributos sensoriales para filetes cocinados de lubina a lo largo del tiempo de almacenamiento en dieta 2.	80
Figura 4.28. Atributos sensoriales para filetes cocinados de lubina a lo largo del tiempo de almacenamiento en dieta 3.	81

Lista de tablas

Tabla 1.1. Composición centesimal y valor nutricional de la lubina (valores promedio en 100 g de porción comestible).....	6
Tabla 1.2. Composición de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) de aceite de pescado, aceites vegetales y grasa animal (modificado de Sauvant <i>et al.</i> , 2004).....	14
Tabla 3.3. La composición proximal y fames de las dietas	26
Tabla 3.4. Principales ácidos grasos de las dietas experimentales (g/100g ácidos grasos) .	27

RESUMEN

Las fuentes de obtención de aceite de pescado son cada vez más limitadas y el continuo crecimiento de la producción acuícola dicta que los substitutos al aceite de pescado encontrado no deben comprometer la salud de los peces ni tampoco su calidad.

El objetivo de este estudio fue evaluar la disponibilidad de aceites vegetales como fuente alternativa de aceite de pescado en dietas comerciales y determinar el efecto de la alimentación a largo plazo de las dietas con altos niveles de aceite vegetal en el crecimiento y la calidad del filete de las lubinas.

En este estudio se investigó:

- la factibilidad de usar aceite de vegetal como reemplazo del aceite de pescado en dietas para lubina. Las dietas experimentales se ensayaron en cuádruplicado y consistieron en: 50% aceite de pescado y 50% de aceite vegetal con (Dieta 1); 50% de aceite vegetal y 50% de aceite de pescado, reduciendo la ración diaria un 25% (Dieta 2) y 100% de aceite de pescado (Dieta 3); por un tiempo de 6 meses. No hubo efectos de las dietas sobre el peso, ni en la tasa de crecimiento, ni en el factor de conversión.
- determinar la alteración de la calidad sensorial y microbiológica de lubina envasada en aire y en atmosfera modificada MAP (40% CO₂, 60% N₂) durante 14 días. Fueron realizados análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales. Los valores de pH, pérdida de peso y el índice de oxidación del ácido tiobarbitúrico fueron mayores en al aire pero no se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) entre MAP. Las bacterias crecieron más rápidamente y con mayor cantidad en al aire. El análisis sensorial estableció las mejores puntuaciones y una extensión de la vida útil de las muestras del MAP con altos niveles de CO₂.

Los resultados obtenidos mostraron que puede sustituir aceite de pescado con aceite vegetal hasta 50% y el envasado en atmosfera modificada alarga la vida útil de los filetes de lubina de 7 días (envasado en aire) a 14 días (envasado en MAP).

Palabras claves: *Dicentrarchus labrax*, Aceite de pescado, Filete, Atmosfera modificada, Vida útil.

INTRODUCCION GENERAL

1. INTRODUCCION

1.1 Estado actual de la acuicultura

Hasta la primera mitad del siglo XX, el mar se consideraba un reservorio prácticamente inagotable de pescado que se podía explotar de forma ilimitada. Fue a mediados de siglo cuando se empezó a pensar que las poblaciones naturales de peces eran finitas y que el esfuerzo pesquero podía ser demasiado intenso. Esta preocupación pasó a ser una realidad a comienzos de la segunda mitad de siglo. Si bien, aproximadamente en esa misma época, la acuicultura empezó a desarrollarse, manteniendo la esperanza de un aporte suficiente de pescado para la alimentación humana del futuro.

En los tres últimos decenios, la acuicultura ha crecido con rapidez, a un ritmo mayor que otros sectores de producción animal. Así pues, mientras que la pesca de captura se estancó a mediados de la década de 1980, la producción global del sector acuícola ha crecido de un modo sostenido, pasando de 0,6 millones de Tm en 1950 a 73 millones de toneladas en 2009 (Fig. 1.1).

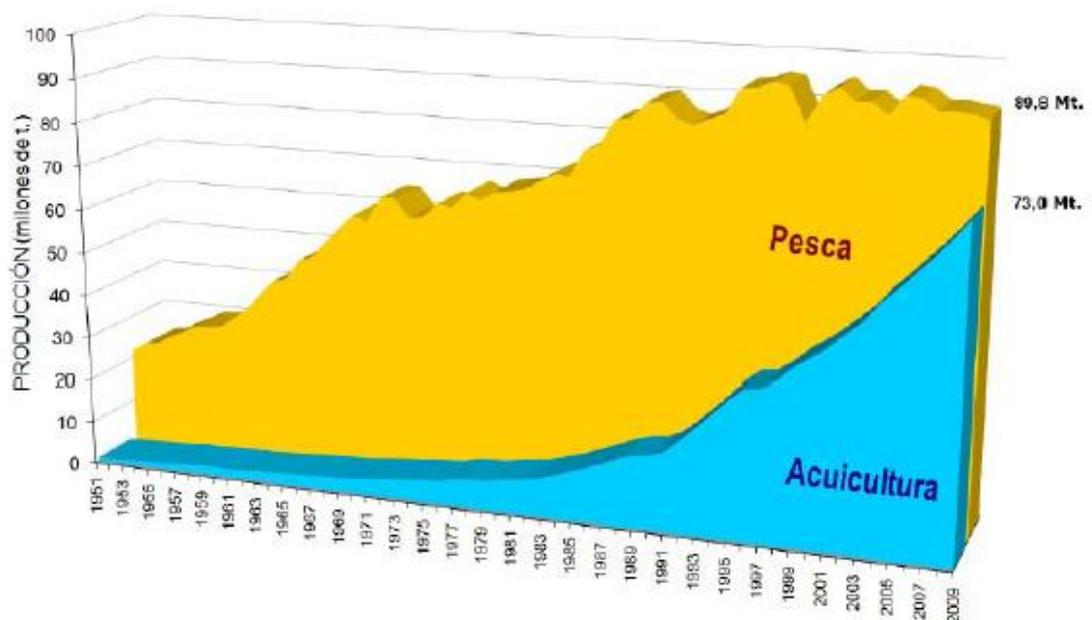


Figura 1.1. Evolución de la producción pesquera en el mundo (FAO, 2009).

Sin embargo, de manera global, la tasa de crecimiento de la acuicultura ha empezado a descender, pasando de un incremento anual del 11,8% en el periodo 1985-1994 al 7,1% en el decenio siguiente. En todo caso, la probabilidad de que las pesquerías aumenten en un futuro es prácticamente nula y la acuicultura sigue siendo una apuesta de futuro a corto-medio plazo. Por otro lado, ante la perspectiva de que la población mundial alcance los 9200 millones de personas en el año 2050 (Cohen, 1995), la cuestión principal es si habrá suficiente alimento para cubrir una demanda creciente. Actualmente, ya hay datos de los efectos negativos del cambio climático sobre las reservas de agua potable (CAWMA, 2007), viéndose afectado el sector de la agricultura, la ganadería, así como la acuicultura continental. En este sentido, la acuicultura marina se vislumbra como una verdadera alternativa (“revolución azul”) para cubrir la demanda de alimentos de la humanidad a lo largo del siglo XXI (Duarte *et al.*, 2009).

El consumo de pescado, como fuente de proteínas animales, es un elemento esencial en la dieta de la población de algunos países densamente poblados. Es más, aunque el consumo medio per cápita sea bajo, los efectos sobre la salud pueden ser de notable relevancia al ser el pescado una fuente importante de aminoácidos esenciales (lisina, triptófano), vitaminas (A, D), minerales (yodo, selenio) y ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga (ácido eicosapentaenoico, 20:5n-3, EPA; ácido docosahexaenoico, 22:6n-3, DHA).

Según datos de la FAO (2008) se calcula que la contribución de las proteínas de pescado al suministro mundial de proteínas animales en la dieta humana se incrementó desde el 13,7% en 1961 hasta un máximo del 16% en 1996, y en la actualidad se ha estabilizado en un 15%. Este incremento del consumo de pescado ha coincidido con el importante desarrollo de la acuicultura durante las últimas dos décadas. No obstante, para que la acuicultura aumente en la medida en que lo hace la demanda, los acuicultores deberán superar diversas limitaciones y obstáculos.

1.2 La lubina

La lubina (*Dicentrarchus labrax* L.) es un pez óseo, que pertenece a la familia de los Serránidos, orden de los Perciformes. Es muy apreciado en la cultura popular, de ahí que posea diferentes denominaciones dependiendo de cada zona: lupi, lupa o lupina en algunos puntos de la costa vasca; robaliza o furagaña en Asturias; róbalo o roballo en Galicia; y llobarro, llobarret, llop, llubarro, etc. en Cataluña y Comunidad Valenciana.

El color del dorso de la lubina es grisáceo, con reflejos metálicos azulados, verdosos o negruzcos, mientras que se presenta más claro en los flancos y en el vientre, con destellos plateados (Fig. 1.4).



Figura1. 2. Lubina (*Dicentrarchus labrax* L.)

La lubina tiene el cuerpo alargado y esbelto pero robusto, los ejemplares oscilan entre los 30 y los 70 cm de longitud, raramente supera los 100 cm de longitud y los 14 kg de peso, siendo las hembras de mayor tamaño que los machos. Su color es plateado, con el dorso más oscuro, adquiriendo un tono gris o verdoso. Muestra una boca terminal y amplia, cuya mandíbula inferior supera a la superior. Cada opérculo tiene dos espinas, una de ellas particularmente conspicua. Sus escamas son grandes y visibles, y a diferencia de la mayoría de Serránidos, las dos aletas dorsales están bien separadas, la primera está formada por 8-10 radios espinosos y la segunda la forma un radio espinoso único y 12-13 radios blandos. El pedúnculo caudal es grueso y potente, y la cola es amplia y ligeramente ahorquillada.

La lubina es un pez carnívoro, formidable depredador que admite una dieta variada, ingiriendo peces de distintas especies y tamaños, vivos o muertos.

1.2.1 Composición y valor nutritivo

La lubina es un pescado muy apreciado por su carne blanca, compacta, con pocas espinas y de sabor fino y delicado. La parte comestible de este pescado se estima en un 66%.

La composición química de la lubina, al igual que sucede con el resto de especies de pescado, varía considerablemente entre individuos dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año, aunque se considera que el factor de mayor impacto es la composición de su dieta. Otros factores íntimamente relacionados con dichas variaciones en la composición química del pez, son el nado migratorio y los cambios sexuales relacionados con el desove.

Es precisamente en el desove cuando el pez requiere mayores niveles de energía, por lo que los peces que tienen energía almacenada en forma de lípidos recurrirán a ella (Huss, 1998).

La lubina es un pescado con un contenido bajo en grasa, por lo que se considera un pescado magro y, al igual que el resto de especies de pescado, es un alimento rico en proteínas de alto valor biológico (Tabla 1.2). Constituye una fuente importante de minerales, como el hierro, zinc y fósforo, y de vitaminas, entre las que destaca la vitamina B3 o niacina, que participa en el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas (Orban *et al.*, 2002).

Tabla 1.1. Composición centesimal y valor nutricional de la lubina (valores promedio en 100 g de porción comestible).

Composición centesimal	
Agua (g)	78,27
Energía (Kcal/Kj)	97/406
Proteína (g)	18,43
Lípidos (g)	2,00
Cenizas (g)	1,09
Carbohidratos (g)	0,00
Minerales (mg)	
Calcio	10
Hierro	0,29
Magnesio	41
Fósforo	194
Potasio	256
Sódio	68
Zinc	0,40
Cobre	0.019
Manganeso	0.015
Selenio	0.0036

Fuente: USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 14 (www.nal.usda.gov, 2007)

Dentro de la fracción lipídica de la lubina, los ácidos grasos más abundantes son el palmítico, oleico, eicosapentaenoico y el docosahexaenoico. Por otro lado, hay que destacar que la lubina es un pescado especialmente rico en vitaminas y minerales, destacando su elevado contenido en niacina y vitamina A, mientras que dentro de la fracción mineral destaca, entre otros, el fósforo (USDA, 2007).

1.2.2 Hábitat, zona de pesca y producción en piscifactorías

La lubina es una especie que se concentra sobre todo en el mar Mediterráneo, mar Negro y océano Atlántico, extendiéndose desde Canarias hasta Noruega. Su pesca se puede realizar en cualquier temporada pero mayoritariamente en los meses de invierno (<http://www.adinte.net>).

Se trata de un pez marino, aunque puede encontrarse ocasionalmente en aguas dulces y habita desde zonas superficiales hasta profundidades de unos 100 m. Se ha comprobado que las lubinas se desplazan periódicamente, concentrándose en determinados lugares por razones específicas, como la aparición de un gran bálamo de pececillos que recalen cerca de la costa, los periodos de subida de las angulas en los estuarios, o la bajada

de los esguines en los ríos salmoneros. También ofrecen ciertos modelos de comportamiento gregario durante el desove, lo que ocasiona a su vez desplazamientos más o menos masivos. Por ello, queda patente, que esta especie presenta un carácter, si no propiamente migratorio, sí por lo menos itinerante.

Actualmente, debido a la escasa captura de ejemplares en alta mar, se han buscado alternativas viables para cubrir la demanda que tiene esta especie en el mercado, apareciendo de esta forma piscifactorías donde se realiza la cría y la reproducción de esta especie.

El mar Mediterráneo presenta unas condiciones ideales para la cría de lubina, ya que la temperatura de este mar se encuentra dentro de la temperatura óptima de crecimiento de esta especie de pescado (15-25 °C). En el Mediterráneo, la lubina se cría junto a otras especies de alto valor comercial como son la dorada, el bocinegro o el dentón.

Las piscifactorías producen huevos y larvas a partir de individuos reproductores en condiciones muy controladas. Cada hembra puede llegar a poner hasta 250.000 huevos por kg de peso, pudiendo ser el desove espontáneo o inducido, y toda la puesta es expulsada en solo 2 ó 3 días.

Durante su primer mes de vida se alimentan de organismos vivos y al final de este mes se les comienza a "destetar" iniciando progresivamente una alimentación basada en piensos secos. Las lubinas de entre 2 y 10 g están listas entonces para pasar a las unidades de engorde.

Las instalaciones de engorde son variadas; así podemos encontrar jaulas flotantes en el mar, tanques de hormigón o estanques de tierra. En estas instalaciones se alimenta a las lubinas con piensos elaborados a partir de harinas y aceite de pescado, aunque se están introduciendo cada vez más otro tipo de materias primas como soja, aceites vegetales, harinas de maíz, etc., lo que permite reducir los costes de la alimentación del pescado.

Cada lubina tarda entre 24 y 30 meses en alcanzar 400 g desde que eclosiona el huevo, siendo la talla comercial legal desde los 180 g hasta más de 1,5 kg.

1.2.3 Importancia económica

La lubina es una de las especies marinas de mayor importancia comercial en el continente europeo. Presenta una buena adaptación a las condiciones de cautividad y a diferentes medios salinos, lo que sumado a la relativa facilidad con que se induce su puesta y la alta supervivencia de las larvas la convierten en una especie muy interesante para su cultivo.

La demanda de lubina ha crecido de forma importante durante los últimos años debido principalmente a la reducción en los precios, ocasionada por la gran producción acuícola de los países mediterráneos.

El desarrollo del potencial económico de la lubina comenzó en la década de los 90, con el inicio de la acuicultura. Hasta ese momento, la lubina procedía principalmente de las capturas que se realizaban en el mar, aunque en los años 80 ya existían algunas piscifactorías ubicadas en Grecia, Francia e Italia; sin embargo, no es hasta finales del siglo pasado cuando la acuicultura despegó de manera importante (European Comisión DG Fisheries, 2004).

La producción total de lubina en Europa y la cuenca mediterránea en 2010 se situó en 118.932 Tm, siendo este valor un 0.3% inferior a la cifra del 2009. En la actualidad, los principales países productores de lubina son Grecia, Turquía y España; existiendo producciones menores en Italia, Francia, Croacia, Portugal, Chipre, Túnez, Egipto, Libia, Malta, Bosnia, Marruecos, Eslovenia, Alemania y Argelia.

Aunque se continúa descargando en los puertos pesqueros del Mediterráneo y Atlántico lubina procedente de la pesca extractiva, 11.933 Tm en 2009, su volumen permanece constante, mientras que la lubina de crianza supone ya más del 90% del total.

1.3 Materias primas

El sector acuícola es una de las actividades industriales que actualmente requiere una mayor demanda de harinas y aceites de pescado (Mundheim *et al.*, 2004). Las harinas se obtienen mayoritariamente a partir de la cocción, prensado y secado de triturados de pescado con poco valor añadido para el consumo humano directo (anchoveta, capelina y sábalo). Los aceites, por su parte, son subproductos del proceso de prensado.

El precio de la harina de pescado alcanzó los 1400 dólares por Tm en 2006, desde entonces se ha mantenido por encima de los 1000 dólares (FAO, 2008). El precio del aceite también ha incrementado de forma extraordinaria, alcanzando la cifra récord de 1700 dólares por Tm en 2008 (FAO, 2008). De este modo, los piscicultores han visto aumentar progresivamente sus costes de producción.

Con el aumento de la producción acuícola, las partidas de harinas y aceites de pescado destinados a la acuicultura han aumentado considerablemente, llegando a suponer el 56% y el 87% de la actual disponibilidad mundial, respectivamente. De hecho, los fabricantes de alimentos para la acuicultura están aumentando la utilización de harina y aceite de pescado a expensas de todos los demás sectores (por ejemplo, consumo humano, industrial y farmacéutico). No obstante, el estancamiento de las pesquerías a nivel mundial pone de manifiesto que la actividad piscícola no puede basarse únicamente en las reservas finitas de pescado (FAO, 2008). Este hecho es especialmente relevante si tenemos en cuenta que, de acuerdo con los actuales cánones, se precisan de 2 a 5 kg de pescado para producir 1 kg de pescado de crianza (Tacon, 1997; Naylor *et al.*, 2000). Por tanto, la sustitución de harinas y aceites de pescado por fuentes alternativas y sostenibles de materias primas resulta ineludible.

Para la mayor parte de peces marinos los ácidos grasos poli-insaturados omega-3 de cadena larga (EPA y DHA) son ácidos grasos esenciales (Sargent *et al.*, 1997), ya que no poseen la maquinaria bioquímica para sintetizarlos y elongarlos a partir del ácido linolénico (18:3n-3) (Fountoulaki *et al.*, 2003). Las diatomeas y los dinoflagelados, ricos en EPA y DHA, son la base de la cadena trófica oceánica, por tanto los peces marinos tienen un superávit de estos ácidos grasos en su dieta natural (Tocher, 2003). Por el contrario, la mayoría de los peces de agua dulce son capaces de realizar la conversión de 18:3n-3 a EPA y DHA (Sargent *et al.*, 2002) (Fig. 1.5). Esta diferencia es por tanto fundamental a la hora de determinar los requerimientos en ácidos grasos esenciales. Así pues, la sustitución total de aceites de pescado como ingrediente o como componente de

las harinas de pescado no es teóricamente factible en piensos de engorde para peces marinos, mientras que en especies de agua dulce, la sustitución es teóricamente posible en su práctica totalidad.

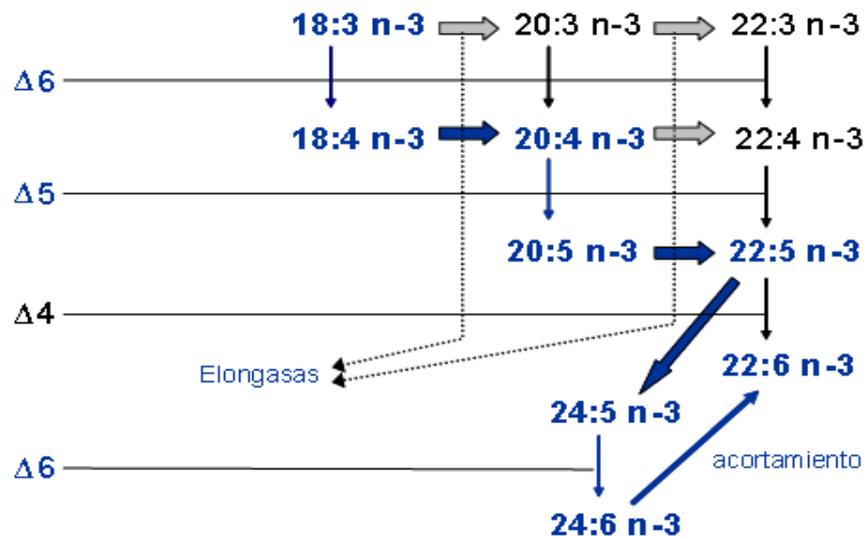


Figura 1.3. Ruta biosintética de ácidos grasos poli-insaturados omega-3 C20 y C22 a partir de su precursor C18. Desaturasas: Δ4, Δ5, Δ6. El ácido graso 18:3n-3 es esencial para la mayoría de animales incluyendo la mayor parte de peces de agua dulce; la ruta marcada en color azul es la que emplean para la biosíntesis de ácidos grasos de cadena más larga. La actividad de las desaturasas y elongasas en las especies de origen marino es muy limitada y, por tanto, el 20:5n-3 y el 22:6n-3 son ácidos grasos esenciales para estas especies.

Además, la utilización de fuentes alternativas de aceites en piensos de engorde está condicionada por la necesidad de mantener unos niveles elevados de EPA y DHA en el producto final destinado al consumo humano (Sociedad internacional para el estudio de los ácidos grasos y lípidos, www.issfal.org). Los alimentos de origen marino son la fuente más importante de EPA y DHA en la dieta humana (Hunter y Roberts, 2000). Estos ácidos grasos poli-insaturados omega-3 de cadena larga aportan importantes beneficios en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Din *et al.*, 2004). Además, el consumo regular de productos marinos ayuda a mantener el cociente omega-3/omega-6 alto (Simopoulos, 2000), con importantes propiedades anti-inflamatorias, anti-trombóticas, anti-arritmicas, hipolipidémicas y vasodilatadoras (Simopoulos, 1999). Un adecuado cociente entre estos grupos de ácidos grasos tiene un impacto primordial en la salud, reduciendo la prevalencia tanto de enfermedades cardiovasculares como de otras enfermedades crónicas e inflamatorias (Wijendran y Hayes, 2004; Calder, 2006; El Badry *et al.*, 2007).

Por otra parte, la sustitución de harinas y aceites de pescado por fuentes alternativas puede resultar beneficiosa desde el punto de vista de la seguridad alimentaria,

ya que los productos de origen marino son fuentes potenciales de residuos químicos (dioxinas, policlorobifenilos, furanos) y metales pesados (metilmercurio, cadmio, arsénico) (Jacobs *et al.*, 2002; Cortazar *et al.*, 2008; Serrano *et al.*, 2008). En ocasiones, estos contaminantes son fruto de una contaminación natural, pero en cualquier caso, su eliminación a escala industrial es compleja por lo que se impone la práctica de estrictos criterios de selección y control. Algunos países han hecho públicas recomendaciones para limitar el consumo de ciertos tipos de productos pesqueros, con especial atención a grupos vulnerables como niños y mujeres embarazadas. Sin embargo, estos destinatarios últimos tienen una especial dependencia por una dieta nutricionalmente adecuada a la hora de satisfacer sus requerimientos de vitaminas, yodo y ácidos grasos omega-3, que son especialmente necesarios en las primeras fases de desarrollo del sistema nervioso (Horrocks y Yeo, 1999; Guesnet y Alessandri, 2010). Así pues, la relación entre salud y seguridad alimentaria hace que sea necesario un enfoque más holístico a la hora de hacer recomendaciones destinadas a equilibrar los riesgos y los beneficios del consumo de productos marinos (Simopoulos, 2001; Mariné y Vidal, 2001).

1.3.1 Sustitución lipídica

El papel de los lípidos en acuicultura ha cobrado especial relevancia en los últimos años con la utilización de dietas de alto contenido energético, que mejoran la producción acortando el periodo de engorde. Tradicionalmente se ha utilizado el aceite de pescado como única fuente lipídica para la fabricación de los piensos de engorde de peces. Sin embargo, el aumento de los precios y la limitación de la disponibilidad de este tipo de aceites también obligan a la industria a buscar fuentes alternativas.

La necesidad de la búsqueda de fuentes alternativas, de origen vegetal, en sustitución de las utilizadas tradicionalmente para la fabricación de piensos en acuicultura, es un imperativo a la hora de desarrollar una acuicultura sostenible. Sin embargo, los productos de origen vegetal, muestran una composición desequilibrada e incluso carencias en determinados nutrientes esenciales para los peces, lo que se traduce en alteraciones en la ingesta y aprovechamiento digestivo y metabólico de la dieta. Un sustituto parcial que se viene utilizando en dietas para peces marinos es el aceite de soja, el principal aceite vegetal producido en la actualidad en el mundo.

1.3.1.1 Aceites vegetales

El mercado mundial de aceite está fuertemente dominado por los de origen vegetal, el tema se refiere básicamente a la categoría de aceites comestibles, lo que representa más del 98% del campo de actividad.

