

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



DESARROLLO DE PRODUCTOS AHUMADOS A PARTIR DE
LUBINA (*Dicentrarchus labrax* L.)

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Ana Fuentes López

Dirigida por:

Juan Antonio Serra Belenguer

José Manuel Barat Baviera

Isabel Fernández Segovia

Valencia, diciembre de 2007



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

LOS DOCTORES JUAN ANTONIO SERRA BERENGUER, CATEDRÁTICO TITULAR DE UNIVERSIDAD, JOSÉ MANUEL BARAT BAVIERA, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD E ISABEL FERNÁNDEZ SEGOVIA, DEL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

CONSIDERAN que la memoria titulada **DESARROLLO DE PRODUCTOS AHUMADO A PARTIR DE LUBINA (*Dicentarchus labrax* L.)** que presenta Dña. ANA FUENTES LÓPEZ, para aspirar al grado de Doctora por la universidad politécnica de Valencia, que ha sido realizada bajo nuestra dirección en el departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Politécnica de Valencia, reúne las condiciones adecuadas para constituir su tesis doctoral, por lo que **AUTORIZAN** al interesado para su presentación.

Valencia, 29 de Noviembre de 2007

Fdo. Juan Antonio Serra Belenguer **Fdo. Jose Manuel Barat Baviera** **Fdo. Isabel Fernández Segovia**

Quiero dar las gracias:

A Juan por ser la puerta a este nuevo mundo para mí, por estar siempre ahí y por compartir conmigo hasta su oficina.

A Jose porque ha sido la *cabeza pensante* de todo esto, aunque en ocasiones hubiera deseado que no hubiese *pensado* tanto.

A Isa porque, además de ser la mejor jefa que podía haber encontrado, ha sido todavía mejor amiga y consejera. No te imaginas cuanto te lo agradezco.

A Marta, Rebeca, Pepe, Mario, Alberto, Isa, Ester, porque con ellos además de compañeros he ganado amigos.

A todos los que han sido mis manos en el laboratorio y cuyo trabajo queda detrás de estas páginas. A Gelisa, Jose Luis, Amparo, Rosario, Mónica, Juan, Sergio, Javi y Marta.

A Piru por que es el que más ha sufrido con este trabajo, aunque después de seis años siga sin saber exactamente en que consiste una tesis doctoral.

A Cristi porque es especial, maravillosa y la persona a quien más quiero.

A mis padres porque cuando tengan este trabajo entre sus manos van a pensar que es el mejor del mundo: "no es así, mama?"

A Eva y Marina porque ser la mejor definición de amistad que conozco.

A David por advertirme que no me metiera en este berenjenal y a quien, obviamente, no hice caso.

Al mundo marino por ser, sin duda, maravilloso. Perdona lubina.

JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha observado un aumento en el consumo de pescado como alternativa al consumo de carne y productos cárnicos. Esta creciente importancia del pescado en la dieta, unida al crecimiento de la población mundial, la introducción del pescado en países que no habían sido tradicionalmente consumidores de productos pesqueros, así como el preocupante agotamiento de los caladeros pesqueros ha provocado que en la actualidad se busquen alternativas eficaces que permitan asegurar el suministro de pescado a la población. Es dentro de este contexto donde se posiciona la acuicultura como uno de los sectores con mayor proyección del mercado, tanto como productor de pescado para consumo en fresco como suministrador de materia prima para la industria de elaboración de productos derivados de la pesca. Las ventajas de la acuicultura se centran principalmente en la posibilidad de disponer de materia prima de calidad homogénea y menor precio durante cualquier época del año, lo que permite a la industria reducir sus costes de producción y suministrar al consumidor productos de una calidad homogénea.

La utilización del pescado como base para la innovación en el sector alimentario es una opción muy interesante, ya que la preocupación por la dieta y su influencia en la salud, ha contribuido a la revalorización de la imagen del pescado, convirtiéndolo en una excelente materia prima para la elaboración de productos saludables, como son los productos con bajo contenido en grasa, bajos en sal o productos enriquecidos con vitaminas y minerales.