Los aceites de origen vegetal son el producto de la extracción de las semillas oleaginosas (soja, colza, girasol,..) y frutas (aceitunas,..), con especial interés para el consumidor por su aporte de lípidos en la dieta. Por su parte, los aceites de origen animal procedentes principalmente de los productos de la pesca en alta mar (bacalao, ballena) están destinados a un uso específico limitado, en su mayoría farmacéuticos.

El rol nutricional de los aceites vegetales está vinculado a la ingesta de energía (8,5 cal/g), sus ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles. Los aceites desempeñan un papel a través de su contribución a la textura sensorial y la palatabilidad de los alimentos, así como sus trabajos culinarios (Cheftel, 1982).

La producción mundial de las mayores oleaginosas está proyectada para 2007/2008 en 389,7 millones de toneladas, algo menor que las 406,3 toneladas producidas en 2006/2007. Esta caída es atribuida principalmente a la caída en producción de soja en USA, que pasa del record anterior de 86,8 a 71,5 millones de toneladas

La producción de aceites vegetales ha aumentado considerablemente en las últimas tres décadas, contrariamente al estancamiento que ha sufrido la producción-disponibilidad del aceite de pescado (Fig. 1.6). Los aceites de palma, soja, colza y girasol son los más abundantes a nivel global y, con la excepción del aceite de girasol, sus precios se han mantenido históricamente por debajo del los del aceite de pescado. No obstante, en 2009 el precio del aceite de soja sobrepasó al del aceite de pescado, debido en parte al auge de los biocombustibles, aunque actualmente ambos se han igualado (www.globefish.org). En todo caso, procesos cíclicos como el fenómeno de El Niño en el Sureste del Pacífico pueden hacer descender el número de capturas y provocar una nueva subida en el precio de los productos derivados del pescado.

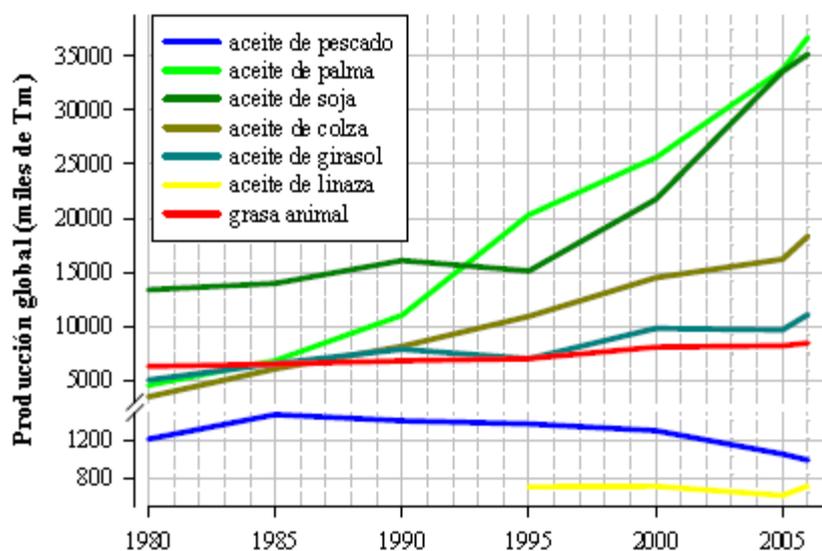


Figura 1.4. Producción global de distintos tipos de aceite de 1980 a 2006

(Modificado de Turchini *et al.*, 2009).

Al igual que el aceite de pescado, los peces metabolizan fácilmente los aceites vegetales y los utilizan como fuente de energía (Bell *et al.*, 2001; Regost *et al.*, 2003; Stubhaug *et al.*, 2007). Sin embargo, sus características químicas, especialmente su composición en ácidos grasos, limitan su uso como única fuente lipídica. La mayoría de ellos son pobres en ácidos grasos omega-3 y ricos en omega-6 y omega-9, principalmente ácido linoleico (18:2n-6) y oleico (18:1n-9), con la excepción del aceite de linaza que contiene gran cantidad de ácido linolénico (18:3n-3) (Tabla 1.3). Su uso como sustituto del aceite de pescado ha sido evaluado, tanto individualmente (Bell *et al.*, 2002, 2003a, 2004; Regost *et al.*, 2003; Izquierdo *et al.*, 2005) como con mezclas de varios aceites vegetales (Torstensen *et al.*, 2005; Mourente y Bell, 2006; Francis *et al.*, 2007). El perfil de estas mezclas de aceites vegetales se intenta asemejar al del aceite de pescado, en relación a la cantidad relativa de ácidos grasos saturados y monoeno y al cociente de ácidos grasos omega-3/omega-6. Así, la práctica totalidad del aceite de pescado puede sustituirse por aceites vegetales en piensos basados en proteína de pescado, tanto en salmónidos (Bell *et al.*, 2003b; Brandsden *et al.*, 2003; Torstensen *et al.*, 2004) como en especies marinas (Regost *et al.*, 2003; Piedecausa *et al.*, 2007). En estos casos, los requerimientos en ácidos grasos esenciales del animal quedan cubiertos por la cantidad de EPA y DHA ligada a las harinas de pescado, puesto que éstas suelen contener entre un 8-10% de aceite de pescado rico en ácidos grasos poli-insaturados omega-3 de cadena larga (Bimbo, 2000).

Tabla 1.2. Composición de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) de aceite de pescado, aceites vegetales y grasa animal (modificado de Sauvant *et al.*, 2004)

Acido graso	Aceite	Anchoveta	Palma	Soja	Colza	Girasol	Linaza	Animal
16:0		17,8	43,0	10,5	4,2	6,3	6,4	25,3
18:0		3,9	4,4	3,8	1,8	4,3	3,4	19,2
18:1n-9		12,0	37,1	21,7	58,0	20,3	18,7	37,5
18:2n-6		1,1	9,9	53,1	20,5	46,9	14,7	2,8
18:3n-3		0,8	0,3	7,4	9,8	0,3	54,2	0,6
20:4n-6		0,3	-	-	-	-	-	0,2
20:5n-3		18,3	-	-	-	-	-	
22:6n-3		8,5	-	-	-	-	-	
n-3/n:6		22,5	-	0,1	0,6	-	4,2	0,2

Según lo expuesto anteriormente, en la formulación de piensos basados en aceites vegetales se buscará un adecuado balance entre ácidos grasos saturados (ej. 16:0, abundante en el aceite de palma) y monoeno (ej. 18:1n-9, abundante en el aceite de colza) que los peces utilizarán preferentemente como fuente de energía (Henderson y Sargent, 1985; Tocher, 2003). Al mismo tiempo, se restringirá el aporte de 18:2n-6, favoreciendo el balance omega-3/omega-6 (ej. con aceite de linaza, rico en 18:3n-3).

1.4 Conservación del pescado

El objetivo principal de los tratamientos de conservación y envasado de alimentos es interrumpir e inhibir los procesos degradativos, permitiendo que el alimento llegue al consumidor con un nivel de calidad adecuado (Brody, 1996).

Desde la prehistoria, el hombre comenzó a conservar los alimentos mediante procedimientos de secado y salado, mejorando su comestibilidad y asegurando su abastecimiento en periodos de carencia, ya que observó que en los alimentos se producían fenómenos de descomposición. Sin embargo, el modo de conservación cambió al comenzar la industrialización, y desde entonces se intensificaron los esfuerzos para mantener inalterados los componentes más sensibles, conservando su valor nutritivo y aroma. Así, mientras que antes los alimentos se conservaban solo por razones comerciales, recientemente han surgido problemas toxicológicos, que constituyen una razón adicional para la adopción de medidas de conservación.

El pescado es uno de los alimentos más susceptibles al deterioro, por autólisis, oxidación e hidrólisis de su grasa y por alteración microbiana; es por ello que su conservación requiere el empleo de algún tratamiento rápido de conservación. Cuando el

pescado se captura lejos de la planta de tratamiento, los métodos de conservación se deben aplicar rápidamente, incluso en el mismo barco pesquero.

1.4.1 Envasado

El envasado es un complemento necesario en cualquier técnica de conservación. En la actualidad, la comercialización de cualquier bien de consumo, en general, requiere del apoyo de algún sistema de envase y embalaje que proteja el producto frente a los agentes externos (insectos, roedores, etc.), agentes atmosféricos (aire, humedad, luz, etc.), agentes químicos, físicos y microbiológicos del medio, así como de golpes durante su almacenamiento y transporte.

La comercialización de productos derivados de la pesca envasados es muy reciente. Esta idea surgió con el fin de presentar al consumidor un producto de primera calidad, conservando sus características organolépticas y las condiciones higiénico-sanitarias durante más tiempo.

En el contexto de los alimentos perecederos, las condiciones de envasado a vacío o en atmósferas modificadas son bacteriostáticas, es decir, reducen la velocidad de crecimiento de los microorganismos, pero no son bactericidas ni para los microorganismos aerobios ni anaerobios. Además, el efecto del envasado a vacío o en atmósfera modificada se incrementa conforme disminuye la temperatura (Brody, 1996).

1.4.1.1 Envasado en atmósfera modificada

1.4.1.1.1 Definición

El envasado en atmósfera modificada implica la eliminación del aire del interior del envase y su sustitución por un gas o mezcla de gases, generalmente CO₂, O₂ y N₂. Además de los anteriores, se han investigado otros gases aunque su empleo a escala comercial es muy limitado. Existe también la posibilidad de que los productos envasados en películas flexibles permeables al oxígeno y listos para su venta al por menor se introduzcan en un envase secundario conteniendo CO₂.

El envasado en atmósfera modificada destaca frente a otros tipos de envasado ya que:

- ❖ Se alarga la vida útil del alimento manteniendo su calidad. Esta es una ventaja para el consumidor, el distribuidor y el productor, ya que ralentiza el proceso de degradación del alimento.

- ❖ Evita o reduce la utilización de productos químicos para la conservación del alimento, ya que los gases realizan esa función. Esto es una gran ventaja, sobre todo para el consumidor.
- ❖ Los gases protectores inhiben el desarrollo de microorganismos causantes de reacciones químicas de degradación de las proteínas, grasas, etc.
- ❖ Los gases protectores mantienen la frescura del alimento, haciendo que permanezca su atractivo para el consumidor.
- ❖ Los gases protectores ayudan al mantenimiento de las cualidades organolépticas originales del alimento (color, olor y sabor).

1.4.1.1.2 Gases empleados en el envasado en atmósfera protectora

El efecto antimicrobiano del dióxido de carbono se conoce desde hace tiempo, aplicándose a alimentos proteicos (inhibición de la flora alterante), a productos vegetales (control de mohos) y, a presiones elevadas (hiperbáricas), en las aguas minerales y bebidas refrescantes. Sin embargo, la causa última de inhibición no está del todo esclarecida pudiendo ser la asociación de varias acciones. Una de ellas, tiene que ver con la formación de H_2CO_3 . El CO_2 de la atmósfera se disuelve en el agua para producir ácido carbónico que se disocia parcialmente para producir aniones bicarbonato y protones



La cantidad de CO_2 en disolución depende de la presión parcial del CO_2 en la fase gaseosa, de la temperatura y del pH. Así, al bajar la temperatura, aumenta la solubilidad. El ácido carbónico como otros ácidos orgánicos débiles, atraviesa la membrana plasmática y acidifica el interior de la célula.

Se cree que otras acciones podrían ser:

- producir alteraciones en la membrana celular que afectan desfavorablemente al transporte de solutos.
- inhibir enzimas esenciales, especialmente aquellos que intervienen en reacciones de carboxilación/descarboxilación en las que el dióxido de carbono es un reactivo.
- reaccionar con los grupos amino de las proteínas modificando sus propiedades y su actividad.

El nitrógeno es un gas inerte que tiene efecto anóxico sobre los microorganismos y retrasa el enranciamiento. Por otra parte, al ser poco soluble, se utiliza en algunos alimentos, como la carne fresca, también para evitar el colapso del envase asociado a la alta solubilidad del CO_2 . El O_2 se utiliza para el envasado de carne porque se mantiene el color de la misma (oximioglobina). El empleo del monóxido de carbono (CO) en algunos

alimentos como la carne fresca es interesante (color) pero tiene limitaciones prácticas (toxicidad y mezclas potencialmente explosivas con el aire) y legales por lo que se usa poco. Los gases nobles (argón y helio) están siendo utilizados, en sustitución del nitrógeno, para el envasado de ciertos grupos de productos como “snacks”. Otros gases investigados para su utilización en atmósferas protectoras son: hidrógeno, óxido nitroso, dióxido de azufre, cloro y ozono.

Es muy importante elegir convenientemente el material de envasado empleado. La función principal que desempeña el envase es preservar el ambiente gaseoso creado en su interior. Los materiales seleccionados para su fabricación deben presentar determinadas propiedades barrera al paso de los gases y la humedad. Además, es deseable que reúnan otras características desde el punto de vista técnico, comercial, legal y medioambiental. Los envases más empleados en el envasado en atmósferas modificadas se fabrican con materiales poliméricos y se dividen en dos categorías: envases flexibles y envases rígidos. En esta segunda categoría los envases constan de dos componentes. El inferior, generalmente una bandeja o barqueta sobre la que se deposita el alimento, y una película flexible para cubrirlo. Además de los polímeros se pueden utilizar otros materiales en aplicaciones concretas como los metales para productos deshidratados (por ejemplo, para leche en polvo).

Es difícil que un único material polimérico posea todas las características deseables. Por este motivo, la mayoría de las películas se fabrican con laminados de dos o a cinco películas. Un ejemplo típico sería el de una película con tres laminados:

- Externo (resistente)
- Interno (con buena capacidad de sellado)
- Medio (barrera frente a los gases).

Las ventajas del envasado de los alimentos en estas condiciones son:

1. Significativo incremento de la vida útil
2. Menores pérdidas de peso por evaporación
3. Transporte y almacenamiento más higiénicos
4. Eliminación del goteo y de los olores desagradables
5. Mejor presentación y facilidad para examinar el producto
6. Menos desechos y reducción de costes por mano de obra durante la venta
7. Ventajas económicas por reducción de peso y espacio durante la distribución o ampliación de las áreas de distribución

Entre los inconvenientes podemos citar:

- Se necesita un equipamiento específico
- Costes superiores a los del producto sin envasar.
- Es necesario elegir convenientemente las mezclas de gases
- Es preciso evaluar su efecto sobre el crecimiento de algunas bacterias patógenas de transmisión alimentaria.

1.4.2 La Calidad

La creciente demanda de nuevas materias primas proteicas y lipídicas, producto del sostenido incremento de la producción animal y de la acuicultura intensiva en particular, ha mantenido en la discusión el tema de la calidad de los productos que se derivan al consumo humano. Para un consumidor normal de pescado tres son aspectos de calidad relevantes a la hora de adquirirlo, a saber, apariencia (forma, color), frescura y la relación de estos con la calidad o valor nutricional e inocuidad. Los aspectos de la calidad sobre los cuales puede actuar la nutrición pueden resumirse a color, sabor, estructura, textura, estabilidad, olor, apariencia de aceptabilidad y valor nutritivo. Aquellos aspectos de la calidad que influyen en nuestros sentidos son conocidos como características organolépticas de un producto.

El término calidad del pescado es muy amplio y su estudio difícil debido al hecho que parámetros específicos que son reconocidos como esenciales en una parte del mundo son considerados menos importantes en otro sitio. Más aún, existen aspectos diferentes de calidad del pescado con respecto a la satisfacción de demandas específicas de la industria. Por ejemplo, el pescado para ahumado debe contener relativamente más grasa que el pez vendido congelado (Hamre *et al.*, 2004). De esta manera la demanda de calidad de los productos varía en diferentes regiones geográficas y con diferentes culturas, y requerimientos esporádicos de mercados específicos. La percepción en términos de calidad difiere entre el productor de peces, la industria de procesado y el consumidor. Mientras que para el cultivador el crecimiento y la conversión son los parámetros más importantes, para el consumidor no tienen un interés directo. Sin embargo, la producción es lo que positivamente reciben procesadores y consumidores y naturalmente es la principal preocupación del productor de pescado. Así, el continuo abastecimiento y la rápida producción, son de interés para procesadores y consumidores desde la perspectiva de

estabilidad de precios y satisfacción de calidad y demandas de mercado (Rasmussen, 2001).

Lo que ciertamente está probado en términos de calidad nutricional y que el consumidor normal generalmente desconoce, es el importante rol que tiene el pescado en nuestra dieta, con un consumo que debería ser fuertemente impulsado. El pescado es una fuente fiable de proteína de alta calidad, hierro, selenio y yodo. El hígado de peces blancos (*Gadus morhua* y *Merluccius gayi*) es una excelente fuente de vitaminas A y D. Los filetes de sardinas (*Sardinops sagax*), arenque (*Clupea* spp.) y jurel (*Trachurus* spp.) son una importante fuente de ácidos grasos altamente insaturados (n3-PUFA), tales como el ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, 22: 6n-3). Los ácidos grasos n3-PUFA tienen beneficiosos efectos en numerosas enfermedades del hombre, por ejemplo previenen las afecciones cardiovasculares y ataques al corazón. El DHA es muy importante en el normal desarrollo de cerebro y retina del feto (Sargent *et al.*, 2001).

De acuerdo a Koumoundouros *et al.* (2003), otro aspecto escasamente estudiado son las malformaciones que tienen que ver con la calidad del pescado desde el punto de vista de su apariencia. Las anomalías morfo-anatómicas degradan drásticamente el desempeño biológico de las especies en cultivo y distorsionan su apariencia, resultando en una reducción del valor comercial e incremento de los costos de producción. Desde el punto de vista de la sustitución de la harina de pescado por otras fuentes proteicas este aspecto no ha sido estudiado en profundidad.

Otro factor que influye en la calidad son los pigmentos. Si bien estos no son nutrientes esenciales en los estados de desarrollo de los peces y hay poca evidencia que soporten un rol sanitario, en sistemas de producción intensivos de peces son muy importantes, pues la ausencia de ellos en los alimentos de engorde afectan la calidad de coloración del producto comercial. La astaxantina y la cantaxantina son incorporados en los alimentos acuáticos para especies seleccionadas a un nivel similar que los micronutrientes. Ellos cumplen un rol fundamental en la coloración del músculo blanco, especialmente en salmónidos (Baker, 2001).

Varios son los factores endógenos y exógenos que influyen la composición proximal y los atributos de calidad del pescado, por ejemplo la dieta, el ambiente, la ontogenia y el estado fisiológico (Bjerkeng *et al.*, 1997). De acuerdo a Rasmussen (2001), la calidad de los salmónidos está afectada por parámetros tales como tipo de alimento,

nivel de consumo diario (ración) y el crecimiento (engorde). La composición del alimento tiene la mayor influencia sobre la composición proximal en salmónidos. En particular, los lípidos corporales como también los lípidos del filete están directamente relacionados con el contenido de grasa de la dieta. De igual modo, el perfil de ácidos grasos del filete está también fuertemente influenciado por el perfil de ácidos grasos de la dieta (Bell *et al.*, 2001).

Mientras la composición del cuerpo aparece fuertemente influenciada por la composición del alimento, un incremento en otros parámetros tal como la ración de alimento y el tamaño del pez también resultan en un incremento la deposición adiposa y disminución en el contenido de agua del cuerpo del pez. El contenido de proteína, sin embargo, permanece más o menos estable (Rasmussen, 2001). Un incremento de los lípidos corporales en el pez, no es necesariamente un factor negativo, dependiendo de los propósitos que se quieran seguir. Sin embargo, un incremento en la grasa corporal está acompañado por una reducción en el rendimiento de la cosecha, debido a un incremento en el peso de vísceras en relación al peso del cuerpo (Bórquez *et al.*, 1999).

Como se señaló anteriormente, la calidad del filete está fuertemente influenciada por la composición y cantidad de alimento consumido y la estrategia de alimentación, sin embargo, las características sensoriales, tales como olor, sabor, textura, etc., están sólo influenciadas en pequeña medida por estos factores (Rasmussen, 2001).

El envasado en atmosfera modificada aplica las atmósferas ricas en dióxido de carbono que evitan el crecimiento microbiano. Sin embargo, cantidades elevadas de este gas desencadenan cambios indeseables en el producto envasado como colapso del envase, exudado y modificaciones de la textura. La incorporación de nitrógeno en el espacio de cabeza impide las deformaciones y el colapso del envase causados por la disolución del CO₂ en los tejidos del alimento.

El uso del envase en atmosfera modificada no solo beneficia al consumidor final con un producto de mayor frescura; sino que también beneficia al productor aumentando el tiempo de vida de un producto permitiéndole llegar a mercados más distantes con una cadena de distribución manejable, con el subsecuente incremento de ventas debido a dos razones importantes: productos mucho más frescos con mayor calidad y mejores características organolépticas, y el ingreso de nuevos productos con mejor demanda que los productos tradicionales que usan aditivos para su conservación.

La principal ventaja del uso de atmosfera modificada es el de poder extender el tiempo de vida útil de un producto sin alterar sus propiedades físicas, químicas y organolépticas permitiendo llevar un producto más fresco al consumidor final. Otra ventaja importante es la eliminación total de aditivos y preservantes, usados tradicionalmente en las industrias alimenticias, los cuales aumentan la desconfianza del consumidor optando por productos más naturales.

OBJETIVOS

2. OBJETIVO GENERAL

El objetivo de este estudio fue evaluar la disponibilidad de aceites vegetales como fuente alternativa de aceite de pescado en dietas comerciales y determinar el efecto de la alimentación a largo plazo de las dietas con altos niveles de aceite vegetal en el crecimiento y la calidad del filete de las lubinas.

2.1 Objetivos específicos

1. Evaluar la disponibilidad de aceite vegetal desde un punto de vista nutricional y productivo como fuente alternativa de aceite de pescado en dietas comerciales.
2. Evaluar cómo afectan las altas cantidades de aceite vegetal en el crecimiento de lubina (*Dicentrarchus labrax* L).
3. Comprobar el efecto de la atmosfera modificada (60% N₂, 40% CO₂) y al aire sobre la vida útil, la frescura y la calidad de los filetes de la lubina (*Dicentrarchus labrax* L).

MATERIALES Y METODOS

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Experimentos de crecimiento

Las experiencias se llevaron a cabo en el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Los peces fueron alimentados con las dietas experimentales dos veces al día, 6 días a la semana.

3.1.1 Tanques de cultivo

Para los estudios de crecimiento se utilizaron 12 tanques de fibra de vidrio de forma cilindro-cónica de 1m^3 (Fig. 3.5). Estos tanques fueron suministrados con agua del mar. La circulación del agua de cada tanque era de circuito abierto. La temperatura osciló entre 21,7 y 23,8°C como promedio. Todos los estanques se mantuvieron con aireación continua.

El ensayo comenzó en junio de 2011, con 420 lubinas de 400 gramos de peso medio inicial. Se utilizaron doce tanques de 1000 litros. Se distribuyeron al azar 35 peces por tanque. Cada dieta fue suministrada por cuadruplicado.



Figura 3.5. Estanques de 1000 litros utilizados para el bioensayo de crecimiento.

3.1.2 Dietas

Las fórmulas experimentales ensayadas se realizaron sobre una mezcla base comercial (42% proteína/20% lípidos), testada para rápido crecimiento en la especie objetivo y conteniendo como ingredientes mayoritarios harina de pecado, trigo y soja 47. Las formulaciones se realizaron mediante un programa computacional FORMAT basado en programación lineal, considerando los niveles mínimos de aminoácidos, además de las variables de proceso implicadas para fabricar estos productos como son: mínimo porcentaje de almidón extruible y mínimo porcentaje de humedad.

Sobre esta mezcla base se formularon 3 dietas experimentales en las que se modificó la cantidad y composición de los aceites añadidos de acuerdo a la siguiente tabla:

Código dieta	Proteína/Lípidos	%Aceite añadido	Proporciones de aceite
Dieta 1	42/20	15%	50/50 (Aceite de pescado/Aceite de soja)
Dieta 2	42/16	10%	50/50 (Aceite de pescado/Aceite de soja)
Dieta 3	42/16	10%	100 (Aceite de pescado)

Las dietas fueron procesadas por la empresa Dibaq Diproteg, a escala comercial y mediante extrusión para la generación de gránulos de tamaño 4mm con los que se alimentó a los animales durante un período de 6 meses.

La formulación y composición proximal de las dietas se muestra en la Tabla 3.3. Mientras que su composición de ácidos grasos se muestran en la Tabla 3.4.

Tabla 3.3. La composición proximal y fames de las dietas

	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 3
% Húmedas	6.55	5.18	7.15
% Peso seco lípidos	20.02	19.47	20.48
% peso seco cenizas	8.33	9.09	9.09
% peso seco proteínas	41.50	42.88	42.44

Tabla 3.4. Principales ácidos grasos de las dietas experimentales (g/100g ácidos grasos)

	Dieta 1	dieta 2	dieta 3
14:0	2.9991	2.8308	4.3065
14:1n-7	0.0521	0.0506	0.0393
14:1n-5	0.1003	0.0967	0.1425
15:0	0.3406	0.3289	0.5241
15:1n-5	0.0074	0.0072	0.0048
16:0iso	0.0589	0.0570	0.0793
16:0	16.6288	16.2240	17.4605
16:1n-7	3.5153	3.2766	5.1271
16:1n-5	0.0959	0.0926	0.1354
16:2n-6	0.0035	0.0022	0.0056
16:2n-4	0.2315	0.2287	0.3850
17:0	0.1917	0.1707	0.1820
16:3n-4	0.2518	0.2474	0.3379
16:3n-3	0.0946	0.0912	0.1462
16:3n-1	0.0146	0.0130	0.0178
16:4n-3	0.2511	0.2184	0.3673
18:0	5.2298	5.1854	4.3290
18:1n-9	25.4880	25.5238	21.4289
18:1n-7	2.5757	2.5397	2.9003
18:1n-5	0.1133	0.1118	0.1541
18:2n-9	0.0170	0.0141	0.0522
18:2n-6	21.7928	22.5972	11.2611
18:2n-4	0.1240	0.1159	0.1857
18:3n-6	0.0979	0.0919	0.1638
18:3n-4	0.1110	0.1074	0.1423
18:3n-3	3.0607	3.2201	2.2216
18:3n-1	0.0033	0.0048	0.0110
18:4n-3	0.5974	0.5648	0.9579
18:4n-1	0.0868	0.0816	0.1273
20:0	0.3257	0.3250	0.3419
20:1n-9	0.2809	0.2750	0.4059
20:1n-7	2.2632	2.2915	3.3222
20:1n-5	0.1410	0.1361	0.2226
20:2n-9	0.0356	0.0348	0.0622
20:2n-6	0.3243	0.3248	0.4486
20:3n-9	0.0334	0.0331	0.0538
20:3n-6	0.0927	0.0873	0.1308
20:4n-6	0.4682	0.4496	0.7754
20:3n-3	0.1271	0.1299	0.1839
20:4n-3	0.4287	0.4252	0.6532
20:5n-3	3.2103	2.9537	5.1527
22:1n-11	1.9634	2.0140	3.0111
22:1n-9	0.3175	0.3159	0.4817
22:4n-6	0.1422	0.1328	0.2278
22:5n-6	0.1886	0.1969	0.3674
22:5n-3	0.8559	0.8370	1.3320
22:6n-3	4.6665	4.5824	8.5302
Saturated	25.7151	25.0649	27.2440
Monoenoics	36.9141	36.7317	38.3761
Σ n-3	13.9294	13.0228	19.5451
Σ n-6	23.1103	24.2426	13.3803
Σ n-9	26.1724	26.1967	23.4848
Σ n-3 HUFA	9.2886	8.9282	15.8520
DHA/EPA	1.4536	1.5514	1.6555
AA/EPA	0.1458	0.1522	0.1505
AA/DHA	0.1003	0.0981	0.0909
AA	0.4682	0.4496	0.7754

3.1.3 Condiciones de cultivo

La alimentación de las lubinas siempre fue manual a saciedad aparente seis días a la semana dos veces por día, en la mañana a las 9:00 h y en la tarde a las 13:00 h.

Se determinaron las variables ambientales de concentración de oxígeno disuelto y temperatura, registrándose sus valores por la tarde.

En todos los experimentos se realizó un muestreo mensual durante los bioensayos de crecimiento, donde se registró el peso total y la longitud total. Para el muestreo se utilizó una balanza marca Sartorius (modelo PT 500) de 0,01 g de precisión y un ictiómetro de 0,1 cm de precisión. Para facilitar el manejo de los peces estos fueron sedados con el anestésico aceite de clavo (5 ml por 100 L de agua). Para la recuperación de los peces se aumentó el flujo de agua y la aireación en los estanques. Los muestreos se realizaron tras 24 h de ayuno.

3.1.4 Parámetros productivos evaluados

3.1.4.1 Crecimiento y sobrevivencia

Al término del experimento, se valoró la sobrevivencia, el crecimiento en peso y en longitud en cada estanque, también se evaluó el porcentaje de crecimiento diario (SGR) a través de la ecuación de Ricker (1975):

- *Incremento en Peso = Peso final – Peso inicial*
- *% Crecimiento diario (SGR) = (100 x (ln Peso final - ln Peso inicial))/t (Días)*
- *% sobrevivencia = (N° final de peces/ N° inicial de peces) x 100*
- *Índice de condición (K):* Está basado en la premisa que el peso es proporcional a la talla al cubo; si $K < 1$ el pez está en una pobre condición, si $K = 1$ el pez está en buena condición y si $K > 1$ el pez aparece con acumulación de grasa.

$$K = (\text{Peso (g)} / \text{Talla (cm)}^3) \times 100$$

3.1.4.2 Efectividad del Alimento

Al término de los experimentos de crecimiento se evaluó la efectividad del alimento mediante los siguientes parámetros:

$$FCR = \text{Alimento entregado (g)} / \text{Ganancia en peso (g)}$$

3.2 Experimentos de calidad

El trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Carne y el Pescado de la Facultad de Veterinaria (Universidad de Zaragoza). 54 lubinas (18 peces de cada dieta) capturadas de los tanques fueron inmediatamente sacrificadas por medio de hielo y transportadas al laboratorio en una caja aislada de poliestireno con hielo. El peso medio de los peces fue 833 ± 125 g. Fueron realizados 4 puntos de análisis, en el punto 1 (inicial) y el 4 (final) se utilizaron 4 peces, en el punto 2 y 3 se utilizaron 5 peces. Los filetes con piel fueron obtenidos manualmente usando un cuchillo aséptico. El peso medio de los filetes de lubina fue $142,52 \pm 34,09$ g. En cada filete, en presentación lateral interna, fueron realizados cortes profundos, paralelos y perpendiculares a la espina dorsal, a una distancia de 3 mm entre cada corte, en sentido dorsoventral. Se analizaron dos replicas de cada tratamiento en cada punto (Fig. 3.6), nombradas como A y B (las réplicas siempre son dos peces diferentes). La piel fue conservada intacta para proporcionar estabilidad al filete.

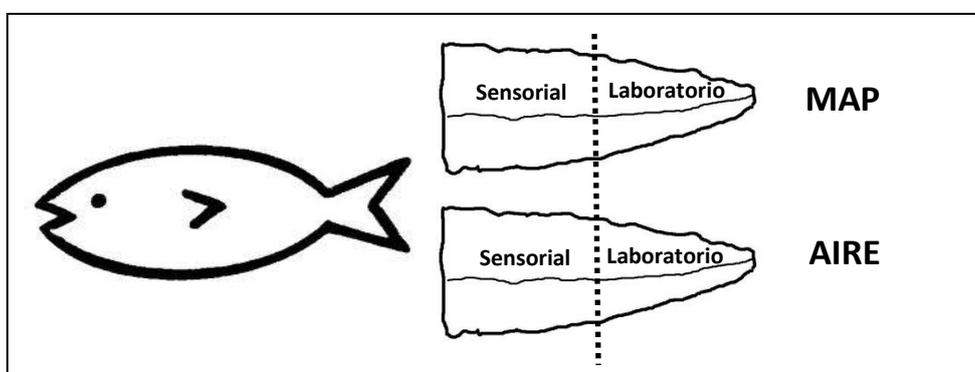


Figura 3.6. Preparación y codificación de las muestras

3.2.1 Determinación de la frescura y Análisis Organoléptico

En el momento de la recepción de las muestras, se llevó a cabo un análisis sensorial en fresco (Índice de frescura) de los ejemplares mediante examen visual.

Se utilizó el índice reflejado en el RD 331/ 1999 del 26 de febrero, que establece la normalización y tipificación de los productos de la pesca, frescos, refrigerados o cocidos. En este Real Decreto se establece la frescura del producto en base a la observación de la piel, la mucosidad cutánea, el ojo, las branquias, el peritoneo en el eviscerado, el olor de las branquias y la cavidad abdominal y la consistencia de la carne, determinando en cada caso, según las características observadas, una clasificación en cuatro categorías. Las categorías propuestas son Extra, Categoría A, Categoría B y Ejemplares No Admitidos.

3.2.2 Procesado y envasado de las muestras

El procesado de las muestras consistió en el eviscerado y fileteado de las mismas a mano y el posterior envasado en bandejas de poliestireno expandido selladas con una lamina de polietileno y poliamida con una permeabilidad al vapor de agua de $5-7 \text{ gm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ y $40-50 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ de permeabilidad al oxígeno a 23°C (Irma, Zaragoza) en maquina de envasado (ULMA SMART-400, ULMA Packaging, Oñate, Guipuzkoa, España). Se utilizaron un combinación diferentes de gases obteniéndose así un lote 40% CO_2 y 60% N_2 ; además de un segundo lote de filetes envasados con aire en las mismas bandejas utilizando para cubrirlas una lamina de film transparente permeable a los gases. Todos los paquetes se mantuvieron a 4°C en las condiciones de iluminación estándar de supermercados (14 h al día) durante 14 días del tiempo de almacenamiento.

Antes del envasado, se pesaron los filetes de lubina para conocer el peso inicial y ver la evolución de la merma a lo largo del tiempo.

En este punto se separaron dos ejemplares para realizar un punto de control inicial de los parámetros de calidad que se estudiaron a lo largo de todo el periodo experimental.

Cada filete de cada tratamiento se dividió en dos muestras, una para los análisis sensoriales y otra para los análisis en laboratorio (Fig. 3.8). Los análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales fueron realizados a los 0, 5, 10 y 14 días de almacenamiento.

3.2.3 Análisis físico-químicos

3.2.3.1 Determinación de pH

El pH de las muestras se midió por homogenización de 3 g de musculo en 30 ml de agua destilada durante 10 segundos a 13.000 rpm con un Ultra-Turrax T25 (Janke & Kunkel, Staufen, Germany) utilizando un pH metro modelo 2001 (Crison Basic 20, Barcelona, España).

La determinación del pH se realizó midiendo el potencial desarrollado entre los electrodos, con un electrodo combinado, previamente calibrado con las disoluciones de pH 7,00 y pH 4,00. Las medidas se realizaron por triplicado.

3.2.3.2 Pérdida de agua

La merma o pérdida de agua, se midió en base a la disminución de peso del filete de lubina durante el almacenamiento. Fue determinada modificando la ecuación propuesta por Roth *et al.* (2006). Los resultados fueron expresados como porcentaje sobre el peso inicial del filete mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida de agua} = \left(\frac{\text{Peso inicial del filete} - \text{Peso final del filete}}{\text{Peso inicial del filete}} \right) * 100$$

3.2.3.3 Concentración de gases en el espacio de cabeza

En cada punto de control, se midió la concentración de gases en el espacio de cabeza del envase con un medidor de gases (Witt-Gasetechnik, Oxybaby, O₂/CO₂, Witten, Germany) para conocer la evolución de la atmosfera a lo largo del tiempo.

3.2.3.4 Medida del color

El color de las muestras se determinó por medida de los valores L (luminosidad), a* (índice de rojo) y b* (índice de amarillo) en la superficie del músculo mediante el uso de un espectrofotómetro de reflectancia (Minolta CM-2002; Osaka, Japón). La medida se realizó 30 minutos después de la apertura del envase para la estabilización del color y se realizaron diez replicas de cada muestra.

3.2.3.5 Determinación de bases volátiles totales de nitrógeno BVT-N

Fue utilizado el método propuesto por Goulas y Kontominas (2005), en donde se molieron 10 g de muestra de carne de pescado con 50 ml de agua destilada usando un picador Moulinex®. El material fue transferido con 200 ml de agua destilada a un baker de 500 ml y destilado después de la adición de 2 g de MgO y una gota de silicona para prevenir la formación de espuma. Luego se llevó a un erlemeyer de 250 ml, que contenía 25 ml de solución de ácido bórico 3% p/v, 0,04 ml de rojo metilo y azul de metileno como indicadores para el tratamiento del amonio. La destilación se continuó llevando a un volumen final de 125 ml del destilado obtenido. La solución de ácido bórico vira a verde cuando es alcalina por el destilado de BVT-N. La solución fue tratada posteriormente con solución 0,1 N de ácido hidroclicórico. La destilación se concluyó cuando el color del destilado cambió a rosado por la adición gota a gota del ácido hidroclicórico. La cantidad de BVT-N en mg/100 g de carne de pescado, fue calculada del volumen (V) de ácido hidroclicórico adicionado y su concentración (C) por la siguiente ecuación:

$$\%mg \text{ BVT-N} = (V * C * 14 * 100) / I$$

3.2.3.6 Determinación de índice peróxidos

El índice de peróxidos es una medida de la cantidad total de oxígeno unida a una grasa en forma de peróxido, y por tanto constituye una estimación de si la grasa está más o menos oxidada. Se define el índice de peróxidos como la cantidad determinable de oxígeno activo que hay en 1 kg de muestra.

Se pesaron 2 g de muestra, con una aproximación de 0,05 g, y se colocaron en un erlenmeyer de 250 ml. Se agregaron 30 ml de solución de ácido acético:cloroformo (3:2 v/v) y se agitó vigorosamente hasta disolución. Se adicionaron 0,5 ml de solución saturada de ioduro de potasio, se agitó y luego se dejó en reposo en oscuridad durante 1 min. Posteriormente, se agregaron 30 ml de agua destilada y se tituló, agitando continuamente, con solución 0,1 N de tiosulfato de sodio hasta desaparición del color amarillo. Se adicionaron 0,5 ml de solución de almidón (1% p/v) y se continuó titulando hasta desaparición del color azul. El índice de peróxidos (expresado como miliequivalentes de oxígeno/kg de aceite) se calculó en base a la siguiente ecuación:

$$IP = (S \times N^* \times 1000) / (g \text{ de muestra})$$

Donde:

- S = ml de solución de tiosulfato de sodio consumidos.
- N* = normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

* Cuando se utilizaron menos de 0,5 ml de solución 0,1 N, se repitió la determinación con solución 0,01 N.

3.2.3.7 Determinación de ácido 2-tiobarbitúrico.

Fue usado el método basado en la cuantificación espectrofotométrica del complejo Rosado después de la reacción de una molécula de malonaldehído producto de la destilación, con dos moléculas de ácido 2-tiobarbitúrico adicionado al destilado (Pfalzgraf, Frigg y Steinhart, 1995),

- **Preparación de la solución de ácidotiobarbitúrico TBA.**

Fue preparada pesando 0,288 g de TBA (Merck, Alemania) y transfiriéndola a un beaker de 100 ml con 90 ml de agua destilada. El beaker fue colocado en un baño de agua a 80 °C hasta la completa disolución. La solución fue transferida a 100 ml hasta completar el volumen con agua destilada y la concentración 0,021 M.

- **Determinación de TBA**

Se homogenizaron 10 g de muestra más 20 ml de ácido tricloroacético (TCA) en un Ultra-Turrax (JANKE & KUNKEL modelo T25, Alemania) a 20.000 r.p.m durante 90 segundos. Después de homogenizar la muestra, se filtró con papel filtro cuantitativo número 42 (Whatman Internacional, Maidstone, England) y se tomaron 2 ml de filtrado, que se mezclaron en tubos con 2 ml de una solución de TBA preparada. La solución fue calentada a 97 °C durante 20 min en un baño de agua para permitir el desarrollo del color. Se determinó la absorbancia de las muestras a 532 nm utilizando un espectrofotómetro (Umicam 5625 UV/VIS, Cambridge, UK). Las determinaciones se hicieron por triplicado y los resultados fueron calculados mediante una curva patrón usando 1,1,3,3, tetrametoxipropano y expresados como sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico en mg de malonaldehído/kg de muestra.

3.2.4 Análisis microbiológicos

Se analizó la presencia de microorganismos mesófilos y psicrotrofos totales en las muestras para estudiar su evolución en el tiempo. Se utilizó el método de recuento en placa, usando agar PCA (Merck; Darmstadt, Germany). Se llevaron a cabo diluciones, partiendo de 10 g de músculo y 90 ml de agua de peptona esterilizada al 0,1% a la que se le añadió un 1% de NaCl. La muestra se sometió a homogeneización durante un minuto (IUL, Masticator, Barcelona, España) y se prepararon diluciones seriadas a partir de 1 ml de esta muestra inicial en 9 ml de agua de peptona al 0,1% y 1% de NaCl. Cada dilución se sembró por duplicado, para ello, se tomó un ml de muestra y se realizó una siembra en masa con agar PCA.

Para el recuento de mesófilos se incubaron las muestras durante 48 horas en estufa a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ y en el caso de los psicrotrofos 7 días a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$. En base a la morfología observada se contaron las colonias y los datos se expresaron como logaritmo del número de unidades formadoras de colonias por gramo de pescado (UFC/g).

Determinación de Salmonella.

10 g de filete fueron homogeneizados en 90 ml de agua de peptona tamponada e incubados a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Un ml del cultivo se adicionó a un tubo de ensayo con 10 ml de caldo tetratiónato, agregando 2 gotas de Lugol y 2 gotas de verde brillante al 0,1% p/v, incubado a $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h. El medio de cultivo selectivo utilizado fue

agar XLD (Xilosa Lisina Deoxicolato), agar BS (Bisnuto Sulfito) y agar VB (Verde Brillante) por el método de agotamiento de superficie y se incubó a 37 ± 1 °C durante 24 h.

Determinación de Listeria

10 g de filete fueron homogeneizados en 90 ml de caldo fraser semi e incubados a 37 ± 1 °C por 24 h. 0,1 ml del cultivo se adicionó a un tubo de ensayo con caldo fraser completo, incubado a 37 ± 1 °C durante 48 h. El medio de cultivo selectivo utilizado fue agar Aloa y se incubó a 37 ± 1 °C durante 24 h.

Determinación de Enterobacteria

Se utilizó el método de recuento en colonias, usando agar VRBD (Violeta cristal-rojo neutrobilis - glucosa). Se llevaron a cabo diluciones, partiendo de 10 g de musculo y 90 ml de agua de peptona esterilizada al 0,1% a la que se le añadió un 1% de NaCl. Cada dilución se sembró por duplicado, para ello, se tomo un ml de muestra y se realizó una siembra en masa con agar VRBD.

Para el recuento de enterobacterias se incubaron las muestras durante 24 h en estufa a 37 ± 1 °C. Cálculo del número de Enterobacteriaceae por gramo de muestra, a partir del número de colonias características confirmadas obtenidas en las placas de Petri.

Determinación de Bacterias Acido Lácticas

El contaje de los Bacterias Acido Lácticas se realizó por el método de superficie utilizando agar MRS (De Man, Rojosa y Sharpe) en el cual se colocó 0,1 ml de cada dilución de la muestra, luego se incubó por 48 horas a 35°C en jarra de Gas Pack bajo condiciones microaerófilas (5-10% de CO₂); transcurrido este tiempo se contaron las colonias como bacterias acido lácticas.

3.2.5 Análisis sensorial

Se utilizó un panel de cinco catadores (2 mujeres y 3 hombres) entrenados que evaluaron diferentes parámetros tanto en los filetes en crudo como en cocinado. Se siguió el método descrito por Gimenez, Roncales y Beltran (2005) con pequeñas variaciones, y la preparación y presentación de las muestras, así como el acondicionamiento de la sala de catas (aislamiento de los catadores, iluminación) se llevó a cabo según un código de prácticas estándar (Botta, 1995).

Las sesiones de entrenamiento tuvieron como objetivo definir los atributos que determinan la calidad sensorial de la lubina y unificar los criterios de evaluación. Para el entrenamiento se emplearon muestras de lubina almacenada comercial, a partir de las cuales se seleccionaron, en primer lugar, los descriptores más adecuados para este tipo de producto, y a partir de estos atributos se establecieron los niveles de intensidad y aceptación de cada uno de ellos.

Una vez completado el entrenamiento del panel, se procedió a la evaluación sensorial de la lubina envasada en atmosfera modificada y en aire, realizando las pruebas a los 0, 5, 10 y 14 días de almacenamiento en refrigeración.

En los filetes crudos se evaluó tanto el color como el olor. El color se evaluó con una escala estructurada de cuatro puntos:

- 1 = color característico de lubina fresca;
- 2 = ligera decoloración;
- 3 = moderada decoloración;
- 4 = fuerte decoloración;

Respecto al olor, se evaluó el olor de pescado y otros olores. Para el olor a pescado se utilizó una escala estructurada de siete puntos:

- 1 = olor a fresco;
- 2 = olor neutro;
- 3 = ligeramente a pescado;
- 4 = moderadamente a pescado;
- 5 = fuerte a pescado;
- 6 = muy fuerte a pescado;
- 7 = casi pútrido.

Y para otros olores, una de seis puntos:

- 1 = olor inexistente a fermentado;
- 2 = ligeramente a fermentado;
- 3 = moderadamente fermentado;

- 4 = fuerte a fermentado;
- 5 = muy fuerte a fermentado;
- 6 = extremadamente fermentado.

Para el análisis tras el cocinado, los filetes fueron troceados en cinco piezas de similares dimensiones, cocinados al vapor hasta alcanzar una temperatura interna de 72°C y servidos a los catadores todavía calientes envueltas individualmente en papel de aluminio y codificadas con números de tres dígitos (Fig. 3.7). En estas muestras se evaluaron varios atributos usando escalas no estructuradas con valores comprendidos entre cero y diez, siendo la puntuación de cinco el umbral de aceptación. Los parámetros evaluados fueron;

- aspecto (nada atractivo→ muy atractivo)
- olor característico (ausente→ muy intenso)
- firmeza (muy blando→ muy firme)
- jugosidad (nada jugoso→ muy jugoso)
- intensidad de flavor a fresco (ausente→ muy intenso)
- intensidad de flavor indeseable (ausente→ muy intenso)
- aceptabilidad global (me disgusta mucho→ me gusta mucho)

En cada sesión los catadores debían evaluar doce muestras, dos muestras de cada tratamiento (atmosfera modificada y aire) de las tres dietas. Los catadores realizaron la evaluación de las muestras por duplicado en cada sesión.



Figura 3.7. Presentación de las piezas del filete de lubina.

3.3 Análisis estadístico

Los datos de crecimiento obtenidos fueron comparados a través de un análisis de varianza de una vía (ANOVA), y las diferencias entre medias se compararon utilizando el test de Tukey con un intervalo de confianza del 95% ($P < 0,05$). Previa a la aplicación de la anova se verificó la homogeneidad de varianza. Los datos de calidad fueron analizados con el Modelo Lineal General del paquete estadístico SPSS, versión 15.0, con los factores fijos la dieta, el tipo de tratamiento y el tiempo de almacenamiento, y para determinar la significación de las diferencias entre las muestras estudiadas usando un análisis de varianza (ANOVA). Se determinaron como diferencias significativas aquellas con una significación con un nivel $P < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSION

4. Resultados y discusión

4.1 Crecimiento

Durante las 21 semanas de experimentación, todas las dietas experimentales fueron bien aceptadas por los peces. La sobrevivencia fue cercana al 99% para todos los tratamientos.

4.1.1 Peso

En la figura 4.8 se muestra la evolución del peso medio de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas a lo largo de todo el ensayo, observándose un crecimiento similar y continuo del peso medio de todas las lubinas. Fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de los pesos promedios correspondientes a los diferentes lotes analizados ($P > 0.05$).

El uso de aceites vegetales en las dietas, independiente de su nivel de incorporación (50%), presenta una respuesta similar de crecimiento a la obtenida por la dieta control. El peso medio final para las dietas se distribuyó entre los 711,97 g para la dieta 1, 684,24 g para la dieta 2 y 704,05 g para la dieta 3 (Dieta Control). Ello es debido a que las harinas de pescado también contienen cierta cantidad de aceites, que al final del proceso de fabricación se estima en un 8-10% por término medio (Bimbo, 2000), con independencia de la capacidad biosintética de la especie, tanto en salmónidos (Bell *et al.*, 2003a; Brandsden *et al.*, 2003; Torstensen *et al.*, 2004) como en especies marinas (Regost *et al.*, 2003; Piedecausa *et al.*, 2007),

La misma tendencia es compartida entre las diversas investigaciones llevadas a cabo en el uso de diferentes tipos de aceite como sustituto del aceite de pescado en la formulación de dietas para Salmónidos. (Hardy *et al.*, 1987; Bell *et al.*, 2002; Caballero *et al.*, 2002; Regost *et al.*, 2003).

Con independencia de la cantidad total de EPA y DHA, hay múltiples evidencias en la bibliografía sobre los efectos del cociente EPA/DHA sobre el crecimiento de peces en cultivo. La influencia de este cociente es especialmente evidente durante las primeras fases del desarrollo larvario (Mourente *et al.*, 1993; Ibeas *et al.*, 1997; Rodríguez *et al.*, 1998), aunque no están totalmente descartados ciertos efectos del cociente EPA/DHA sobre el crecimiento de juveniles-adultos de lubina u otras especies de peces.