RESUMEN

En el presente trabajo se llevó a cabo el desarrollo un nuevo producto de lubina ahumada con bajo contenido en sodio. Para ello se estudiaron las características fisico-químicas de la lubina, materia prima de este estudio, junto con los parámetros fisico-químicos que mejor definen los productos ahumados/marinados comerciales. En la segunda fase del trabajo se desarrolló un producto de lubina ahumada con bajo contenido en sodio; para ello se estudió cómo afectaban por un lado las características de la materia prima y por otro la sustitución parcial de cloruro sódico por cloruro potásico, tanto al proceso como al producto final. Finalmente, se estudió la evolución de la calidad del producto obtenido durante el almacenamiento en refrigeración. En este capítulo se estudió el efecto de la sustitución parcial de sodio por potasio y el tipo de envasado (aire, vacío y atmósfera modificada) sobre la evolución de la calidad sensorial y microbiológica, y sobre diferentes parámetros fisico-químicos.

Los resultados obtenidos mostraron la excelente calidad nutricional de la lubina de crianza, lo que unido al menor precio y mayor disponibilidad, hacen que sea una excelente materia prima para la industria de elaboración de productos de la pesca. Los productos de la pesca ahumados y marinados comerciales presentan una importante variabilidad, especialmente en su contenido en sal y a_w , lo que afecta de forma importante a la conservación del producto y a las características sensoriales del mismo. Estos resultados señalarían la importancia de desarrollar nuevos procedimientos que permitan satisfacer las expectativas de los consumidores, quienes esperan que la calidad sensorial del producto se mantenga en compras sucesivas.

Respecto al proceso de salado, se observó que el salado con control termodinámico permitía reducir la variabilidad anteriormente comentada, obteniendo productos más homogéneos, especialmente respecto a su contenido en sal. Por otro lado, la sustitución parcial de sodio por potasio afectó a las variaciones de peso, humedad y sólidos solubles, así como a los valores de pH, a_w

y color de los filetes de lubina; es por ello, que este efecto tiene que ser considerado a la hora de definir las condiciones de salado.

En el nuevo producto de lubina ahumada, la sustitución del 50% de NaCl por KCl no afectó a la calidad fisico-química, microbiológica y sensorial del producto recién procesado, ni tampoco durante su almacenamiento en refrigeración. El envasado a vacío y la atmósfera modificada permitieron aumentar la vida útil de lubina ahumada en aproximadamente 7 días, con respecto al envasado en aire, siendo el comportamiento de ambos envasados muy similar.

RESUM

En aquest treball es va a fer el desenvolupament d'un nou producte de llobarro fumat amb baix contingut de sodi. Per això, es van estudiar les característiques fisico-químiques del llobarro, matèria primera d'aquest estudi, junt amb altres paràmetres fisico-químics que millor defineixen les productes fumats/marinats comercials. A la segona fase del treball es va desenvolupar un producte de llobarro amb baix contingut en sodi; es van estudiar com afectaven per una banda les característiques de la matèria primera i per un altra la substitució parcial del clorur sòdic per clorur potàssic tant al procés com al producte final. Finalment, es va estudiar l'evolució de la qualitat del producte obtingut, durant l'emmagatzemament en refrigeració. En aquest capítol es va estudiar l'efecte de la substitució parcial de sodi per potassi i el tipus d'envasament (aire, buit i atmosfera modificada) sobre l'evolució de la qualitat sensorial i microbiològica, i sobre diferents paràmetres fisico-químics.

Els resultats obtinguts van mostrar l'excel·lent qualitat nutricional del llobarro de criança, la qual cosa unida al menor preu i major disponibilitat, fan que siga una excel·lent matèria primera per a la indústria d'elaboració de productes de la pesca. Els productes de la pesca fumats i marinats comercials presenten una important variabilitat, especialment al seu contingut en sal i aw, la qual cosa afecta de forma important a la conservació del producte i a les característiques sensorials del mateix. Estos resultats assenyalarien la importància de desenvolupar nous procediments que permeten satisfer les expectatives dels consumidors, els que esperen que la qualitat sensorial del producte es mantinga en compres successives.