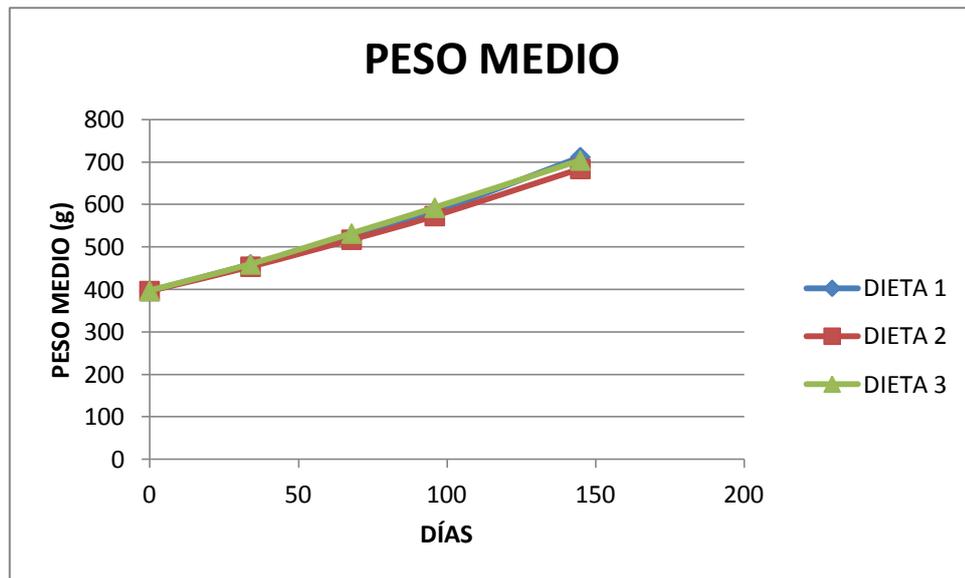


Figura 4.8. Evolución del peso medio de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.

4.1.2 Tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento específica disminuyó a lo largo del tiempo de cultivo (Fig. 4.9). Las lubinas alimentadas con las diferentes dietas presentaron al inicio del experimento iguales tasas de crecimiento específicas, la dieta 1 con 0,56, la dieta 2 con 0,52 y la dieta 3 con 0,56.

Considerando cada periodo experimental, se observó una disminución de la tasa de crecimiento alcanzando valores al final del experimento 0,49 para la dieta 1, 0,43 para la dieta 2 y 0,42 para la dieta 3.

No hay efecto de la dieta sobre la tasa de crecimiento pero existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos. Esto, se debe a la capacidad que la lubina posee de adaptarse a las dietas que contienen aceites vegetales dentro del primer mes de alimentación (Refstie *et al.*, 1997 citado por Serrano, 2004).

La tasa de crecimiento de los peces expresada mediante la tasa de crecimiento específico (SGR), no presentó diferencias entre los tratamientos. Tocher *et al.* (2000) y Dosanjh *et al.* (1988), sostienen que el reemplazo de la fuente lipídica animal por una vegetal no afecta el crecimiento de los peces. Bell *et al.* (2001) al reemplazar hasta el 50% de la fuente lipídica con aceite de raps en dietas de salmón atlántico no encuentra diferencias significativas. Por otra parte, Caballero *et al.* (2002) en una experiencia de 64 días demostró que cambiar la fuente lipídica animal por una vegetal hasta en un 50% no produce efectos adversos en el crecimiento de trucha arcoiris.

Algunos estudios han reportado una sustitución exitosa del 60% de aceite de pescado por aceite de canola para la dorada (*Sparus aurata*) y la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) (Izquierdo *et al.*, 2003).

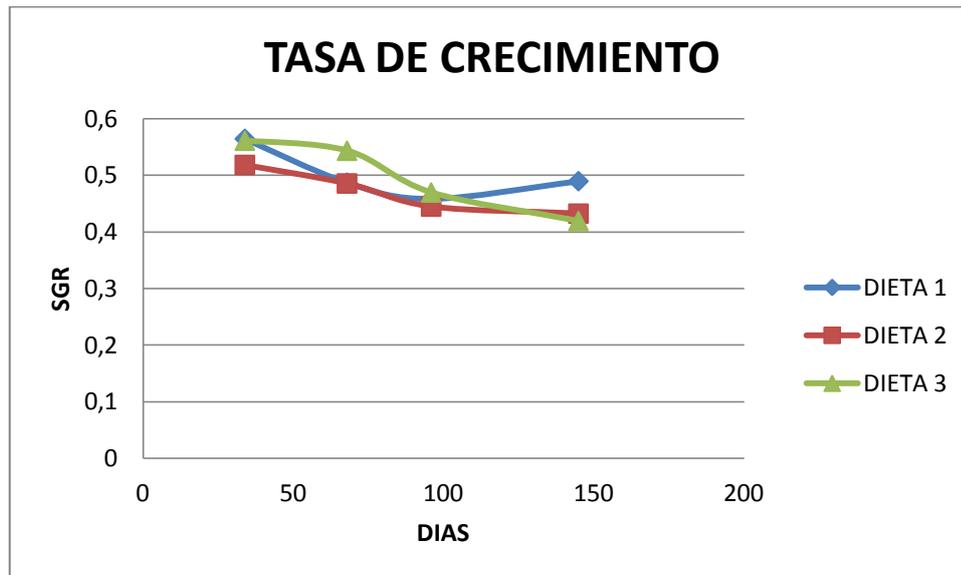


Figura 4.9. Evolución de la tasa de crecimiento específica de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.

4.1.3 Índice de condición

Una forma de valorar el estado nutritivo de los peces en cultivo es a través del índice de condición (K), que puede asociarse a una valoración de la contextura o estado de delgadez u obesidad. En la experiencia para las tres dietas, los valores iniciales (día = 0) estuvieron cercanos a 1,40, lo que indica el buen estado fisiológico de los peces durante la experiencia, además indica que las lubinas aparecen con acumulación de grasa.

A lo largo de tiempo se observó un aumento similar y continuo en el índice de condición en todos tratamientos en relación al primer periodo, alcanzando un 1,47 hasta al final para la dieta 1 y hasta el día 68 para la dieta 2 y 3 después se queda constante (Fig.4.10). Fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas entre los resultados de índice de crecimiento promedios correspondientes a los diferentes lotes analizados ($P > 0.05$).

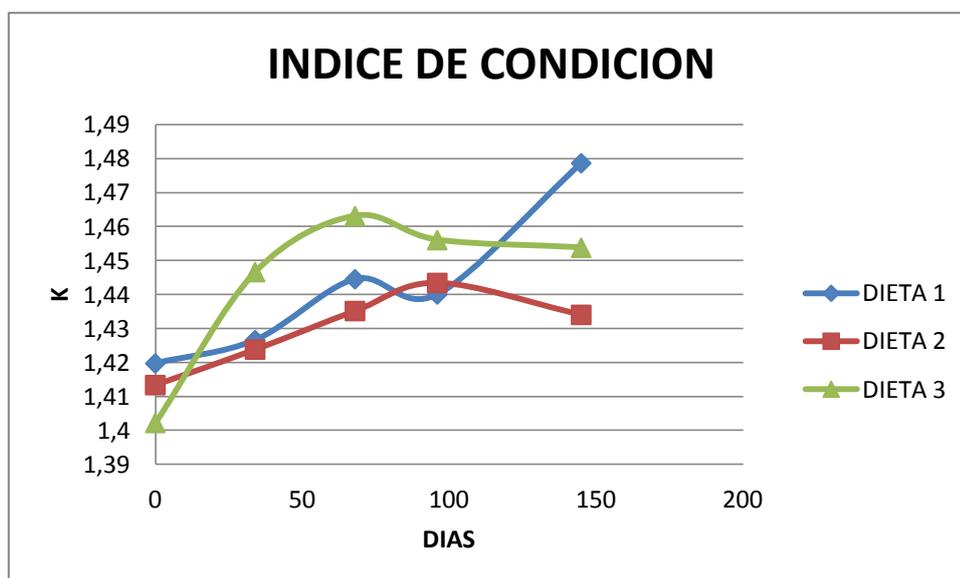


Figura 4.10. Evolución de índice de condición de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.

4.1.4 Tasa de conversión alimentaria

Otro de los factores analizados ha sido la conversión del alimento (FCR). Una vez analizados los datos de alimento consumido con respecto a la ganancia de peso obtenida, fue posible calcular la tasa de conversión alimentaria para cada tratamiento, encontrando que las lubinas alimentadas con la dieta 3 (dieta control) aprovecharon mejor el alimento ingerido que las lubinas alimentadas con las dietas 1 y 2.

A lo largo del desarrollo del experimento se observó un aumento similar y continuo de tasa de conversión hasta el día 96 con mejor conversión para la dieta 3. Después empezó a disminuir, alcanzando al final valores cercanos a 2 (Fig. 4.11).

El valor de la tasa de conversión del alimento está estrechamente relacionado con la digestibilidad y utilización metabólica de las dietas (Morales *et al.*, 1994). Caballero *et al.* (2001) señalan que un valor elevado en el FCR sería producto de una baja digestibilidad del alimento así como también de un pobre aporte de lípidos por parte de la dieta. Los resultados del FCR entre 1 y 2 en este estudio reflejarían una buena digestibilidad y aporte de lípidos.

Caballero *et al.* (2002) sostienen además que el reemplazo parcial de la fuente lipídica animal por una vegetal como soya, raps, palma u oliva, no causa efectos en la tasa de crecimiento de los peces pero sí disminuye el factor de conversión. Torstensen *et al.* (2000) y Bell *et al.* (2002) por su parte, usando aceites de palma y maravilla mezclados con aceite de capelín, obtuvieron un factor de conversión que fluctuó entre el 0,85 y 0,9

respectivamente. Esto, hace suponer una buena digestibilidad de los lípidos de origen vegetal en los salmónidos y un buen aporte de energía para ellos.

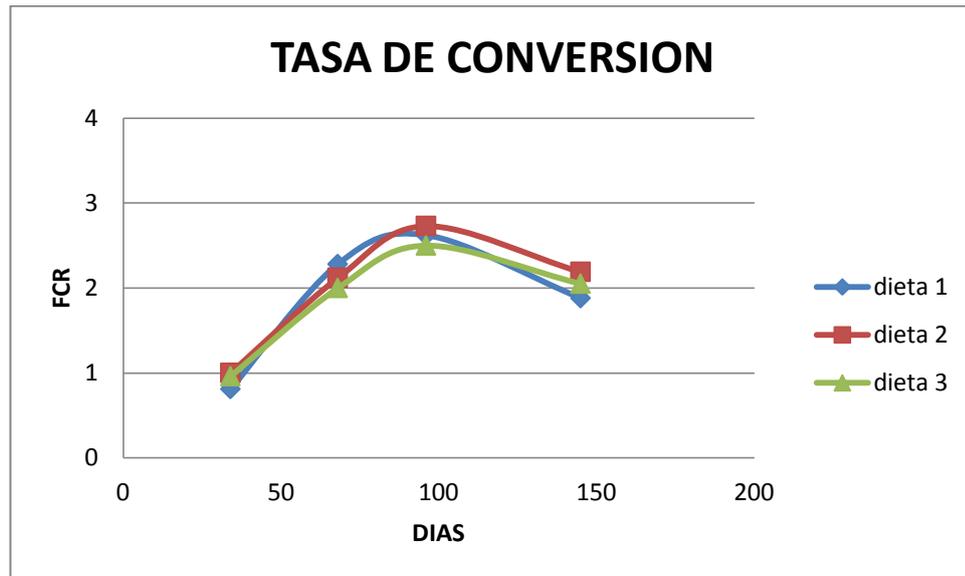


Figura 4.11. Evolución de la tasa de conversión de las lubinas alimentadas con las diferentes dietas durante el experimento.

4.2 Envase en atmosfera modificada

4.2.1 Análisis fisicoquímicos

4.2.1.1 Medida del pH

Los valores iniciales de pH de los filetes de lubina fueron de 5,99 para la dieta 1; 6,07 para la dieta 2 y 6,05 para la dieta 3. Durante el periodo de almacenamiento, todos los lotes se mantuvieron bastante constantes con valores del aire mayores que los de las atmosferas modificadas, alcanzando para el último día un valor de 6,16 para la dieta 1; 6,13 para la dieta 2 y 6,16 para la dieta 3.

El ascenso del pH a lo largo del tiempo es debido probablemente a la producción de compuestos básicos (Pastoriza *et al.*, 1996) como amonio, trimetilamina y otras aminas biógenas producidas a consecuencia del deterioro del musculo por parte de las bacterias (Ruiz-Capillas & Moral, 2001) (Fig. 4.12).

Por otro lado la disminución en los valores de pH en muestras envasadas en atmosfera modificada con CO₂ a lo largo del tiempo podría ser debido a la absorción de CO₂ en la superficie del filete y la ionización subsecuente del ácido carbónico (Banks *et al.*, 1980 y Finne, 1982). Sin embargo, otros autores consideran que el incremento de acido

carbónico disuelto en el tejido muscular está asociado a las altas concentración de CO₂, evento que puede afectar la calidad de los filetes (Sivertsvik *et al.*, 2004).

Se obtuvieron resultados similares en otros estudios (Torrieri *et al.*, 2006), donde la lubina eviscerada envasada en MAP mostró una disminución de los valores de pH y las muestras de aire, por el contrario, mostraron un incremento sobre el mismo. Otros autores como Pastoriza *et al.* (1998) y Ruiz-Capillas y Moral. (2001) reportaron valores similares.

El descenso en el pH contribuiría a una mejor conservación del producto, aunque hay que destacar que los valores de pH de todas las muestras, se encuentran dentro de los valores óptimos de crecimiento microbiano, causa principal del deterioro del pescado (Doyle, 2001).

Tras analizar los resultados, observamos que existen diferencias significativas entre el aire y las atmosferas modificadas ($P \leq 0,012$), y entre las dietas ($P \leq 0.017$).

Los bajos valores de pH observados en las muestras de arenque podrían ser atribuidos al ácido ascórbico, incorporado en la formulación como agente antioxidante, debido al elevado contenido lipídico de esta especie de pescado.

No se han encontrado trabajos sobre efecto de los dietas con diferentes contenidos lipídicos sobre el pH bajo de atmosfera modificada.

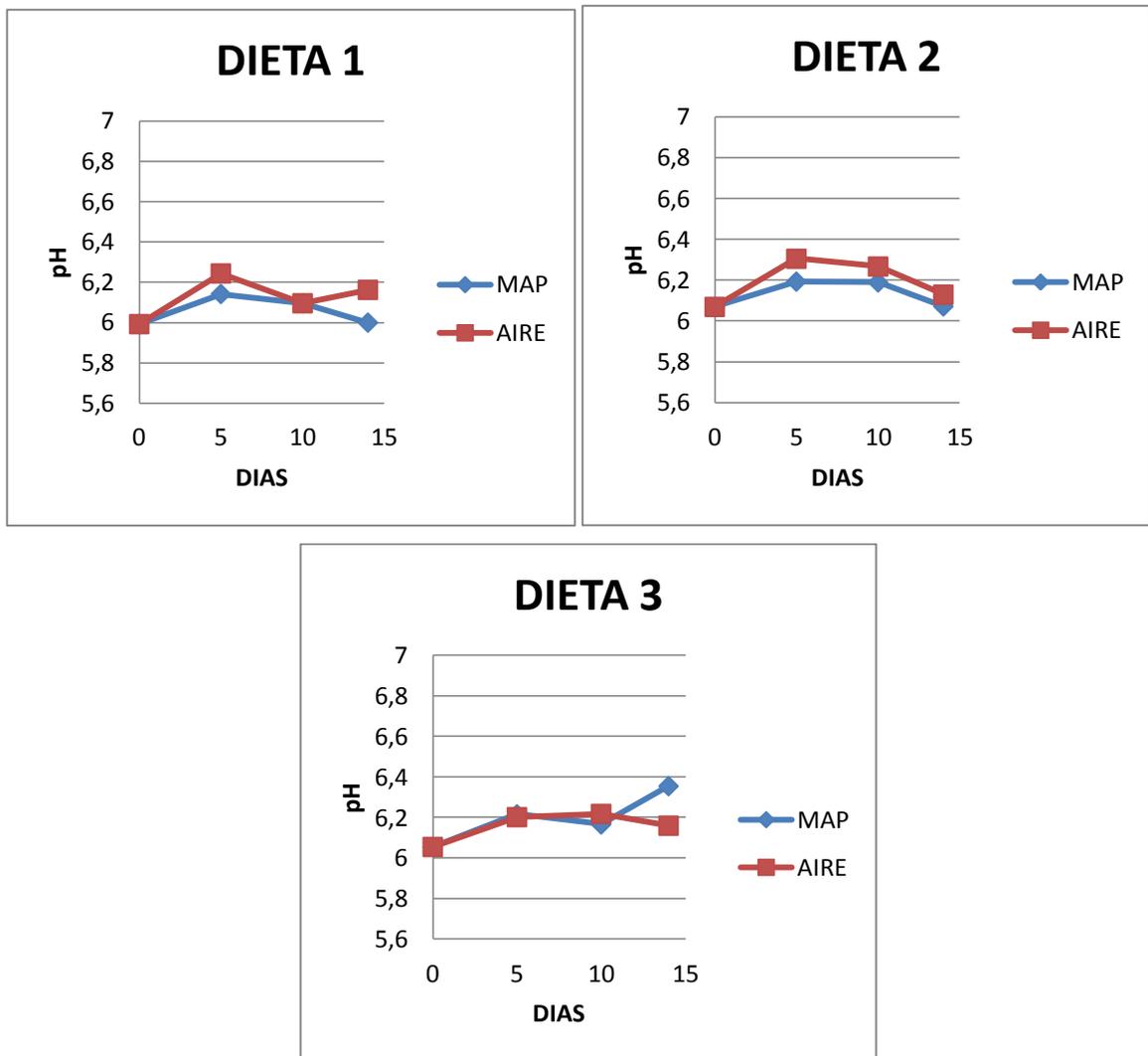


Figura 4.12. Evolución de los valores de pH de los filetes de lubina, a lo largo del periodo de almacenamiento.

4.2.1.2 Pérdida de agua

En todos estos productos conservados es importante contemplar las mermas ya que si estas son muy elevadas tienen repercusiones económicas importantes para el fabricante y por otra parte puede afectar negativamente a la presentación del producto de cara al consumidor.

Los resultados obtenidos (Fig. 4.13), muestran que las mayores pérdidas aparecen en el lote envasado en aire, apareciendo valores que van desde un 3,62 %, hasta un 8,78 % (ultimo día de estudio) para la dieta 1; un 3,23 hasta un 13,06 para la dieta 2 y un 3,55 hasta un 10 para la dieta 3, mientras que los valores para las muestras envasadas en atmosferas modificadas, oscilan entre 2,6% a día inicial y un 5% el ultimo día de estudio para la dieta 1, 1,3% y 5,1% para la dieta 2 y 2,1% y 5,1% para la dieta 3. En estos

resultados se observa que la merma va aumentando conforme avanza el tiempo, hasta que alcanza un máximo, probablemente debido a que en el musculo, se ha perdido la mayor parte de agua ligada de tipo III (menos ligada a la estructura celular) y quedan otras fracciones (tipo II y I) que son mucho más difíciles de extraer del musculo (Provincial *et al.*, 2010).

Algunos autores como Dalgaard *et al.* (1993) reportaron una mayor pérdida de agua con el aumento de las concentraciones de CO₂, y en general se reconoce que existe una correlación negativa entre el pH y la pérdida de agua (Dalgaard *et al.*, 1993), porque el dióxido de carbono favorece la exudación por acidificación de los músculos del pescado, de modo que la capacidad de las proteínas de pescado para retener el agua se reduce (Cheftel y Cheftel, 1976).

Los valores encontrados en la pérdida de agua son similares a los obtenidos por autores que trabajaron sobre la determinación de vida útil a bajo de atmosferas modificadas con el robalo (Torrieri *et al.*, 2006). Además, estos autores consideran que perdidas de agua menores de 3 a 5% no afectan de forma significativa la jugosidad de la carne de pescado.

Esta pérdida de peso comporta la aparición de líquido en los envases que puede tener efectos negativos sobre la textura de las lubinas ya que puede favorecer su ablandamiento y puede ser un medio adecuado para el crecimiento microbiológico. Para evitar eso y obtener mejores resultados sería necesario usar envases con absorbedores de agua o utilizar bandejas perforadas en la base para que se pueda evitar el contacto directo entre lubina y agua.

A pesar de los valores obtenidos, tras realizar el estudio estadístico de los mismos, podemos concluir que existen diferencias significativas ($P \leq 0,02$) entre el aire y el atmosferas modificadas pero no entre las dietas.

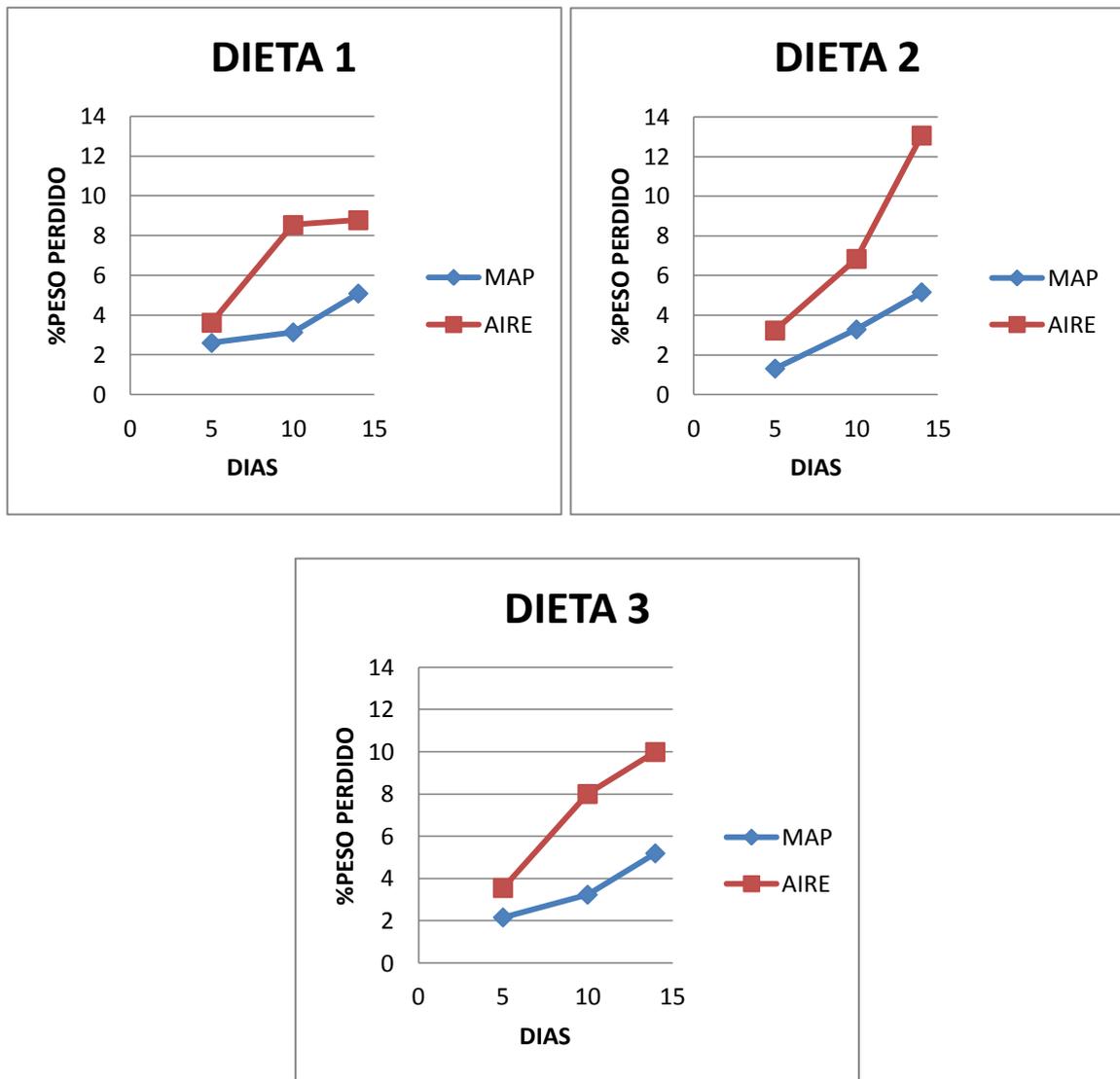


Figura 4.13. Evolución de la merma (expresada como % de peso perdido) de los filetes de lubina, envasados bajo diferentes condiciones.

4.2.1.3 Concentración de gases en el espacio de cabeza

La concentración de gases del espacio de cabeza sufre una evolución a lo largo del tiempo y genera un microambiente determinado en el interior del envase. Dichas variaciones se deben a la interacción de gases de atmosfera modificada con la muestra, al crecimiento microbiano, y relacionado también con la permeabilidad de los gases del envasado.

Probablemente, el motivo de la disminución de las concentraciones de CO_2 a lo largo del tiempo se debe a la solubilización de este compuesto en la fracción líquida del músculo (Ruiz-Capillas y Moral, 2001; Sivertsvik *et al.*, 2004) pero las variaciones de dichas concentraciones en nuestro estudio a lo largo del tiempo fueron pequeñas (Fig. 4.14)

Las mayores pérdidas de CO₂ al final de tiempo de almacenamiento (14 días) se observaron en la atmósfera modificada (expresado como porcentaje de la concentración inicial de gas), fueron un 14,75% para la dieta 1, 23,75% para la dieta 2 y 22,12% para la dieta 3.

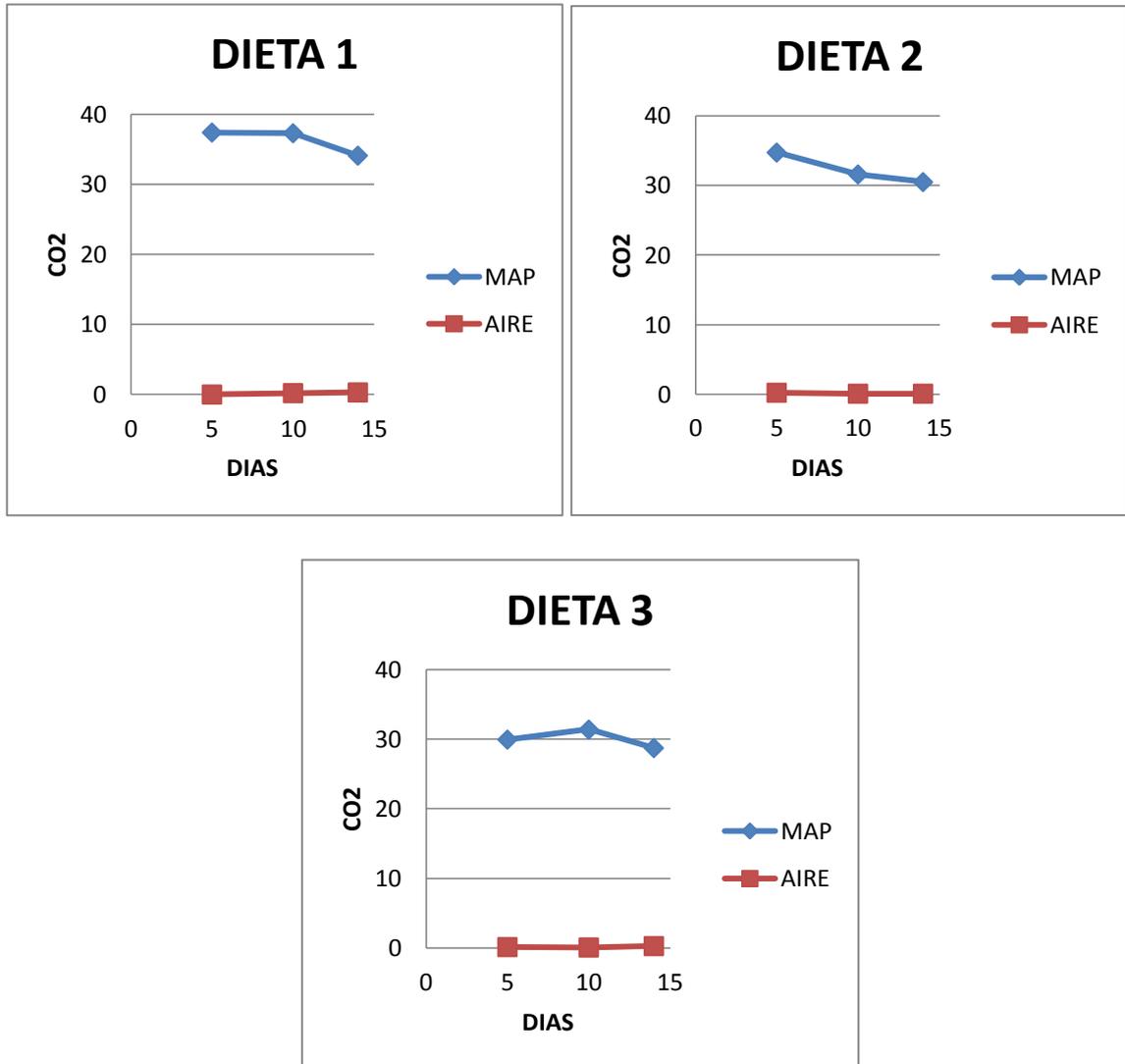


Figura 4.14. Evolución de la concentración de CO₂ a lo largo del periodo de almacenamiento.

La concentración de O₂, también sigue un comportamiento normal a lo largo del tiempo (Fig. 4.15). La presencia de oxígeno en las tarrinas, que inicialmente era casi nula, puede explicarse por dos motivos:

- Liberación del gas desde el propio producto
- Entrada de oxígeno a través del film

Las concentraciones de O₂ en los filetes envasadas en el aire disminuyeron menos del 1,0% a partir de una concentración inicial de 20,3%. La concentración fluctuó muy poco para el resto del estudio, que finalizó el día 14. La concentración de CO₂ de los mismos paquetes se incrementó de 1% a 4,3% en al final del almacenamiento. Los cambios en la composición de los gases del espacio de cabeza fueran probablemente un resultado directo de la post-mortem metabólica y procesos microbianos.

En general, los valores obtenidos en el presente estudio fueron similares a los obtenidos por diferentes autores, Reddy *et al.*, (1996) reportaron concentraciones de O₂ que se redujeron drásticamente en filetes de tilapia, también en salmón de acuicultura (Reddy *et al.*, 1997a) bagre criado en estanque (Reddy *et al.*, 1997b), bacalao (Reddy *et al.*, 1999) y lubina (Provincial *et al.*, 2010).

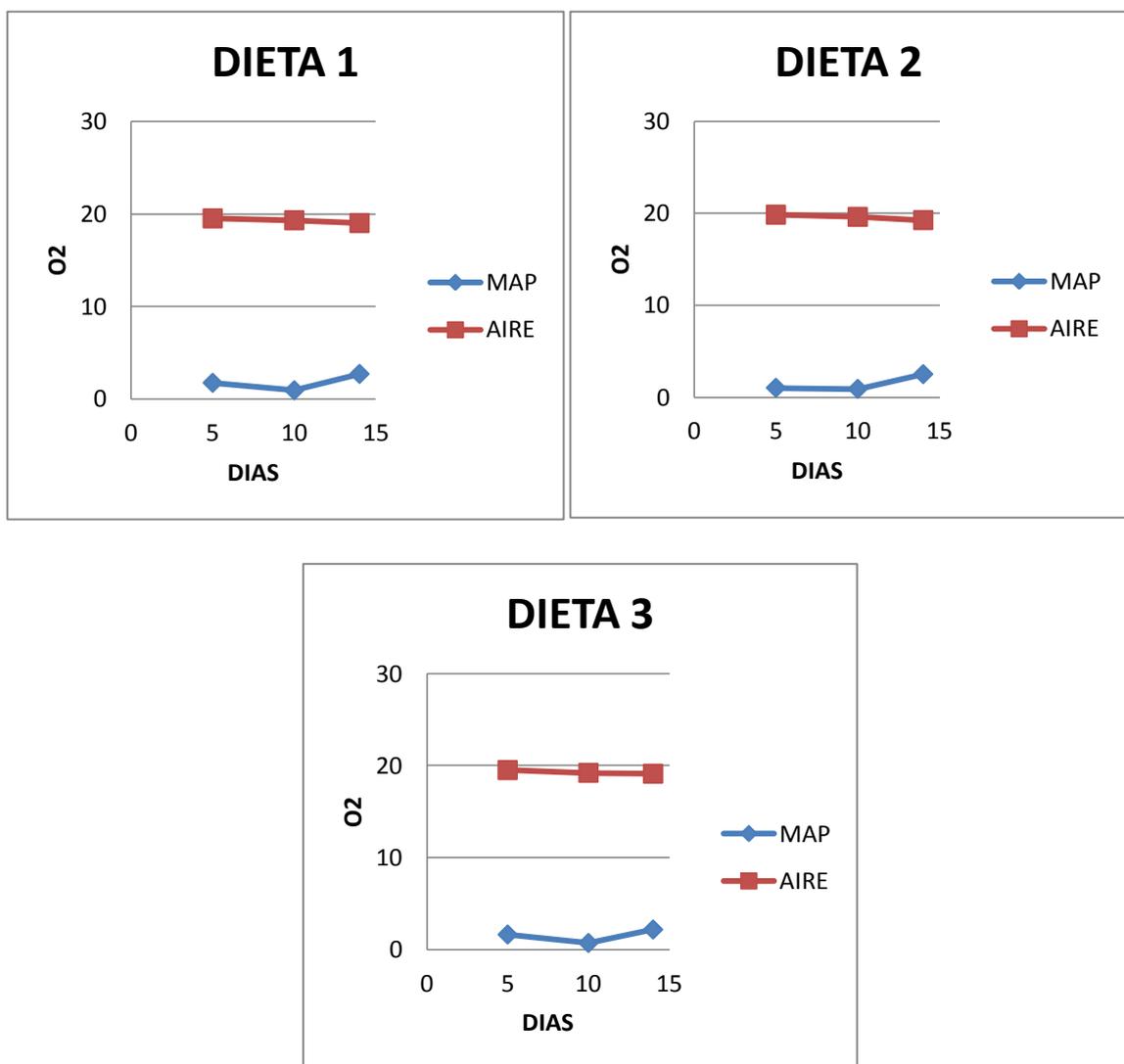


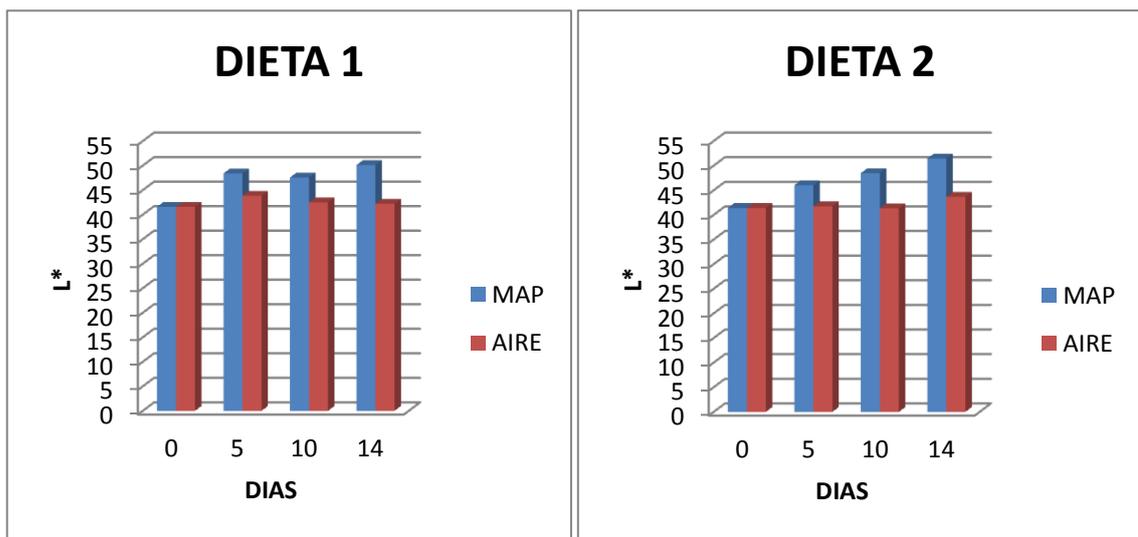
Figura 4.15. Evolución de la concentración de O₂ a lo largo del periodo de almacenamiento.

4.2.1.4 Medida del color

Los valores iniciales de luminosidad L, fueron 41,59 para la dieta 1; 41,41 para la dieta 2 y 40,92 para la dieta 3. A lo largo del tiempo, los valores de luminosidad de todos los lotes se mantuvieron bastante constantes dentro de cada tratamiento. Los valores de L del aire fueron menores que los de las atmosferas modificadas, alcanzando para el ultimo día de aceptación del lote, un valor de 42,21 para la dieta 1; 43,69 para la dieta 2 y 42,30 para la dieta 3 (Fig. 4.16). Como se ha informado en otros estudios (Pastoriza *et al.*, 1996) esto podría ser debido a un efecto de superficie adhesiva de color causado por el almacenamiento en atmósfera modificada.

Entre las tres dietas, aparecieron pequeñas diferencias que establecieron que en general, la dieta 2 presenta una mayor luminosidad que las otras dos. Estas diferencias podrían ser atribuidas a los distintos valores de humedad, valores mayores de humedad implicarían valores más altos del parámetro L.

En general, los valores de L en el presente estudio fueron similares que los consultados en la bibliografía para esta misma especie de pescado (Cakli *et al.*, 2007; Torreri *et al.*, 2006).



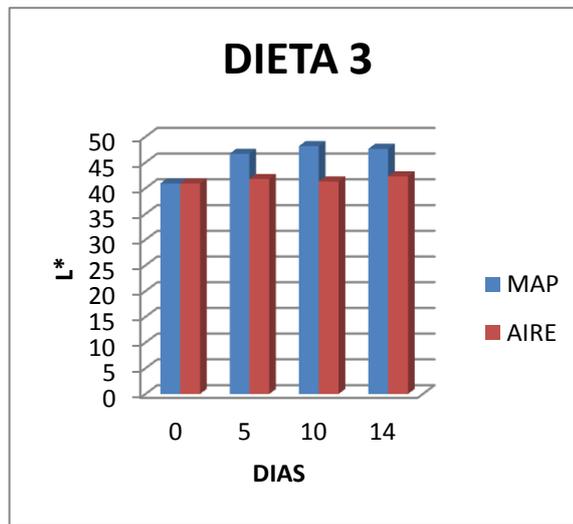


Figura 4.16. Evolución del valor L (luminosidad) a lo largo de tiempo.

Los valores de a^* , presentan mayores diferencias tanto entre tratamientos, como dentro de cada dieta a lo largo del tiempo (los valores son menos constantes) (Fig. 4.17) pero estadísticamente no son significativas, salvo para el día 4 ($P \leq 0,045$) que establece diferencias entre el aire (con mayor índice de rojo) y el atmosferas modificadas.

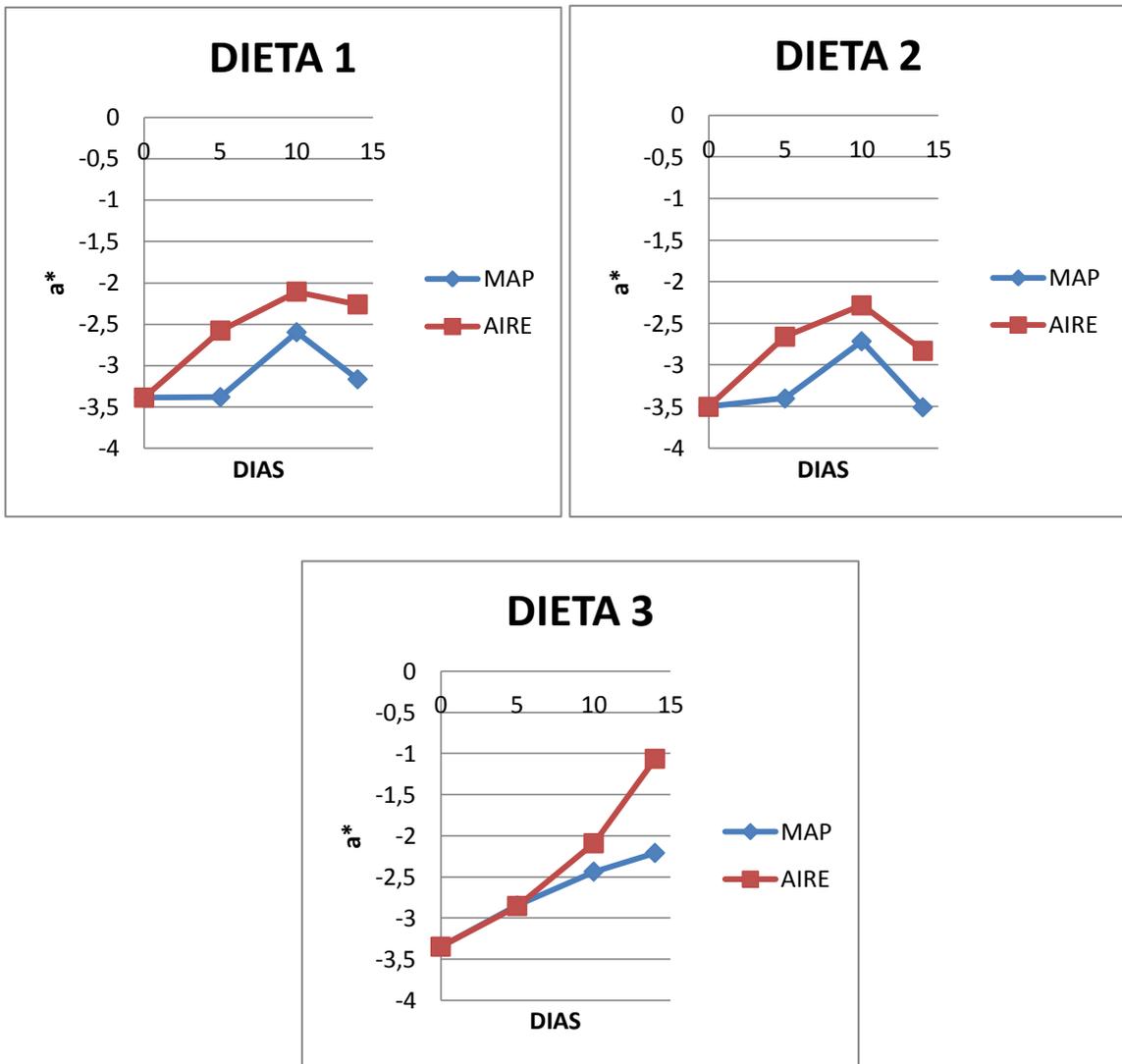


Figura 4.17. Evolución del valor a^* (índice de rojo) a lo largo de tiempo.

Respecto a b^* , ocurre lo mismo que en el caso de a^* , los valores presentan mayores oscilaciones entre tratamientos y dentro de cada dieta, a lo largo del tiempo (Fig. 4.18). En este caso, estadísticamente solo se establece una ligera tendencia ($P \leq 0,065$), que indica que el envasado en atmosfera modificada presenta mayor índice de amarillo que el aire.

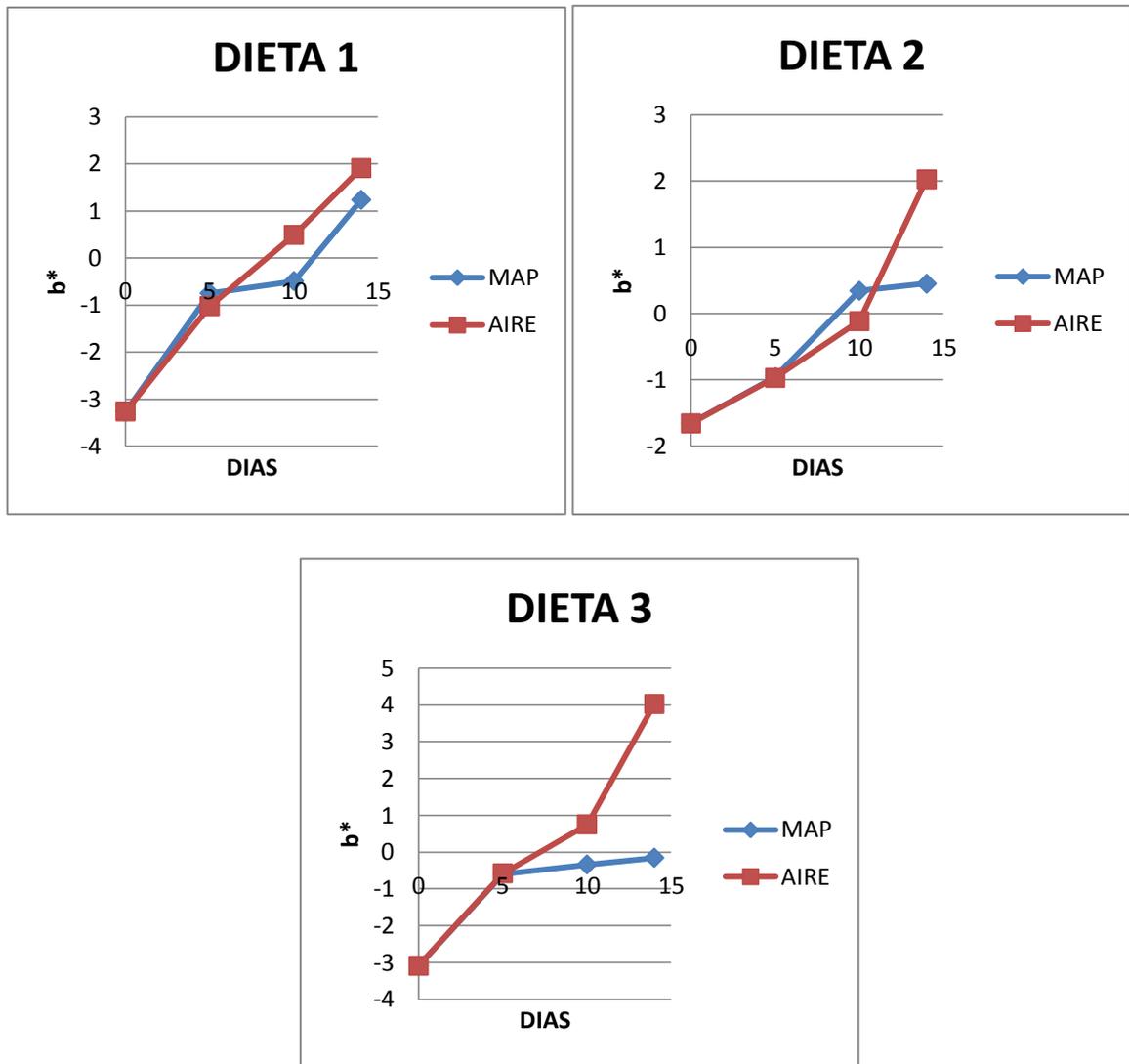


Figura 4.18. Evolución del valor b^* (índice de amarillo) a lo largo de tiempo.

Los resultados obtenidos no nos permiten establecer una clara diferenciación entre lotes atendiendo a la evolución del color, ya que la mayoría de diferencias entre los valores observados se deben a variaciones individuales de cada filete, dada la poca homogeneidad de la coloración de los mismos.

El color de un producto depende de los ingredientes con el que esta formulado y de factores como el agua libre (Judge *et al.*, 1989) y contenido de grasa (Perez-alvarez *et al.*, 1998; Fisher *et al.*, 2000).

4.2.1.5 Medida del nitrógeno

Los resultados del análisis de bases volátiles totales de nitrógeno (N-BVT) en filete de lubina durante 14 días de almacenamiento muestran un incremento a lo largo del periodo de almacenamiento, los valores iniciales fueron 7,03 para la dieta 1; 11,37 para la dieta 2 y 5,72 para la dieta 3, siendo los valores de buena calidad.

Los valores de atmosferas modificadas fueron mayores que los del aire en último día de almacenamiento 23,96 para la dieta 1; 24,5 para la dieta 2 y 13,67 para la dieta 3.

Tras analizar los resultados, observamos que no existen diferencias significativas entre el aire y las atmosferas modificadas ($P > 0,05$), pero entre las dietas existen diferencias significativas ($p \leq 0,017$).

El aumento de N-BVT, incluyendo trimetilamina, dimetilamina, amoníaco y otros compuestos volátiles de nitrógeno básicos en el pescado se debe principalmente a la degradación de proteínas, aminoácidos libres en el músculo y compuestos nitrogenados no proteicos, principalmente como resultado de la actividad de microorganismos (Connell, 1975).

Considerando que la concentración de N-BVT en pescado recién capturado oscila entre los 5 y los 20 mg/100 g, y que niveles de 25 mg/100 g son generalmente considerados como el límite de aceptación para pescado almacenado en hielo (Connell, 1995; Huss, 1998), todas las muestras analizadas se encontraban por debajo de este límite, y por tanto aptas para su consumo.

Diferentes factores como la edad, especie de pescado, época del año, localización geográfica y modo de cría pueden afectar al contenido de nitrógeno no-proteico presente en el músculo de pescado (Morishita *et al.*, 1989) y, por tanto, pueden hacer variar los niveles de N-BVT en el mismo. Debido a esta variabilidad, la CE estableció los límites legales, respecto a este parámetro, para algunas especies de pescado (CEE, 2008). En esta regulación se establecen los límites críticos de 25, 30 y 35 mg N-BVT/100 g para algunas especies de pescado, entre las que destacan el *Salmo salar* y las especies pertenecientes a la familia de los *Pleuronectidae* (excepto el fletán), *Merlucciidae* y *Gadidae*, entre otros. En el caso de la lubina almacenada en refrigeración, Kyrana y Lougovois (2002) establecieron un límite de aceptabilidad de 25 mg/100 g de músculo.

En general, los valores obtenidos en el presente estudio fueron similares a los obtenidos por diferentes autores para esta misma especie de pescado (Cakli *et al.*, 2007; Kyrana *et al.*, 1997; Kyrana y Lougovois, 2002; Özden *et al.*, 2007; Özogul *et al.*, 2005; Papadopoulos *et al.*, 2003; Taliadourou *et al.*, 2003), así como a los valores obtenidos para otras especies de pescado como merluza (Ruiz-Capillas y Moral, 2001) o caballa (Metin *et al.*, 2001; Goulas y Kontominas, 2005).