Respecte al procés de salat, es va observar que el salat amb control termodinàmic permetia reduir la variabilitat anteriorment comentada, obtenint productes més homogenis, especialment respecte al seu contingut en sal. D'altra banda, la substitució parcial de sodi per potassi va afectar les variacions de pes, humitat i sòlids solubles, així com als valors de pH, aw i color dels filets de

llobarro; és per això, que este efecte ha de ser considerat a l'hora de definir les condicions de salat.

En el nou producte de llobarro ahumada, la substitució del 50% de NaCl per KCl no va afectar la qualitat fisico-química, microbiològica i sensorial del producte acabat de processar, ni tampoc durant el seu emmagatzemament en refrigeració. L'envasament a buit i l'atmosfera modificada van permetre augmentar la vida útil de llobarro ahumada en aproximadament 7 dies, respecte a l'envasament en aire, sent el comportament d'ambdós envasaments molt semblant.

ABSTRACT

In this study, the development of a new product of smoked sea bass with low sodium content was carried out. For this purpose, the physico-chemical characteristics of sea bass, raw material of this study, and the main physico-chemical parameters which better define the commercial smoked/marinated fish products, were studied. In the second step of this study, it was developed a product of smoked sea bass with low sodium content, for this purpose the effect of the raw material characteristic and partial sodium chloride replacement by potassium chloride, on the process and final product, were studied. Finally, the quality evolution of the obtained product during the cold storage was studied. In this chapter, it was studied the effect of sodium partial replacement and kind of packaging (air, vacuum and modified atmosphere) on the evolution of the sensory and microbial quality, as well as on different physico-chemical parameters.

The results obtained showed the high nutritional quality of farmed sea bass what, together with its lower cost and higher availability, make it a highly regarded raw material for the fish industry. Smoked and marinated fish products exhibited a high variability, specially in their salt content and aw, what affects the product preservation and its sensory characteristics. These results would show the interest in developing new procedures which would respond to the expectations of a consumer who expects the product to have the same sensory quality throughout successive purchases.

Regarding to salting process, it was observed that salting with thermodynamic control would allow to reduce the variability above mentioned, obtaining more homogeneous products, specially in their salt content. On the other hand, partial sodium replacement by potassium affected weight, moisture and solutes changes, as well as, pH, aw and colour of sea bass fillets, for this reason, this effect has to be considered in order to establish the proper salting conditions.

In the new product of smoked sea bass, replacement of 50% NaCl by KCl did not affect physico-chemical, microbial and sensory quality of the freshly smoked

product, neither during sold storage. Vacuum and modified atmosphere packaging manage to increase smoked sea bass shelf life in approximately 7 days with regard to air, being similar the evolution of both kind of packaging.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
1. La lubina.....	3
1.1. Generalidades.....	3
1.2. Composición y valor nutritivo.....	4
1.3. Hábitat, zona de pesca y producción en piscifactorías.....	6
1.4. Importancia económica.....	7
2. Conservación del pescado.....	9
2.1. El procesado de pescado como método de conservación.....	10
2.1.1. Salado.....	10
2.1.2. Ahumado.....	15
2.1.2.1. Aspectos toxicológicos del proceso de ahumado.....	16
2.1.2.2. Tipos de ahumado.....	17
2.2. Almacenamiento en refrigeración.....	23
2.3. Envasado.....	24
2.3.1. Envasado a vacío.....	25
2.3.2. Envasado en atmósfera modificada.....	25
3. Alteración del pescado.....	27
3.1. Generalidades.....	27
3.2. Aspectos específicos de la alteración del pescado.....	29
3.3. Métodos de evaluación del deterioro.....	30
II. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO	33
1. Objetivo general.....	35
2. Plan de trabajo.....	35

Capítulo III. CARACTERIZACIÓN DE LUBINA FRESCA Y PRODUCTOS AHUMADOS.....	37
III.1. Caracterización y comparación de lubinas (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.) procedentes de piscifactoría y pesca extractiva.....	39
1.	
Introducción.....	39
2.	
Objetivo.....	42
3. Materiales y métodos.....	42
3.1. Materia prima y preparación de la muestra.....	42
3.2. Determinaciones analíticas.....	43
3.2.1. Humedad.....	43
3.2.2. Lípidos.....	44
3.2.3. Proteínas.....	44
3.2.4. Cenizas.....	46
3.2.5. Minerales.....	46
3.2.6. pH.....	47
3.2.7. Actividad de agua (a_w).....	47
3.2.8. Capacidad de retención de agua (CRA).....	48
3.2.9. Nitrógeno básico volátil total (N-BVT).....	49
3.2.10. Color.....	50
3.2.11. Ensayos mecánicos.....	51
3.2.12. Análisis de ácidos grasos.....	52
3.2.13. Análisis de aminoácidos libres.....	53
3.3. Análisis estadístico.....	55
4. Resultados y discusión.....	55
4.1. Composición centesimal, contenido mineral y parámetros físico-químicos.....	55