4.2.1.6 Medida del índice peróxido

El índice de peróxidos se basa en la medida de la concentración de hidroperóxidos (productos primarios de la oxidación) (Guillén y Ruiz, 2004). El índice de peróxidos inicial (meq peróxido/kg de pescado) en los filetes de lubina analizados varió entre 6,31 para la dieta 1, 6,27 para la dieta 2 y 7,61 para la dieta 3. No se observaron diferencias significativas ($P > 0,05$) durante los primeros 5 días de almacenamiento entre todas las muestras. Sin embargo, al final del período de almacenamiento, se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en los valores de índice peróxidos entre las muestras de cada dieta las cuales mostraron valores bajos de 11,20 para la dieta 1, 14,95 para la dieta 2 y 13,13 para la dieta 3 (Fig. 4.19). Por el contrario, índice de peróxidos mucho más altos fueron registrados en anguilas europeas (*Anguilla anguilla*) evisceradas y almacenadas a 3 ± 1 °C con hielo (19,7 meq peróxido/kg anguila) y sin hielo (21,6 meq peróxido/kg anguila) después de 19 días de almacenamiento (Özogul *et al.*, 2005).

El tiempo tuvo un efecto significativo sobre el índice peróxidos de cada tratamiento, sin embargo, los valores de índice de peróxidos en todas las muestras estuvieron entre el nivel aceptable propuesto de 10-20 meq peróxido/kg de grasa de pescado (FAO, 1995).

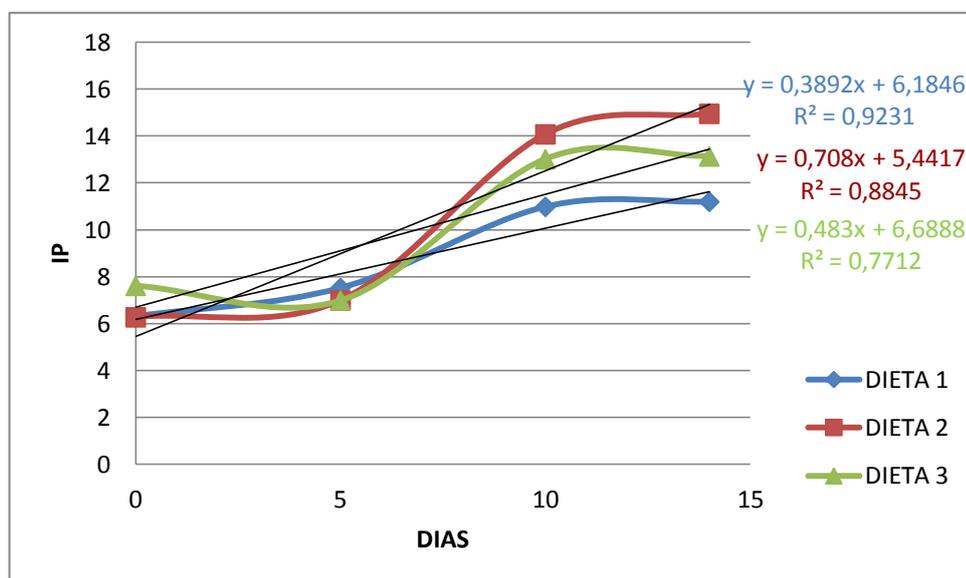


Figura 4.19. Evaluación los valores de índice de peróxidos durante el periodo de almacenamiento.

4.2.1.7 Índice de oxidación del Ácido Tiobarbitúrico (TBA)

La oxidación lipídica, es una de las principales causas del deterioro del pescado fresco. Afecta a los ácidos grasos, principalmente a los poliinsaturados y provoca la aparición de olores y sabores desagradables para el consumidor (Fernandez *et al.*, 1997). La oxidación se produce por la degradación de radicales libres en presencia de oxígeno.

Uno de los principales productos de la reacción inicial de los hidroperóxidos presentes en la muestra, es el malonaldehído (MDA); por este motivo, se cuantificas la oxidación lipídica como mg de malonaldehído por kg de muestra.

El TBA es un indicador utilizado para valorar el grado secundario de oxidación lipídica. Los resultados obtenidos (Fig. 4.20) muestran unos valores bajos en general para todos los tratamientos a lo largo de todo el periodo de almacenamiento, el mayor valor alcanzado en el tratamiento con aire de dieta 3 fue 1,13 mg de MDA/kg que correspondió al último día de almacenamiento y que se considera valor aceptable en el pescado. Valores de TBA como limite aceptable en el pescado están alrededor de 1-2 mg de MDA/kg (Connell, 1975).

Como cabía esperar, los valores más elevados aparecieron en los lotes envasados en aire debido a la presencia de O_2 (Finne, 1982) que es un elemento imprescindible en la reacción de oxidación, mientras que en el resto de lotes envasados en atmosferas modificadas los valores fueron menores sin grandes diferencias entre ellos.

Estos resultados, coinciden con los obtenidos por Pastoriza *et al.* (1996, 1998), Giménez *et al.* (2002, 2004) y Goulas y Kontominas. (2007b), donde la concentración de oxígeno superior proporcionó los valores más altos de TBA.

El análisis estadístico de los datos refleja, como se ha indicado anteriormente, diferencias significativas ($P \leq 0,011$) entre las muestras envasadas en aire y el de atmosferas.

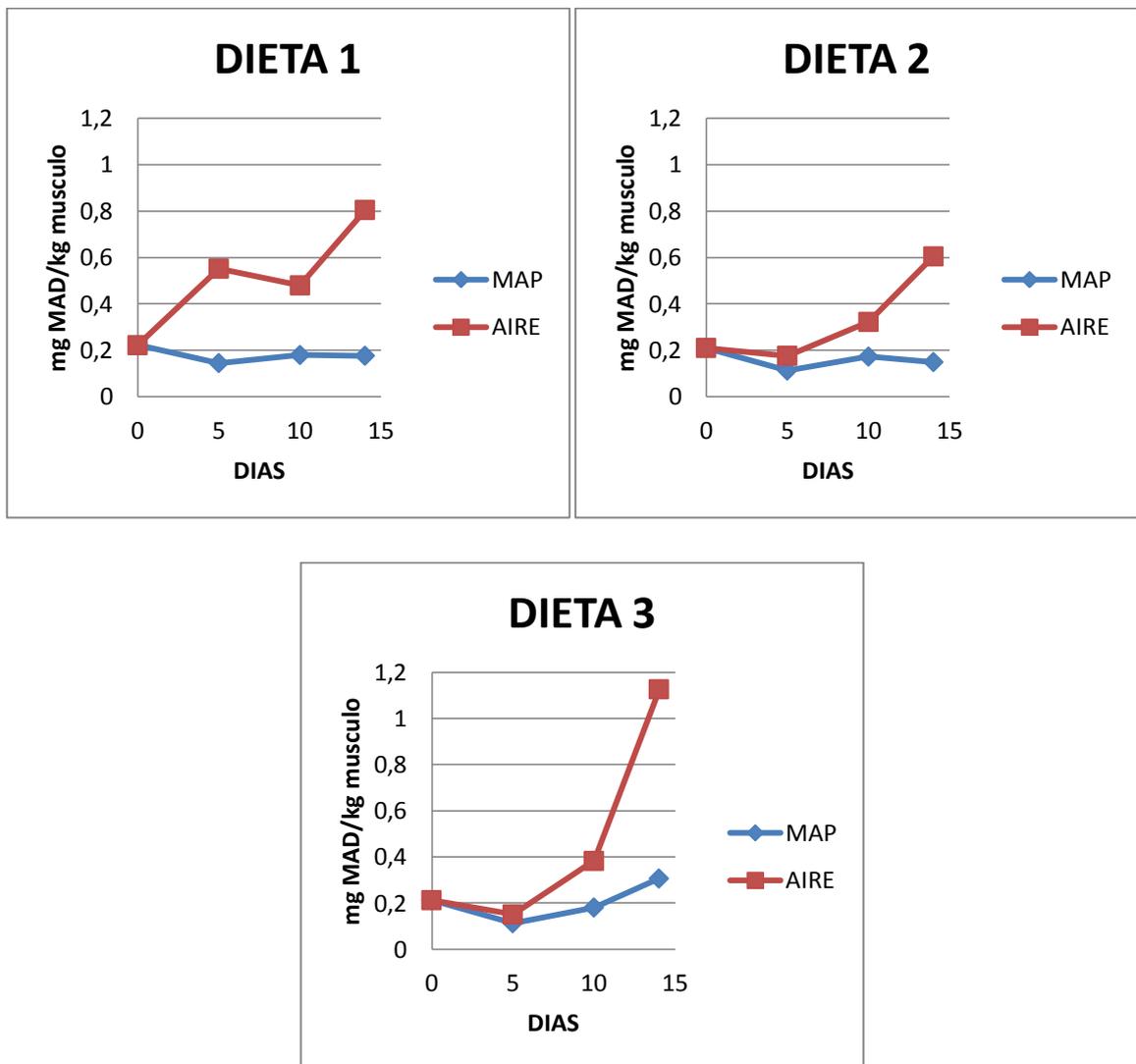


Figura 4.20. Evolución de la oxidación lipídica expresada como mg malonaldehído por kg de músculo a lo largo del tiempo.

4.2.2 Análisis microbiológicos

La calidad inicial del pescado utilizado en este estudio fue buena, como lo indica un bajo contenido inicial de bacterias ($< 4 \log_{10}$ UFC/g) antes de que los filetes de lubina fueran sometidos a los distintos tratamientos.

En las Figuras 4.21, 4.22 y 4.23, se compara la evolución de las medias (\log UFC/gr) de las poblaciones de los grupos microbianos estudiados en las dos condiciones de almacenamiento del filete de lubina, tras envasado en atmósfera modificada 40% CO_2 /60% N_2 o en aire.

En el recuento de mesófilos, se observó que para el tratamiento atmósfera modificada, hasta el día 10 se obtuvieron valores menores a 6 ($\text{Log } 10^6$), que es el valor máximo aceptable por g de alimento (BOE num. 195. Del 15/08/91), para las dietas 1 y 2, mientras que para la dieta 3 el día 14 todavía se obtenían valores inferiores a dicho límite. En el caso del aire, al día 14 los recuentos ya no fueron aceptables, estableciendo así su límite de aceptación microbiológica el día 10 (Fig. 4.21).

En el estudio estadístico de los datos, cabe destacar que hasta el día 10, aparecen diferencias significativas ($P \leq 0,018$) entre envase en atmósfera modificada y el aire, pero no se encuentran diferencias entre las dietas.

En estudios similares utilizando otras variedades de pescado, Pantazi *et al.* (2008) evaluaron la vida útil de rodajas de pez espada del Mediterráneo (*Xiphias gladius*) envasadas con aire, al vacío y en atmósferas modificadas almacenadas bajo refrigeración a 4 °C y estimaron una vida útil de 7 días para las muestras de pez espada con aire, 9 días al vacío y de 11 a 12 días en atmósferas modificadas.

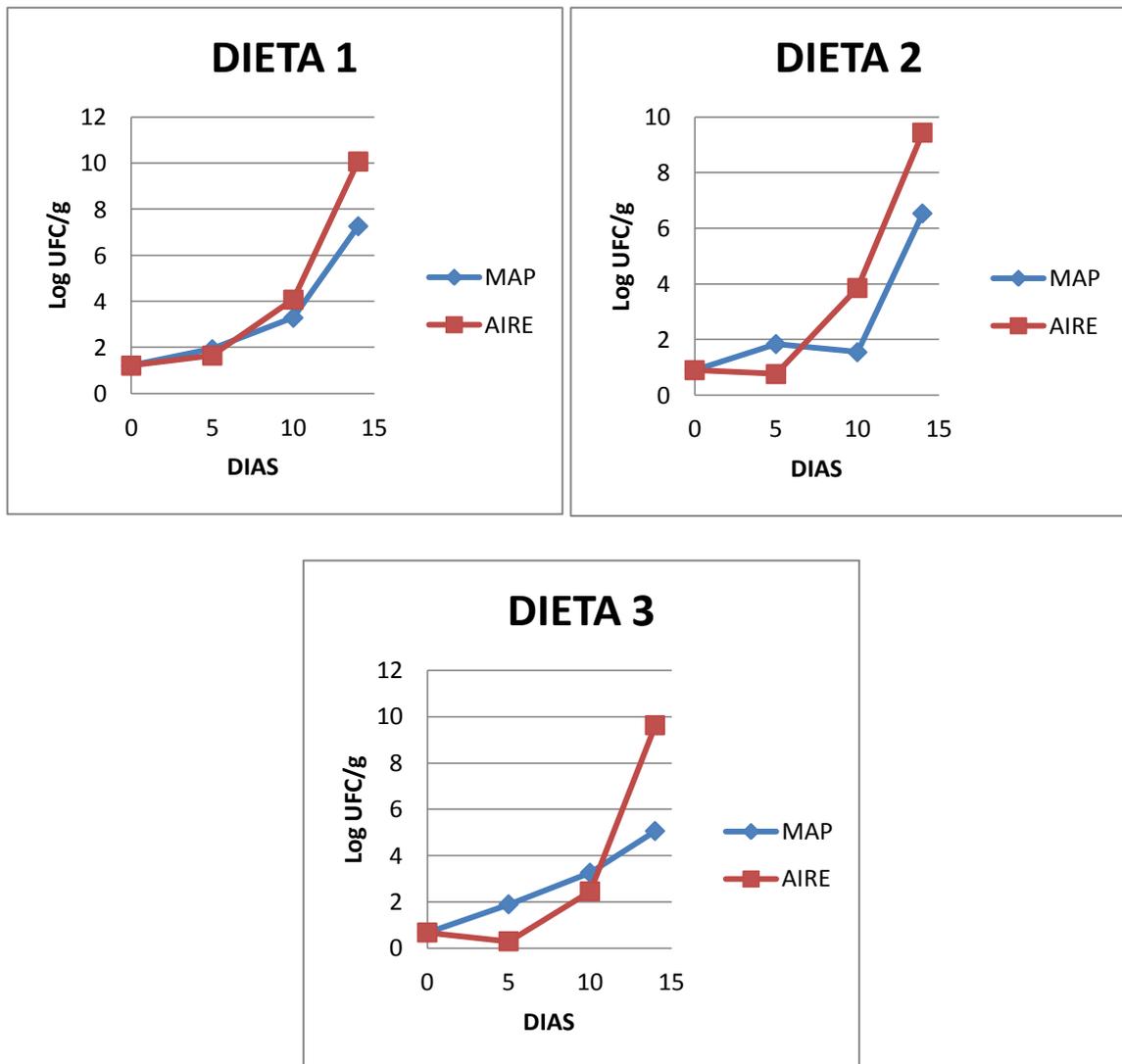


Figura 4.21. Evolución de la población de microorganismos mesófilos a lo largo del tiempo.

En el caso de los psicrotrofos, que son los principales contribuyentes del deterioro de los alimentos marinos a temperaturas de refrigeración (Kraft, 1992; Jay, 1996), los resultados fueron similares, así pues, en atmósfera modificada, a partir del día 10 los recuentos fueron mayores de 6 (no aceptables) para la dieta 1 y 2, y para la dieta 3 no se obtuvieron dichos valores hasta el día 14. En este caso, las diferencias de las muestras envasadas en atmósferas modificadas con respecto al aire fueron más evidentes (Fig. 4.22). Adicionalmente, el patrón de crecimiento de psicrotrofos mostró el mismo comportamiento que el de las mesófilos.

En el estudio estadístico, observamos el mismo patrón con una única diferencia; en este caso, en el día 10, se encuentran diferencias significativas entre atmósferas modificadas y el aire.

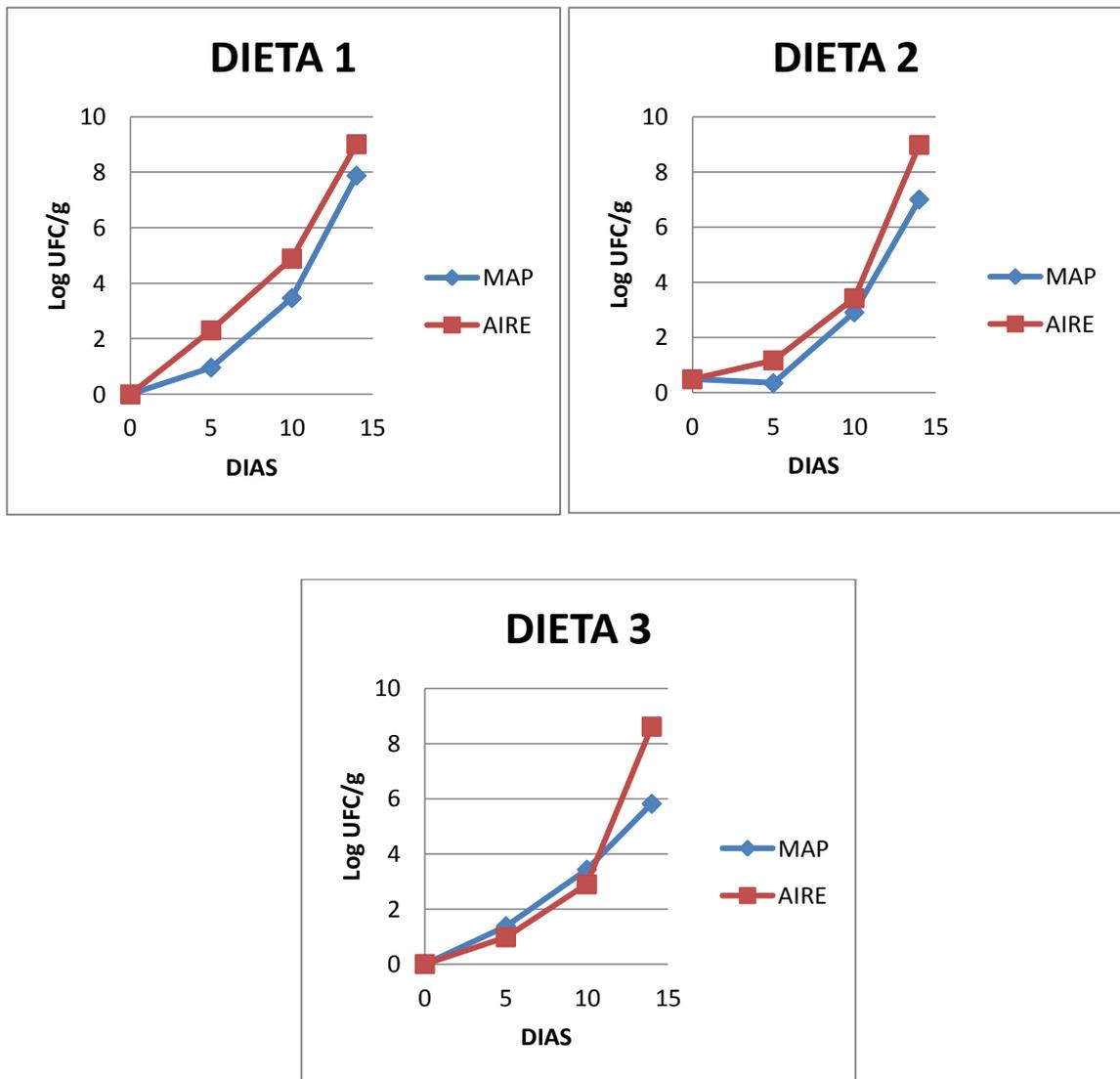


Figura 4.22. Evolución de la población de microorganismos psicrotrofos a lo largo del tiempo.

La población de Enterobacteriaceae fue ligeramente más baja que aquella obtenida para otras bacterias en este estudio. El recuento inicial para enterobacterias indica un buen estado de calidad para los filetes, valores menores a 3 ($\text{Log } 10^6$) que es el valor máximo aceptable por g de alimento. Durante el período de almacenamiento los dos tratamientos mostraron variaciones en los recuentos de enterobacterias, específicamente en el día 10 donde el tratamiento con aire sube en todas las dietas alcanzando al final de almacenamiento valores no aceptables pero en atmosfera modificada en todas las dietas son aceptables al final de almacenamiento (Fig. 4.23). En este caso no hay diferencias entre las muestras envasadas en atmosferas modificadas con respecto al aire.

Para el estudio estadístico no se encontró una diferencia significativa entre las dietas ($P > 0.05$).

Aunque las enterobacterias pueden crecer a bajas temperaturas, su abundancia disminuye durante el almacenamiento refrigerado, posiblemente debido a que su relación de crecimiento es más baja que la del otro grupo de deterioradores psicrotróficos Gram negativos. La contribución de Enterobacteriaceae en la microflora del pescado y su potencial deteriorativo debe ser tomado como una consideración especial en el caso de aguas contaminadas o retardo del enfriamiento después de las capturas (Papadopoulos *et al.*, 2003).

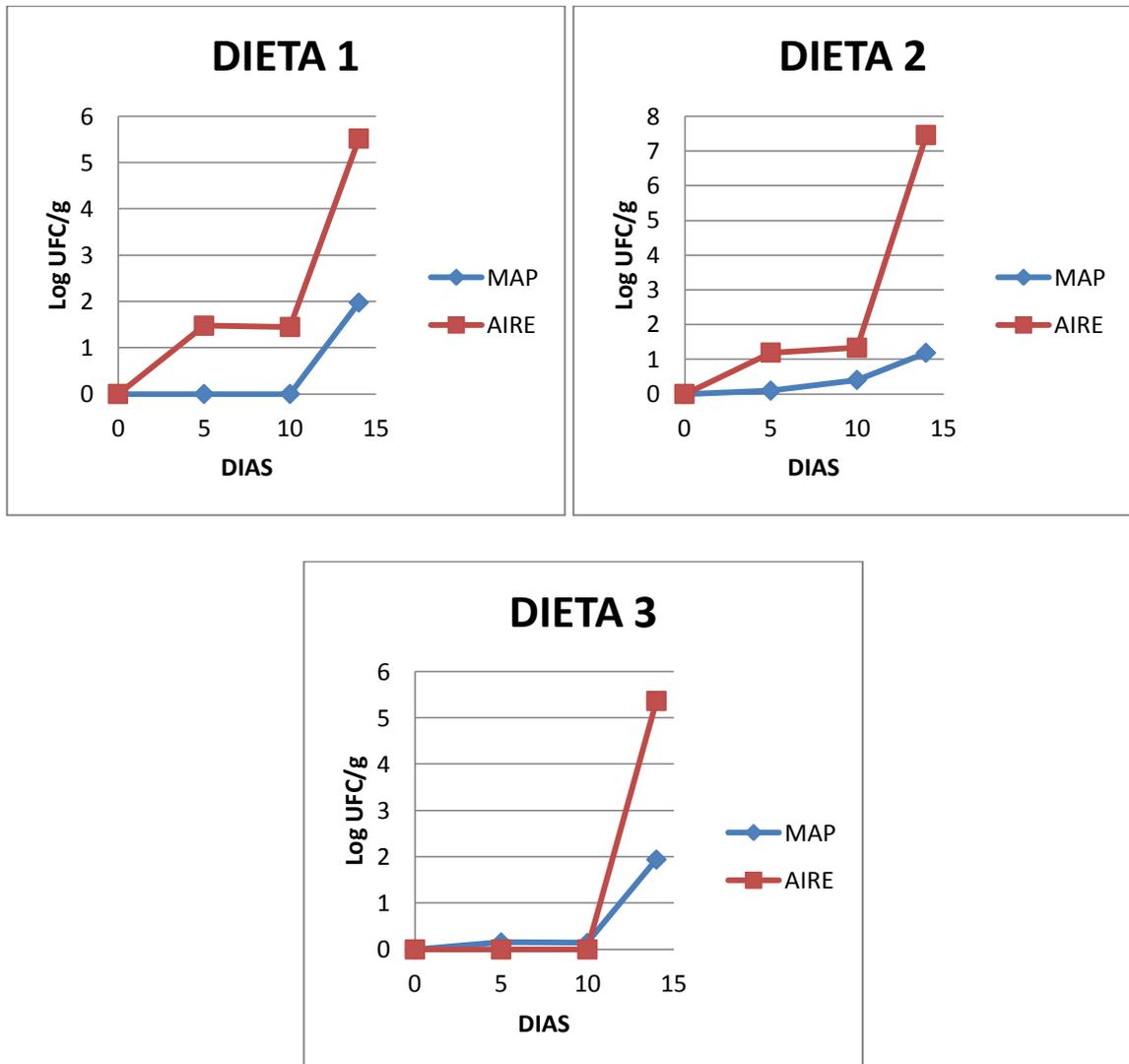


Figura 4.23. Evolución de la población de microorganismos enterobacterias a lo largo del tiempo.

En las muestras de filete de lubinas no se detectaron ni salmonella ni listeria.

Las muestras envasadas en atmósfera modificada con mayor porcentaje de CO₂ tenían menores recuentos microbiológicos y, en consecuencia, tenía una vida útil más larga. Se pone de manifiesto el poder antimicrobiano del CO₂, y su efecto inhibitorio sobre numerosos microorganismos Gram-negativos por lo que existe correspondencia entre la concentración de dicho gas en el envase y la evolución de la flora microbiana de las muestras.