4.2. Color.....	63
4.3. Ensayos mecánicos.....	64
4.4. Análisis de ácidos grasos.....	65
4.5. Análisis de aminoácidos libres.....	69
5. Conclusiones.....	71
III.2. Composición y características físico-químicas de los pescados ahumados y marinados en el mercado español.....	73
1. Introducción.....	73
2. Objetivo.....	77
3. Materiales y métodos.....	77
3.1. Materia prima.....	77
3.2. Determinaciones analíticas.....	78
3.2.1. Composición y valor nutricional.....	78
3.2.2. Contenido en cloruro sódico.....	78
3.2.3. pH.....	79
3.2.4. Actividad de agua (a_w).....	79
3.2.5. Capacidad de retención de agua (CRA).....	79
3.2.6. Color.....	79
3.3. Análisis estadístico.....	80
4. Resultados y discusión.....	81
4.1. Selección de las muestras de pescado.....	81
4.2. Composición y valor nutricional.....	84
4.2.1. Efecto de la especie de pescado sobre la composición centesimal y valor nutricional.....	84
4.2.2. Efecto del lote de adquisición del producto sobre la composición centesimal y valor nutricional.....	90
4.3. Caracterización físico-química.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I

Figura I.1. Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.).....	3
Figura I.2. Evolución de las fuentes de obtención de lubina en Europa. Datos de la producción acuícola y de pesca extractiva para el periodo 1980-2005. Fuente: Apromar, 2007.....	8
Figura I.3. Evolución de la producción de acuicultura y precios medios de lubina en Europa para el periodo 1996-2006. Fuente: Apromar, 2007.....	9

Capítulo III

Figura III.1. Esquema del montaje del tubo de centrífuga utilizado determinación de la capacidad de retención de agua (CRA).....	48
Figura III.2. Dendograma obtenido a partir del Análisis Cluster Jerárquico realizado con los datos relativos a la composición y características fisico-químicas de los productos ahumados y marinados. Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.....	100
Figura III.3. Representación de las dos funciones discriminantes para las muestras de pescado ahumado y marinado. Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.....	104

Capítulo IV

Figura IV.1. Esquema de preparación y proceso de salado de la lubina. Nomenclatura descrita en el anexo B (tabla VIII.2).....	113
--	-----

Figura IV.2. Variación de masa total (ΔM_t^0) de las muestras de lubina. Valores promedio de P_1 (junto cabeza), P_2 (centro) y P_3 (cola), durante el proceso de salado (P: piel, C: carne).....	119
Figura IV.3. Variación de masa de agua (ΔM_t^w) y cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl}) de las muestras de lubina. Valores promedio de P_1 (junto cabeza), P_2 (centro) y P_3 (cola), durante el proceso de salado (P: piel, C: carne).....	120
Figura IV.4. Valores de la inversa de la fuerza impulsora ($1-Y^{NaCl}$) frente a $t^{0.5}/l$	125
Figura IV.5. Esquema del procedimiento de salado con control cinético. Nomenclatura descrita en el anexo B (tabla VIII.2).....	132
Figura IV.6. Esquema del procedimiento de salado con control termodinámico. Nomenclatura descrita en el anexo B (tabla VIII.2).....	135
Figura IV.7. Variación de masa total (ΔM_t^0), variación de masa de agua (ΔM_t^w) y variación de masa de cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl}) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado.....	139
Figura IV.8. Valores de la fracción másica de NaCl (x^{NaCl}), concentración de NaCl en base seca (X^{NaCl}) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ($t^{0.5}$).....	140
Figura IV.9. Ajuste de los valores de la inversa de la fuerza impulsora reducida ($1 - Y_t^{NaCl}$) frente a $t^{0.5}/l$ en los filetes de lubina.....	144

Figura IV.10. Variación de masa total (ΔM_j^0), variación de masa de agua (ΔM_j^W) y variación de masa de cloruro sódico (ΔM_j^{NaCl}) frente a la concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}).....	145
Figura IV.11. Fracción másica de NaCl (x^{NaCl}), concentración de NaCl en base seca (X^{NaCl}) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}) frente a la concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl})....	146
Figura IV.12. Salmuera exudada durante el proceso de salado con control termodinámico (g exudado/g lubina) frente a la concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}). Los puntos experimentales con letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$).....	147
Figura IV.13. Representación de los valores experimentales de z^{NaCl} frente a a_w para el proceso de salado con control cinético y termodinámico, y para una disolución de NaCl.....	150
Figura IV.14. Esquema del proceso de salado de los filetes de lubina. Nomenclatura en anexo B (tabla VIII.2).....	159
Figura IV.15. Representación de los valores promedio de razón másica de sólidos solubles experimentales (X^{SS}) frente a los valores objetivo (X_{obj}^{SS}), para cada una de las mezclas de sales.....	165
Figura IV.16. Variación de masa total (ΔM_j^0), agua (ΔM_j^W) y sólidos solubles (ΔM_j^{SS}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{SS}) en muestras de lubina saladas con 100% NaCl.....	166
Figura IV.17. Variación de masa total (ΔM_j^0), agua (ΔM_j^W) y sólidos solubles (ΔM_j^{SS}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{SS}) en muestras de lubina saladas con la mezcla 75% NaCl-25% KCl..	167

Figura IV.18. Variación de masa total (ΔM_j^0), agua (ΔM_j^w) y de sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) en muestras de lubina saladas con la mezcla 50% NaCl-50% KCl..	167
Figura IV.19. Variación de masa total (ΔM_j^0), agua (ΔM_j^w) y sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) en muestras de lubina saladas con la mezcla 25% NaCl-75% KCl..	168
Figura IV.20. Cuestionario para el análisis sensorial de las muestras de lubina ahumada.....	188
Figura IV.21. Representación de los valores de a_w predicha frente a los valores promedio de razón másica de sólidos solubles experimentales (X^{ss}), para cada una de las mezclas de sales.....	190
Figura IV.22. Variación de masa total (ΔM_t^0) en los filetes de lubina durante la etapa de secado.....	193
Figura IV.23. Representación de las puntuaciones promedio dadas por los catadores, para los distintos atributos de olor, aspecto, color, sabor, apreciación global (global), en muestras de lubina ahumada salada con las 4 mezclas de sales.....	194
Capítulo V	
Figura V.1. Esquema del procesado de lubina. Nomenclatura en anexo B (tabla VIII.2).....	203
Figura V.2. Porciones del filete de lubina empleada para los análisis de color (a) y textura (b).....	210
Figura V.3. Cuestionario para el análisis sensorial de las muestras de lubina ahumada.....	219

Figura V.4. Evolución de la humedad en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; KCl: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	240
Figura V.5. Evolución del pH en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; KCl: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	241
Figura V.6. Evolución de la actividad de agua (a_w) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	242
Figura V.7. Evolución de la capacidad de retención de agua (CRA) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	243
Figura V.8. Evolución del nitrógeno básico volátil total (N-BVT) en lubina ahumada. Na: muestras salada con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl - 50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el límite máximo establecido por la legislación.....	244

Figura V.9. Evolución del nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl - 50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el nivel máximo de aceptación considerado en el presente estudio.....	246
Figura V.10. Evolución del índice del TBA en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el nivel máximo de aceptación considerado en el presente estudio....	247
Figura V.11. Evolución del contenido en histamina (mg/kg) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	250
Figura V.12. Evolución del contenido en tiramina (mg/kg) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	252
Figura V.13. Evolución del contenido en putrescina (mg/kg) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	253
Figura V.14. Evolución del contenido en cadaverina (mg/kg) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	254