Los resultados de la ampliación de nivel de aceptabilidad gracias al mayor porcentaje de emisiones de CO₂ están de acuerdo con lo reportado por otros autores (Banks *et al.*, 1980; Silliker y Wolf., 1980; Pastoriza *et al.*, 1996,1998; Devlieghere *et al.*, 1998; Gram y Dalgaard., 2002; Gimenez *et al.*, 2004., Cavella *et al.*, 2005; Provincial *et al.*, 2010)

4.2.3 Análisis sensoriales

A pesar de la dificultad de la ejecución y evaluación de los análisis sensoriales, resulta uno de los parámetros más útiles a la hora de determinar la vida útil del pescado fresco ya que es el indicador que el consumidor va a utilizar en realidad.

Con el incremento del periodo de almacenamiento disminuyó la vida útil de los filetes de lubinas. En las figuras 4.24 y 4.25 se muestran los resultados obtenidos para el pescado crudo y 4.26, 4.27 y 4.28 para el pescado cocinado. Los valores obtenidos son una media de los cinco catadores para las dos muestras evaluadas por cada tratamiento.

El análisis de los filetes en crudo muestra que, para el color, solo aparecen diferencias significativas ($P < 0,05$) para el día 14, estableciendo que el lote de atmósfera modificada es el que mayor decoloración muestra, seguido del aire en las 3 dietas (Fig. 4.24). Como explicamos en el apartado de la evaluación del color por medida instrumental, los resultados no son concluyentes, puesto que existe gran variabilidad individual entre las muestras y ello no permite relacionarlo directamente con el método de envasado de elección.

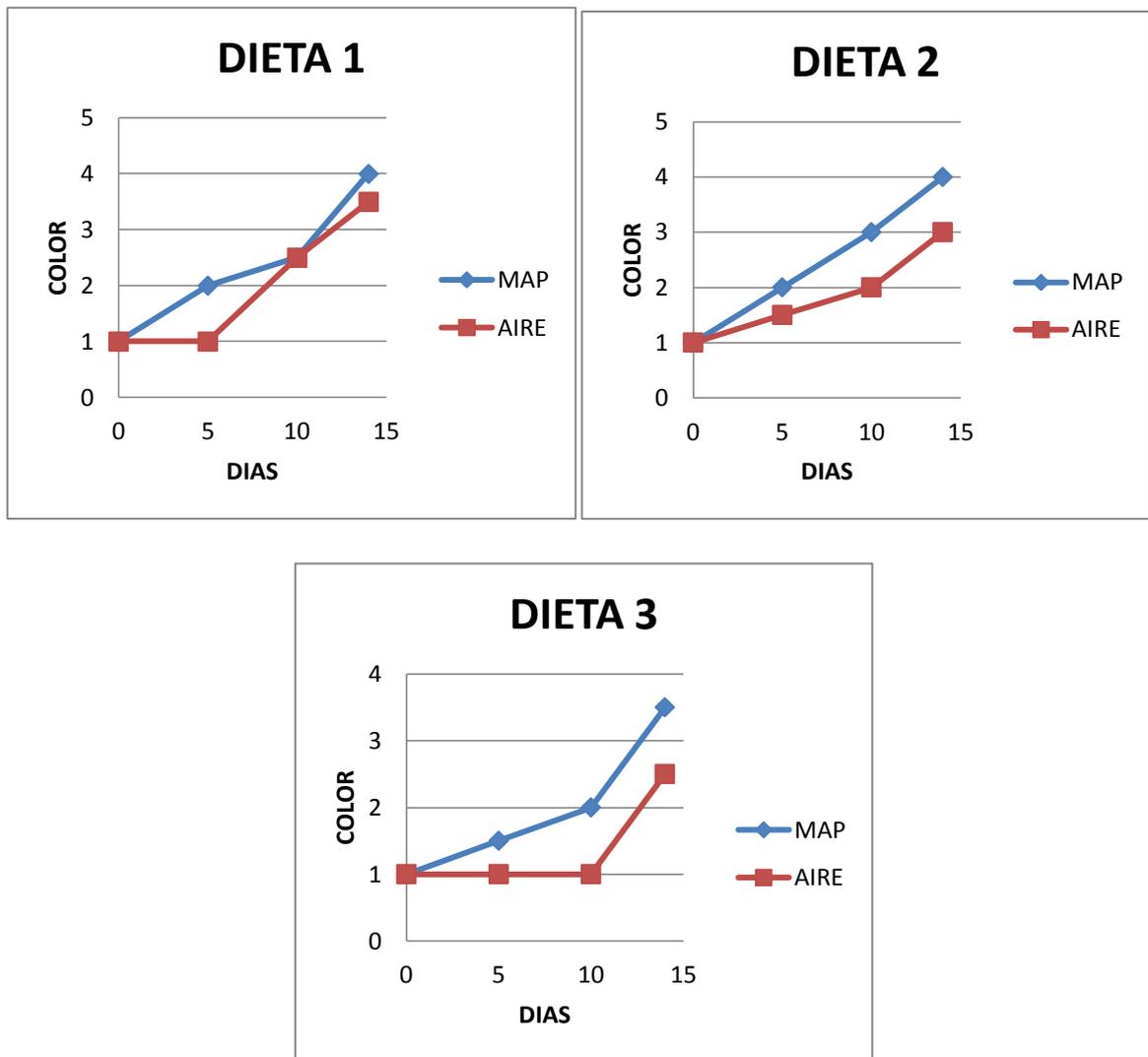


Figura 4.24. Evolución del color de los filetes de lubinas en crudo.

Para el parámetro de olor, se han encontrado diferencias significativas ($p \leq 0,001$) para el día 10, y el lote de atmósfera modificada es el que mejor puntuación ha obtenido, seguido del lote de aire (Fig. 4.25).

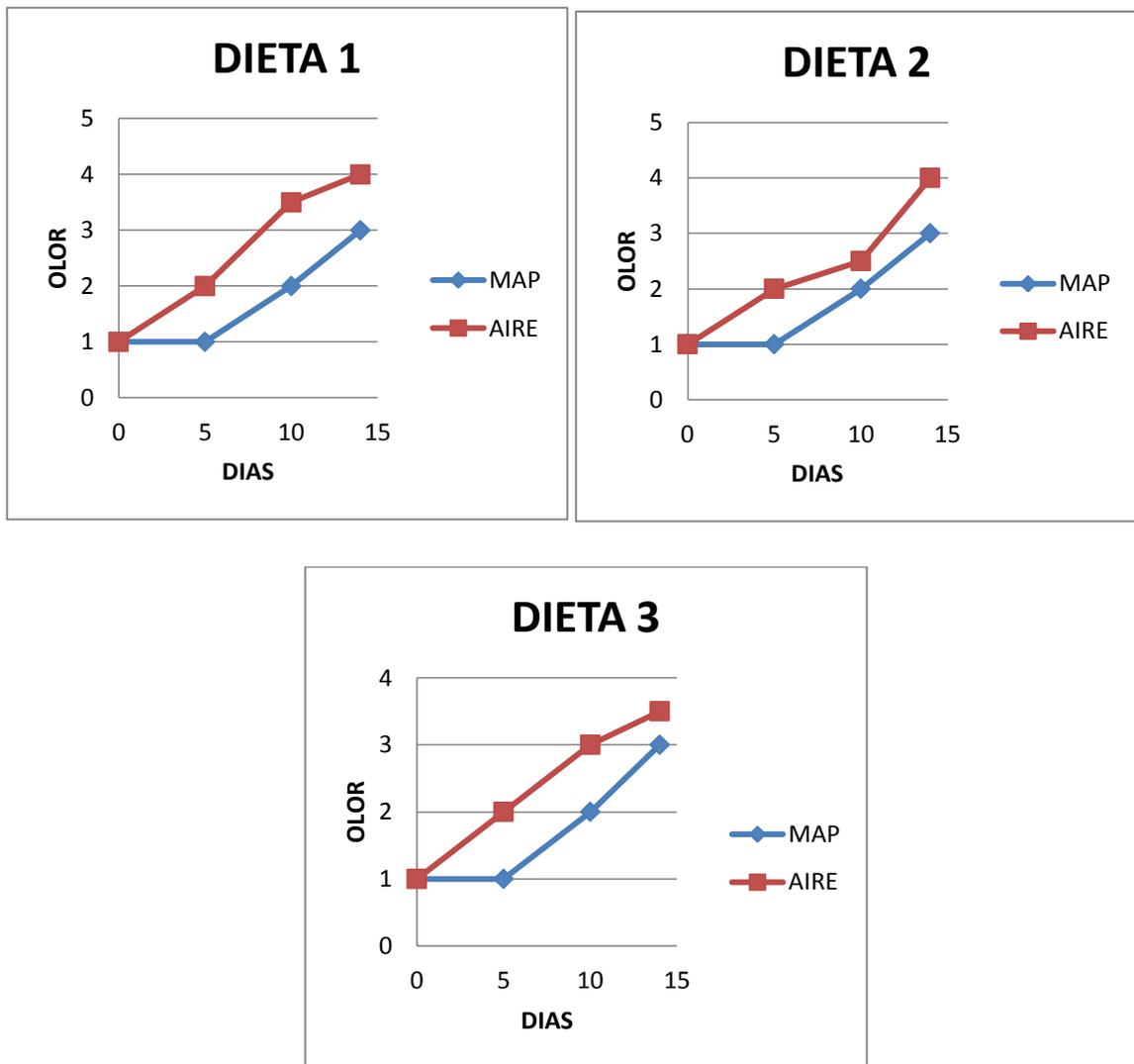


Figura 4.25. Evolución del olor de los filetes de lubinas en crudo.

En los filetes cocinados, no existen diferencias entre los lotes para todos los parámetros evaluados excepto la firmeza. Así pues, en cuanto al aspecto y el olor característico de las muestras el aire recibe la peor puntuación, y la atmósfera modificada los valores más elevados. La evaluación de la jugosidad, el flavor característico y la apreciación global, muestra que la atmósfera modificada presenta los mejores valores seguido con las peores puntuaciones para el aire. Por último, como cabría esperar, en la evaluación del flavor indeseable, el aire obtuvo las mayores puntuaciones seguido la atmósfera modificada.

Similares resultados fueron encontrados por Arkoudelos *et al.* (2007) trabajando con anguilla (*Anguilla anguilla*), alcanzando 28 días de almacenamiento en envasado al vacío a 0 °C según criterios microbianos. Sin embargo, la evaluación sensorial mostró una vida útil más corta de 11 días. Estos hallazgos indican que el proceso de deterioro pareciera estar dominado por el proceso de autólisis bajo un rechazo más rápido que el crecimiento

microbiano. Vaz-Pires y Barbosa. (2004) realizaron observaciones similares trabajando con pulpo (*Octopus vulgaris*) almacenado en hielo.

Periodos de vida útil para carne de varias especies de peces han sido estimados entre 4 y 21 días, por varios investigadores. Reddy *et al.* (1994) en filetes de tilapia Masniyom *et al.* (2002) en medallones de mero, Ozogul *et al.* (2004) en sardinas y Suarez *et al.* (2009) en cachamas.

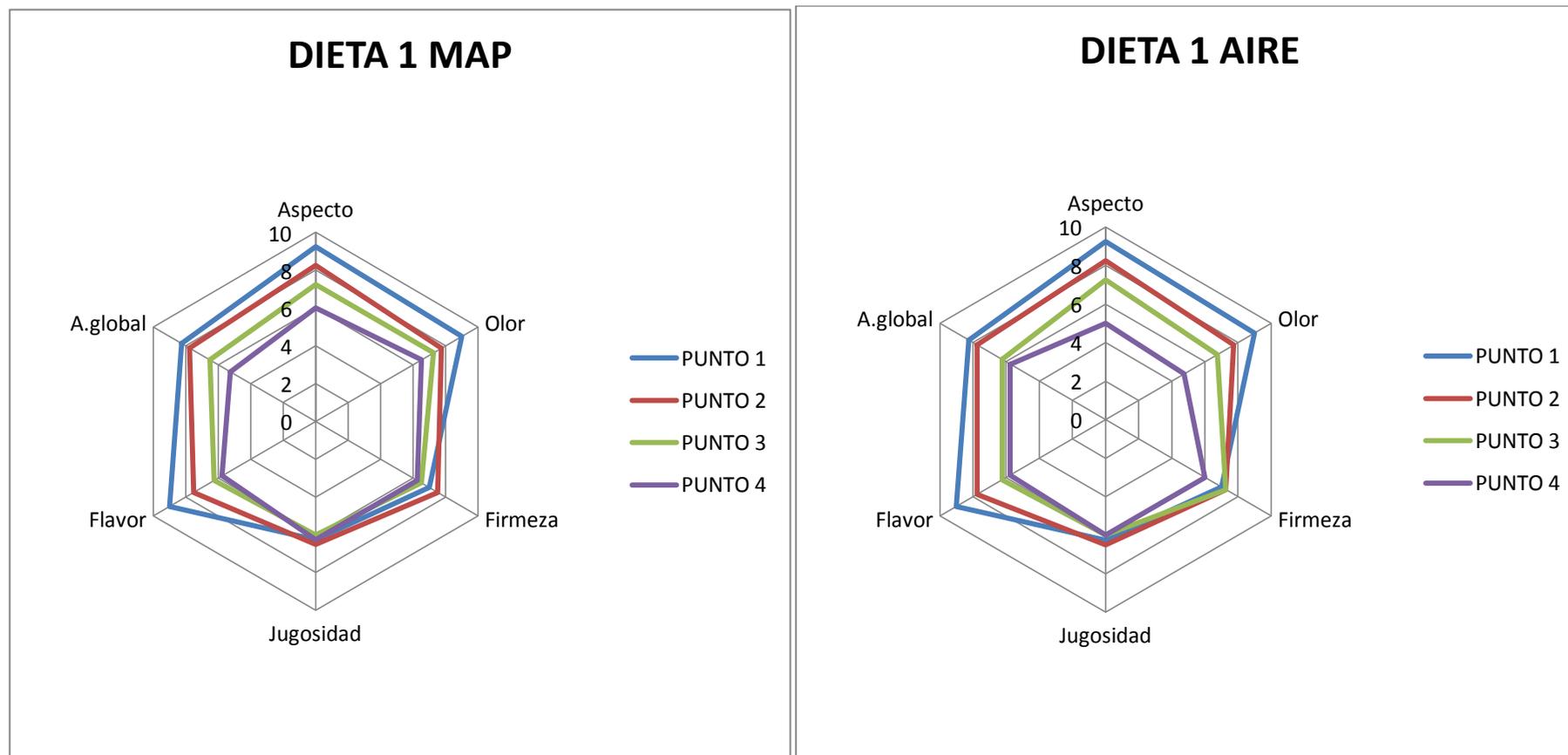


Figura 4.26. Atributos sensoriales para filetes cocinados de lubina a lo largo del tiempo de almacenamiento en dieta 1.

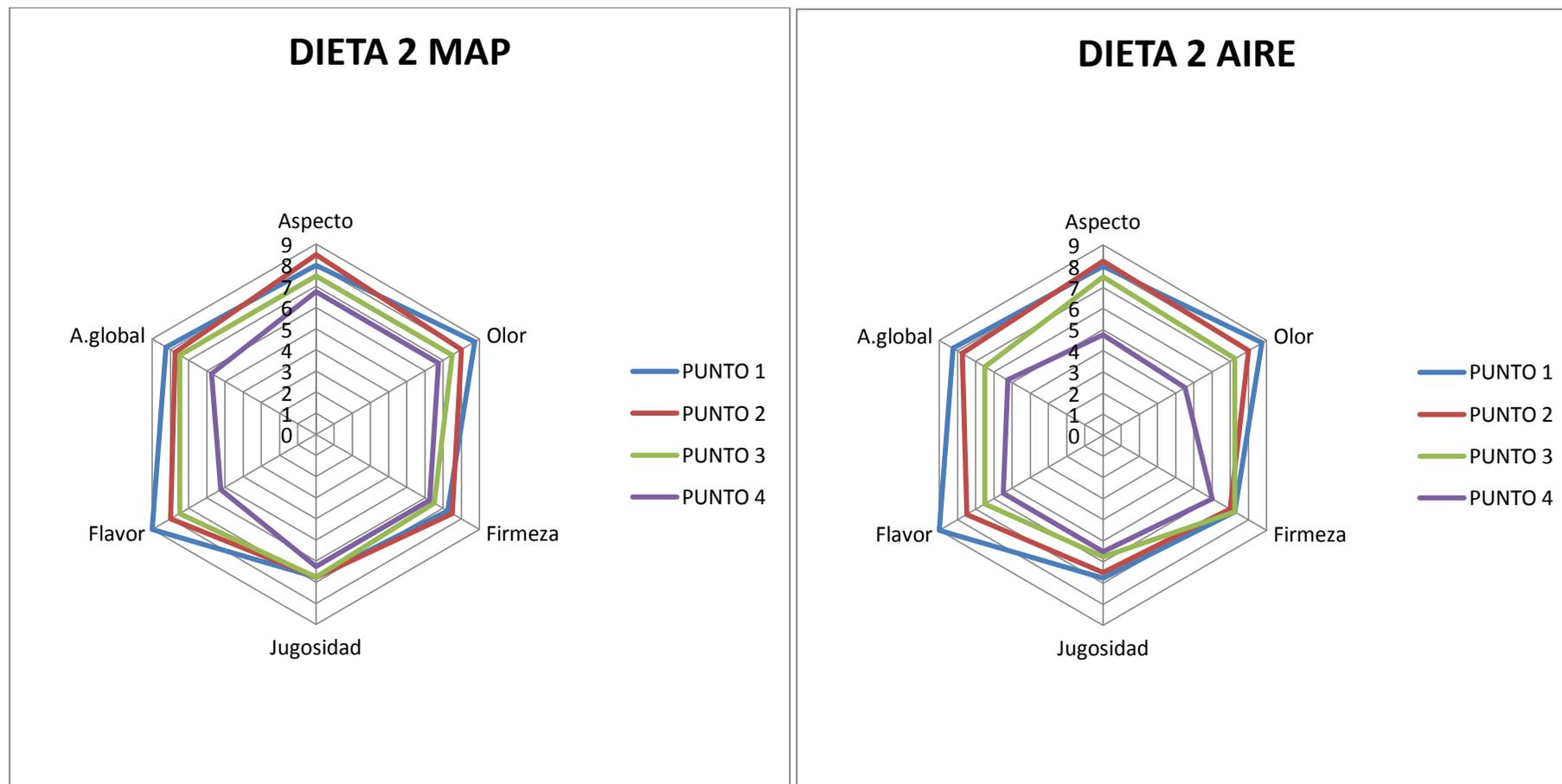


Figura 4.27. Atributos sensoriales para filetes cocinados de lubina a lo largo del tiempo de almacenamiento en dieta 2.

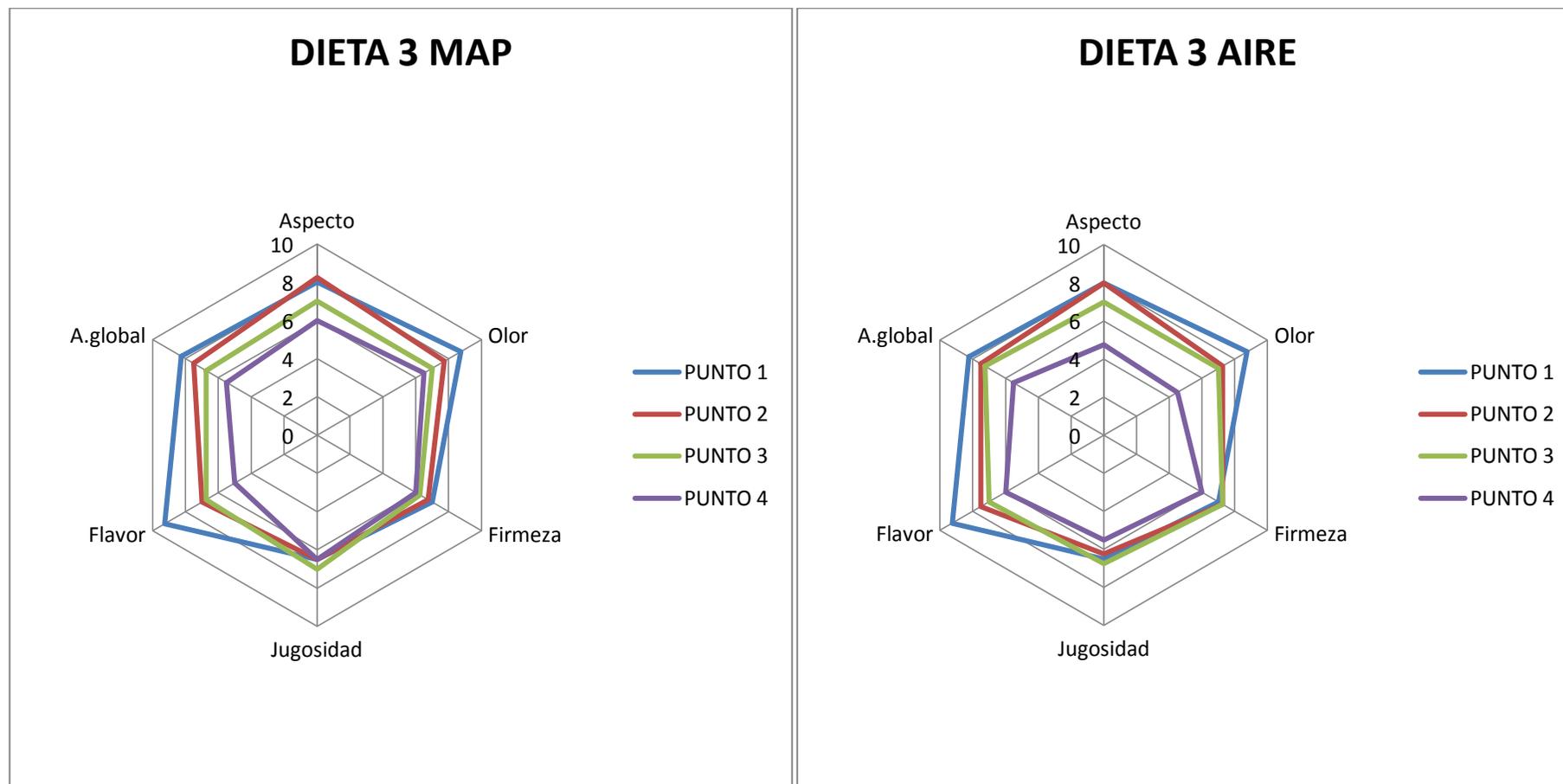


Figura 4.28. Atributos sensoriales para filetes cocinados de lubina a lo largo del tiempo de almacenamiento en dieta 3.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- ✚ Los resultados obtenidos de los experimentos de crecimiento de las lubinas permiten establecer que es posible la sustitución del aceite de pescado por aceites vegetales hasta proporción de 50%/50% sin que se vean afectados los parámetros del crecimiento.
- ✚ Según los resultados microbiológicos y el análisis sensorial tanto en crudo como en cocinado, que son los que permiten diferenciar mejor entre el envasado en los dos tratamientos, podemos llegar a la conclusión de que el envasado en atmosfera modificada con 40% CO₂/60% N₂ es más adecuado que el aire.
- ✚ La conservación en atmosfera modificada (40% CO₂/60% N₂) mejora la calidad del filete de lubina ya que limita la oxidación de los lípidos.
- ✚ Bajo las condiciones de estudio, los resultados obtenidos nos permiten establecer una clara diferencia entre la calidad del pescado fresco envasado en aire y el envasado en atmosferas modificadas, permitiendo estas últimas la prolongación de la vida útil de los filetes de lubina de 7 días (envasado en aire) a 14 días.
- ✚ La utilización de aceite vegetal en igual proporción que aceite de pescado en la dieta no tiene efecto sobre la calidad y vida útil de los filetes de las lubinas envasadas en atmosfera modificada.

6. DOSSIER FOTOGRÁFICO. Evolución del producto a lo largo del tiempo.

Día 0 (Punto de control).



Dieta 1



Dieta 2



Dieta 3

Día 5 (Punto 1)



Dieta 1 MAP



Dieta 2 MAP



Dieta 3 MAP



Dieta 1 Aire



Dieta 2 Aire



Dieta 3 Aire

Día 10 (Punto 2)



Dieta 1 MAP



Dieta 2 MAP



Dieta 3 MAP



Dieta 1 Aire



Dieta 2 Aire



Dieta 3 Aire

Día 14 (Punto 3)



Dieta 1 MAP



Dieta 2 MAP



Dieta 3 MAP



7. BIBLIOGRAFIA

- Baker, R.T. M., 2001. Canthaxanthin in aquafeed applications: is there any risk?. *Trends in Food Science & Technology*, 12: 240-243.
- Banks, H., Nickelson, R & Finne., 1980. Shelf-life studies on carbon dioxide packaged finfish from the Gulf og Mexico. *Journal of food science*, 45, 157-162.
- Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., McGhee, F., Campbell, P.J & Sargent, J.R., 2001. Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition* 131: 1535-1543.
- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., McGhee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P., Sargent, J.R., 2002. Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism. *Journal of Nutrition* 132: 222- 230.
- Bell, J.G., McGhee, F., Campbell, P.J., Sargent, J.R., 2003a. Rapeseed oil as an alternative to marine fish oil in diets of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*): changes in flesh fatty acid composition and effectiveness of subsequent fish oil "wash out". *Aquaculture* 218: 515-528.
- Bell, J.G., Tocher, D.R., Henderson, R.J., Dick, J.R., Crampton, V.O., 2003b. Altered fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing linseed and rapeseed oils can be partially restored by a subsequent fish oil finishing diet. *Journal of Nutrition* 133: 2793-2801.
- Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., Sargent, J.R., 2004. Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: modification of flesh fatty acid compositions in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids* 39: 223-232.
- Bell, J.G., Strachan, F., Good, J.E., Tocher, D.R., 2006. Effect of dietary echium oil on growth, fatty acid composition and metabolism, gill prostaglandin production and macrophage activity in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). *Aquaculture Research* 37: 606-617.
- Bell, J.G., Pratoomyot, J., Strachan, F., Henderson, R.J., Fontanillas, R., Hebard, A., Guy, D.R., Hunter, D., Tocher, D.R., 2010. Growth, flesh adiposity and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) families with contrasting flesh

adiposity: Effects of replacement of dietary fish oil with vegetable oils. *Aquaculture* 306: 225-232.

- Benassi, J.L., Labonne, M., 2004. Perspectives pour les oléagineux dans les pays du Maghreb : Algérie, Maroc et Tunisie 2000- 2015, Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 11, Numéro 2, 92-6.
- Bimbo, A., 2000. Fish meal and oil. En: Martin, R., Carter, E., Flick, G., and Davis, L. (eds), *Marine and freshwater products Handbook*, Technomic Publishing, Lancaster, pp. 541-581.
- Bjerkgeng, B., Refstie, S., Fjalestad, K. T., Storebakken, T., Rødbotten, M. and Roem A. J., 1997. Quality parameters of the flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*) as affected by dietary fat content and full-fat soybean meal as a partial substitute for fish meal in the diet. *Aquaculture*, 157: 297-30.
- BOE numero 195. Orden de 2 de agosto de 1991 por la que se aprueban las normas microbiológicas, los limites 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. Fecha de publicación 15/08/1991.
- Bórquez, A., Valdebenito, I., Dantagnan, P. y Barile, J., 1999. Rendimientos productivos de dietas extruidas y pelletizadas en cultivo intensivo de truchas arco iris, *Oncorhynchus mykiss*. UNAP. Invest. Cient. Tecnol., Ser. Cienc. Mar 4: 50-55.
- Botta, J.R., 1995. *Evaluation of Seafood Freshness Quality*. Pp. 99-143. New York, USA: VCH Publishers, Inc.
- Bransden, M.P., Carter, C.G., Nichols, P.D., 2003. Replacement of fish oil with sunflower oil in feeds for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): effect on growth performance, tissue fatty acid composition and disease resistance. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 135: 611-625.
- Brody, A.L., 1996. Introducción. En: *Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío*. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 1-2.
- Caballero, M.J., Obach, A., Rosenlund, 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.

- Cakli, S., Kilinc, B., Cadun, A., Dincer, T & Tolasa, S., 2007. Quality differences of whole ungutted sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) while stored in ice. *Food Control*, 18, 391-397.
- Calder, P.C., 2006. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 75: 197-202.
- CAWMA, Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture. 2007. Molden (ed.), *Water for food, water for life: A comprehensive assessment of water management in agriculture*. Earthscan, Londres, 40 pp.
- Chaussade, J & Corlay, J.P., 1990. *Atlas des pêches et des cultures marines, France, Europe, Monde*. Editions Ouest-France Le Marin, avec la participation du ministère chargé de la mer, in 4^o 252 p.
- Cheftel, J.F & Cheftel, H., 1976. *Introduction to the Biochemistry and Food Technology*. Vol. 1. Pp. 70-71. Paris, France: Entreprise moderne d'Edition.
- Cheftel, J.C., 1980. *Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos*. Vol. I
- Cohen, J.E., 1995. *How Many People Can the Earth Support?* W.W. Norton & Company, Nueva York y Londres, 532 pp.
- Commission européenne: Direction générale de la sante et des consommateurs-DG (Sanco)/2009-8033 – RM – Final – Rapport d'une mission effectuée en République Algérienne Démocratique et Populaire du 20 au 28 janvier 2009 concernant les produits de la pêche exportés vers l'union européenne.
- Commission européenne: Direction générale de la sante et des consommateurs-DG (Sanco)/2010-8535 – RM – Final – Rapport d'une mission effectuée en République Algérienne Démocratique et Populaire du 22 novembre au 02 décembre 2010 afin d'évaluer les systèmes de contrôle en place régissant la production des produits de la pêche et des mollusques bivalves vivant destinés à l'exportation vers l'union européenne.
- Connell, J.J., 1975. *Control of Fish Quality* 1st Edition. Pp. 175-176. London, UK: Fishing News Books Limited.
- Connell, J.J., 1995. Method of assessing and selecting for quality. En: *Control fish quality* (4th ed). Fishing News Books Ltd, Surrey, pp 157, 159-160.
- Cortazar, E., Bartolome, L., Arrasate, S., Usobiaga, A., Raposo, J.C., Zuloaga, O., Etxebarria, N., 2008. Distribution and bioaccumulation of PAHs in the UNESCO protected natural reserve of Urdaibai, Bay of Biscay. *Chemosphere* 72: 1467-1474.

- 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.
- Dalila Boudouma; Valeur nutritionnelle du son de blé chez le poulet de chair soumis au stress thermique 2007.
- Debevere, J., Bosoku, G., 1996. Effect of modified atmosphere packaging on the TVB/TMA-producing microflora of cod fillets. *International Journal of Food Microbiology*, 31(1/3), 221-229.
- Devlieghere, F., Debevere, J & Fernandez-Lopez, J. A., 1998. Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganism. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 105-113.
- Din, J.N., Newby, D.E., Flapan, A.D., 2004. Science, medicine, and the future - Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease - fishing for a natural treatment. *British Medical Journal* 328: 30-35.
- Dosanjh, B.S., Higgs, D.A., McKenzie, DJ., RandaH, DJ., Eales, J.G., Rowshandeli, N., Rowshandeli, M & Deacon, G., 1998. Influence of dietary blends; of menhaden oil and canola oil on growth, muscle lipid composition and thyroidal status of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in sea water. *Fish Physiol. Bíochem.* 19, 123-134.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R & Montville, T.J., 2001. Microbiología de los Alimentos. Fundamentos y fronteras. Acribia, 519-579.
- Duarte, C.M., Holmer, M., Olsen, Y., Soto, D., Marbà, N., Guiu, J., Black, K., Karakassis, I., 2009. Will the oceans help feed humanity? *BioScience* 59: 967- 976.
- El Badry, A.M., Graf, R., Clavien, P.A., 2007. Omega 3 - Omega 6: What is right for the liver? *Journal of Hepatology* 47: 718-725.
- European Commission DG Fisheries 2004. Department of Marketing and Institute of aquaculture. University of Stirling. Study of the market for aquaculture produced seabass and seabream.
http://ec.europa.eu/fisheries/publications/studies_reports_en.htm
(16/09/2007).
- FAO., 1995. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper, N° 348. Rome.

- FAO., 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations. El estado actual de la pesca y la acuicultura. FAO Fisheries Department, Roma, 196 pp.
- Fernández, J., Pérez-Álvarez, J.A & Fernández-López, J.A., 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59(3), 345-353.
- Finne, G., 1982. Modified and Controlled Atmosphere Storage of Muscle Foods. *Food Technology*, 36, 128-133.
- Fisher, S., Ibrahim Abdi, D., Ludin, J., Smith, R., Williams, S., & Williams, S., 2000. *Working with Conflict: Skills and Strategies for Action*. London: Zed Books.
- Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I., Venou, B., 2003. Effects of dietary arachidonic acid (20:4n-6), on growth, body composition, and tissue fatty acid profile of gilthead bream fingerlings (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture* 225: 309-323.
- Francis, D.S., Turchini, G.M., Jones, P.L., De Silva, S.S., 2007. Effects of fish oil substitution with a mix blend vegetable oil on nutrient digestibility in Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture* 269: 447-455.
- Gimenez, B., Sanchez-Escalante, A., Torrescano, G., Roncales, P & Beltran, J.A., 2002. Different packaging conditions to improve shelf-life of filleted gilt-head sea bream (*Sparus aurata*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11, 275-286.
- Gimenez, B., Roncales, P & Beltran, J.A., 2004. The effect 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 Science and Food Agriculture*, 84, 1053-1060.
- Gimenez, B., Roncales, P & Beltran, J.A., 2005. The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality of salmon (*Salmo salar*) fillets packaged in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and agriculture* .85: 1033-1040.
- Goulas, A. E & Kontominas, M.G. 2005. Effect of salting and smoking-method on the keeping quality of chub mackerel (*Scomber japonicus*): biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 93, 511-520.
- Goulas, A. E & Kontominas, M.G., 2007b. 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 & Dalgaard, P., 2002. Fish spoilage bacteria-problems and solutions. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, 262-266.

- Guesnet, P., Alessandri, J.M., 2010. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS) - Implications for dietary recommendations. *Biochimie, en prensa*.
- Guillén, M.D & Ruiz, A., 2004. Study of the oxidative stability of salted and unsalted salmon fillets by ¹H nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry*. 86(2):297-304.
- Hamre, K., Christiansen, R., Waagbø, R., Maage, A., Torstensen, B.E., Lygren, B., Lie, Ø & Albrektsen, S., 2004. Antioxidant vitamins, minerals and lipid levels in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.): Effects on growth performance and fillet quality. *Aquaculture Nutrition*, 10 (2): 113-123.
- Hardy, R.W., Scott, T.M., & Harrell, L.W., 1987. Replacement of Herring oil with Menhaden oil, Soybean oil, or Tallow in the Diets of Atlantic Salmon Raised in Marine Net- Pens. *Aquaculture*, 65: 267 – 277.
- Henderson, R.J., Sargent, J.R., 1985. Chain-length specificities of mitochondrial and peroxisomal beta-oxidation of fatty-acids in livers of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry & Molecular Biology* 82: 79-85.
- Horrocks, L.A., Yeo, Y.K., 1999. Health benefits of docosahexaenoic acid (DHA). *Pharmacological Research* 40: 211-225.
- Hunter, B.J., Roberts, D.C., 2000. Potential impact of the fat composition of farmed fish on human health. *Nutrition Research* 20: 1047-1058.
- Huss, H.H., 1998. Evaluación de la calidad del pescado. En: *El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad*. Colección FAO, Pesca N° 348, Roma, 131-154.
- Ibeas, C., Cejas, J.R., Fores, R., Badia, P., Gomez, T & Hernandez, A.L., 1997. Influence of eicosapentaenoic to docosahexaenoic acid ratio (EPA/DHA) of dietary lipids on growth and fatty acid composition of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 150: 91-102.
- 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.

- Jacobs, M.N., Covaci, A., Schepens, P., 2002. Investigation of selected persistent organic pollutants in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*), salmon aquaculture feed, and fish oil components of the feed. *Environmental Science and Technology* 36: 2797-2805.
- Jay, J.M. 1996. Seafoods. In *Modern food microbiology* (5th. ed.). (pp. 118-130). New York, NY, USA: Chapman & Hall.
- Judge, T.A., Locke, E.A., Durham, C.C & Kluger, A.N. 1998. 'Dispositional effects on job and life satisfaction: the role of core evaluations', *Journal of Applied Psychology*, 83, 17-34.
- Knud Landmark, «The beneficial effects of Omega-3 fatty acids on coronary heart disease», Omacor CVD/LIPID Sdialog, décembre 1998, publication 8.
- Kohn K, Mc leod MG. Effect of ambient temperature on heat increment of feeding and energy retention in growing broilers maintained at different food intakes. *Br Poult Sci* 1999 ; 40 : 511-6.
- Koumoundouros, G., Sfakianakis, D., Divanach, P & Kentouri, M., National Cent. for Marine Research, Athens (Greece)., 2003. Morpho-anatomical deformities of fish: Quality control, certification and improvement. 7th Hellenic Symposium on Oceanography and Fisheries. Chersonissos, Greece, 6-9 May 2003. Abstracts. p. 353.
- Kraft, Allen A. 1992. Psychrotrophic bacteria in foods. Disease and spoilage. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Inc. pp. 99-112. (Chapter 5, Spoilage of eggs and fish).
- Kyra, 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.
- Kyra, V.R & Lougovois, V.P., 2002. Sensory and chemical and microbial assessment of farm-raised European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 319-328.
- Manju, S., Leema, J., Srinivasa-Gomal, T.K., Ravishankar, C.N & Lalitha, K.V., 2007. Effects of sodium acetate dip treatment and vacuum packaging on chemical, microbiological, textural and sensory changes of Pearlsplit (*Etroplus suratensis*) during chill storage. *Food Chemistry*, 102, 27-35.
- Mariné, A & Vidal, M.C., 2001. Seguridad y riesgo de toxicidad de los alimentos: un debate actual. *Arbor* 661: 43-63.

- Masniyom, P., Benjakul, S & Visessanguan, W., 2002. Shelf life extension of refrigerated seabass slices under modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food Agriculture* 82(8): 873-880.
- Masniyom, P., Benjakul, S & Visessanguan, W., 2005. Combination effect of phosphate and modified atmosphere on quality and shelf-life extension of refrigerates seabass slices. *LWT-Food Science and technology*, 38, 745-756.
- Metin, S., Erkan, N., Varlik, C & Aran, N., 2001. Extension of shelf-life of chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn 1780) treated with lactic acid. *European Food Research and Technology*, 213, 174-177.
- Ministère de la Pêche et des Ressources Halieutiques. Plan National de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (2003-2007).
- Morales, A., Cardenete, G., de la Higuera, M. & Sanz, A. 1994. Effects of dietary protein source on growth, feed conversion and energy utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 124: 117-126.
- Morishita, T., Uno, K., Araki, T & Takahashi, T., 1989. Comparison of the fatty acid composition in cultured red sea bream differing in the localities and culture methods and those on the wild fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55, 847-852.
- Mourente, G., Rodríguez, A., Tocher, D.R & Sargent, J.R., 1993. Effects of dietary docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture* 112: 79-98.
- Mundheim, H., Aksnes, A & Hope, B., 2004. Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. *Aquaculture* 237: 315-331.
- Naylor, R. J., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H., Troell, M., 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405: 1017-1024.
- Office National des Statistiques 2005. L'Algérie en chiffre. Résultats 2003. pp 8, pp 14.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Santaroni, G., Marzetti, A & Caproni, R., 2002. Quality characteristics of sea bass intensively reared and from lagoon as affected by growth conditions and the aquatic environment. *Journal of Food Science* 67, 542-546.

- Özden, Ö., İnuğur, M & Erkan, N., 2007. Effect of different dose gamma radiation and refrigeration on the chemical and sensory properties and microbiological status of aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Radiation Physics and Chemistry*, 76(7), 1169-1178.
- Özogul, F., Polat, A & Özogul, Y., 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry* 85, 49-57.
- Özogul, Y., Özogul, F., Kuley, E., Özkutuk, A.S., Gökbulut, C & Köse, S., 2005. Biochemical, sensory and microbiological attributes of wild turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black Sea, during chilled storage. *Food Chemistry*, 99(4), 752-758.
- Pantazi, D., Papavergou, A., Pournis, N., Kontominas, M.G. & Savvaidis, I.N. 2008. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: microbiological, biochemical and sensory attributes. *Food Microbiology*. 25(1):136-143.
- 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, 411-420.
- Pastoriza, L., Sampredo, G., Herrera, J.J & Cabo, M.L., 1996. Effect of modified atmosphere packaging on shelf-life of iced fresh hake slices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, 541-547.
- Pastoriza, L., Sanpedro, G., Herrera, J.J & Cabo, M.L., 1998. Influence of sodium chloride and modified atmosphere packaging on microbiological, chemical and sensorial properties in ice storage of slices of hake (*Merluccius merluccius*). *Food Chemistry* 61(1), 23-28.
- Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, M.E & Cartagena-García, R., 1998. Caracterización de los parámetros de color de diferentes materias primas usadas en la industria cárnica. *Eurocarne* 63, 115-122.
- Pfalzgraf, A., Frigg, M & Steinhart H., 1995. α -Tocopherol Contents and Lipid Oxidations in Pork Muscle and Adipose Tissue during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 43:1339-1342.

- Piedecausa, M.A., Mazon, M.J., Garcia Garcia, B., Hernandez, M.D., 2007. Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture* 263: 211-219.
- Pishnamazi A, Pourreza J, Edriss MA, Samie AH. Influence of broiler breeder and laying hen breed on the apparent metabolizable energy of selected feed ingredients. *Int J Poultry Sci* 2005 ; 4 : 163-6.
- Plavnik I, Makovsky B, Sklan D. Effect of age of turkeys on the metabolizable energy of different foodstuffs. *Br Poult Sci* 2000 ; 41 : 615-6.
- Provincial, L., Gil, M., Guillen, E., Alonso, V., Rncales, P & Beltran, J, A., 2010. Effect modified atmosphere packaging using different CO₂ and N₂ combinations on physical, chemical, microbiological and sensory changes of fresh seabass (*Dicentrarchus labrax*) fillets.
- [Publicaciones de la FAO relacionadas con la acuicultura en Argelia.](#)
- Rasmussen, R. S., 2001. Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield and sensory characteristics. *Aquaculture Research*, 32 (10): 767-786 .
- Reddy, N.R., Schreiber, C.L., Buzard, K.S., Skinner, G.E & Armstrong, D.J., 1994. Shelf life of fresh tilapia fillets packaged in high barrier film with modified atmospheres. *Journal of Food Science* 59(2): 260-264.
- Reddy, N.R., A. Paradis, M.G. Roman, H.M. Solomon & E.J. Rhodehamel. 1996. Toxin development by *C. botulinum* in modified atmosphere- packaged fresh tilapia fillets during storage. *Journal of Food Science*. 61:632-635.
- Reddy, N. R., M.G. Roman, M. Villanueva, H.M. Solomon, D.A. Kautter & E.J. Rhodehamel. 1997a. Shelf life and *C. botulinum* toxin development during storage of modified atmosphere- packaged fresh catfish fillets. *J. Food Sci.* 62:878-884.
- Reddy, N.R., H.M. Solomon, H. Yep, M.G. Roman & E.J. Rhodehamel. 1997b. Shelf life and toxin development by *C. botulinum* during storage of modified atmosphere- packaged fresh aquacultured salmon fillets. *Journal of Food Proteine*. 60:1055-1063.
- Reddy, N. R., H.M. Solomon & E.J. Rhodehamel. 1999. Comparison of margin of safety between sensory spoilage and onset of *C. botulinum* toxin development during storage of modified atmosphere (MA)- packaged fresh marine cod fillets with MA- packaged aquacultured fish fillets. *J. Food Saf.* 19:171-183.

- Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Rosenlund, G., Kaushik, S.J., 2003. Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*): 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. *Aquaculture* 217: 465-482.
- Réponse au projet de rapport relatif à une commission d'inspection réalisée en Algérie du 04 au 13 mars 2003 concernant les conditions de production et d'exportation vers l'union européenne des produits de la pêche et des mollusques bivalves vivants.
- Ricker, W., 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull. Fish. Res. Board Can.* 191.
- Rodríguez, C., Pérez, J.A., Badía, P., Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H & Hernández, A.L., 1998. The n-3 highly unsaturated fatty acids requirements of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae when using an appropriate DHA/EPA ratio in the diet. *Aquaculture* 169: 9-23.
- Roth, B., Slinde, E & Arildsen, J., 2006. Pre or post mortem 11. muscle activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*). The effect on rigor mortis and the physical properties of flesh. *Aquaculture* ; 257: 504–510.
- Ruiz-Capillas, C. & Moral, A., 2001. Residual effect of CO₂ on hake (*Merluccius merluccius*) stored in modified and controlled atmospheres. *European Food Research Technology*, 212, 413–420.
- Ruiz-Capillas, C., Morales, J & Moral, A., 2003. Preservation of bulk-stored Norway lobster at 1° C in controlled and modified atmospheres, *European Food Research Technology*. 217:466-470.
- Ruiz-Capillas, C & Moral, A., 2005. Free amino acids in muscle of Norway lobster (*Nephrops norvegicus* L.) in controlled and modified atmospheres during chilled storage. *Food Chemistry* 86(3), 85-91.
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A., Bell, J.G., 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155: 117-127.
- Sargent, J., Bell, J., McGhee, F., McEvoy, J., & Webster, J., 2001. The nutritional value of fish In: *Farmed Fish Quality*, Kestin S. C., Warriss P. D. (Eds.): Blackwell Science Ltd., Osney Mead Oxford OX2 0EL UK, pp. 3-12.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. and Bell, J.G., 2002. The lipids. En: Halver, J.E. and Hardy, R.W. (eds), *Fish Nutrition*, Academic Press, San Diego, CA, pp. 181-257.

- Sauvant, D., Perez, J.M & Tran, G., 2004. Tablas de composición y de valor nutritivo de las materias primas destinadas a los animales de interés ganadero. Ediciones Mundi-Presa, Madrid, 310 pp.
- Serrano, E. 2004. Reemplazo parcial de harina de pescado por harina de lupino blanco (*lupinus albus*) en dietas extruidas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): efectos sobre los índices productivos y la composición de ácidos grasos en el músculo. Tesis de grado Universidad Católica de Temuco. Chile. 72 pp.
- Serrano, R., Barreda, M & Blanes, M.A., 2008. Investigating the presence of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) from the Western Mediterranean sea. *Marine Pollution Bulletin* 56: 963-972.
- Silliker, J.H & Wolfe, S.K., 1980. Microbiological safety consideration in controlled-atmosphere storage of meats. *Food Technology*, 34, 59-63.
- Simopoulos, A.P., 1999. Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 70: 560S-569.
- Simopoulos, A.P., 2000. Human requirement for n-3 polyunsaturated fatty acids. *Poultry Science* 79: 961-970.
- Simopoulos, A.P., 2001. n-3 fatty acids and human health: Defining strategies for public policy. *Lipids* 36: S83-S89.
- Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K & Rosnes, J.T., 2004. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into non-respiring foods. Part 2: raw fish fillets. *Journal of Food Engineering*, 63, 451-458.
- Slimane BEDRANI-INA El Harrach Alger. L'agriculture, l'agroalimentaire, la peche et le developpement rural en Algerie. P13
- SPSS., 2006. *Statistical Package for Social Science for Windows (version 15.0)* Chicago, IL: SPSS Inc.
- Stubhaug, I., Lie, O., Torstensen, B.E., 2007. Fatty acid productive value and beta-oxidation capacity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed on different lipid sources along the whole growth period. *Aquaculture Nutrition* 13: 145- 155.
- Suarez, H., Pardo, S.C., Cortes, M., Ricaurte, S.C & Rojano, B., 2009. Evaluación de nueva tecnología para mitigar las espinas intramusculares en filetes de cachama *Piaractus brachypomus* (Pisces: Characidae).

- Tacon, A.G.J., 1997. Feeding tomorrow's fish: keys for sustainability. En: Tacon, A., Basurco, B. (Eds.), Feeding tomorrow's fish. Cahiers Options Méditerranéennes 22, 153-182.
- Taliadourou, D., Papadopoulos, V., Domvridou, E., Savvaidis, I & Kontominas, G.M., 2003. Microbiological, chemical and sensory changes of whole and filleted Mediterranean aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, 1373-1379.
- Tocher, D. R., Bell, J. G., Dick, J. R., Henderson, R. J., McGhee, F., Mitchell, D. F & Morris, P. C. Polyunsaturated fatty acid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar*) undergoing parr-smolt transformation and the effects of dietary linseed and rapeseed oils. *Fish Physiol. Biochem.* 2000;23:59-73
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in Fisheries Science* 11: 107-184.
- Torrieri, E., Cavella, S., Villani, F & Masi, P., 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Journal of Food Engineering*, 77(4), 1078-1086.
- Torstensen, B.E., Froyland, L., Ørnstrud, R., Lie, Ø., 2004. Tailoring of a cardioprotective muscle fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed vegetable oils. *Food Chemistry* 87: 567-580.
- Torstensen, B.E., Bell, J.G., Roselund, G., Henderson, R.J., Graff, I.E., Tocher, D.R., Lie, Ø & Sargent, J.R., 2005. Tailoring of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) flesh lipid composition and sensory quality by replacing fish oil with a vegetable oil blend. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 10166-10178.
- Turchini, G.M., Gunasekera, R.M., De Silva, S.S., 2003. Effect of crude oil extracts from trout offal as a replacement for fish oil in the diets of the Australian native fish Murray cod *Maccullochella peelii peelii*. *Aquaculture Research* 34: 697-708.
- USDA (2006) U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. USDA Nutrient Database for Standard Reference, Release 18. Retrieved 2006-10-30 from the Nutrient Data Laboratory Home Page: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>.
- Wijendran, V., Hayes, K.C., 2004. Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition* 24: 597-615.
- Zelenka J. Effects of sex, age and food intake upon metabolizable energy values in broiler chickens. *Br Poult Sci* 1997 ; 38 : 281-4.