Figura V.15. Evolución del contenido en espermidina (mg/kg) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	255
Figura V.16. Evolución del contenido en espermina (mg/kg) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	256
Figura V.17. Evolución de la luminosidad (L^*) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	257
Figura V.18. Evolución de las coordenadas a^* , b^* , tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	258
Figura V.19. Evolución de los parámetros mecánicos de dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	260
Figura V.20. Evolución de la fuerza máxima de corte (F_{max}) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.....	261

Figura V.21. Evolución de mesófilos en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el límite máximo establecido por la legislación.....	265
Figura V.22. Evolución de mohos y levaduras en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	266
Figura V.23. Evolución de enterobacterias en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el límite máximo establecido por la legislación.....	267
Figura V.24. Evolución de bacterias productoras de sulfhídrico (H ₂ S) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.....	269
Figura V.25. Representación de las dos funciones discriminantes para las muestras envasadas en aire, vacío y atmósfera modificada.....	271
Figura V.26. Representación de las dos funciones discriminantes para los tiempos de almacenamiento.....	273
Figura V.27. Representación de la media de las puntuaciones dadas por los catadores, para los distintos atributos evaluados en muestras de lubina ahumada envasada a vacío. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; 0, 14 y 28 indican los días de almacenamiento en refrigeración.....	275
Figura V.28. Representación de las dos funciones discriminantes para los tiempos de almacenamiento.....	278

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo I

Tabla I.1. Composición centesimal y valor nutricional de la lubina (valores promedio en 100 g de porción comestible).....	5
---	---

Capítulo III

Tabla III.1. Programación del gradiente de elución empleado en el análisis de aminoácidos libres.....	54
Tabla III.2. Composición centesimal y contenido mineral de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).....	56
Tabla III.3. Parámetros físico-químicos de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). CRA: Capacidad de retención de agua (g H ₂ O retenida/100 g H ₂ O); N-BVT: Nitrógeno básico volátil total (mg N/100 g muestra). Valores promedio \pm SD (n=9).....	59
Tabla III.4. Coordenadas de color CIEL*a*b*, tono (h _{ab} *) y croma (C _{ab} *) de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).....	62
Tabla III.5. Parámetros de textura de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).....	65
Tabla III.6. Ácidos grasos de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S) (g/100 g ácidos grasos). Valores promedio \pm SD (n=9).....	68

Tabla III.7. Contenido en aminoácidos libres (mg/Kg) en lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y en lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).....	69
Tabla III.8. Información de los pescados ahumados y marinados analizados.....	83
Tabla III.9. Composición centesimal y valor energético en las muestras de pescado ahumado/marinado. Valores promedio \pm SD de los tres lotes y valores extremos (n=9). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.....	87
Tabla III.10. Contenido en calcio, sodio, magnesio y potasio en las muestras de pescado ahumado/marinado. Valores promedio \pm SD de los tres lotes y valores extremos (n=9). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.....	89
Tabla III.11. Parámetros fisico-químicos en las muestras de pescado ahumado/marinado. Valores promedio \pm SD de los tres lotes y valores extremos (n=9). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.....	93
Tabla III.12. Coordenadas de color en las muestras de pescado ahumado/marinado. L*: luminosidad, a*: rojo, b*: amarillo, Cab*: croma, hab*: tono. Valores promedio \pm SD de los tres lotes, y valores extremos (n=18). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.....	102
Tabla III.13. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura III.3.....	103
Tabla III.14. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes.....	103

Capítulo IV

Tabla IV.1. Composición fisico-química de la sal empleada en el estudio.	111
Tabla IV.2 Masa inicial (M_0^0), superficie de contacto (A) y espesor (e) de las piezas de lubina (cercana a la cabeza (P_1), centro (P_2) y cola (P_3)). Valores promedio \pm SD (n = 30).....	118
Tabla IV.3. Coeficientes de regresión para cada variable independiente ¹ y coeficientes de determinación (R^2) para las variables dependientes ² , en el estudio del salado de lubina. Cte: constante del modelo.....	122
Tabla IV.4. Coeficientes de regresión (b) para cada variable independiente ¹ y de determinación (R^2) para las variables dependientes ² en el estudio del proceso de salado de lubina a través de la piel (P) y a través de la carne (C). Cte: constante del modelo.....	124
Tabla IV.5. Coeficientes de regresión (b) para las variables independientes ¹ y coeficientes de determinación (R^2) para la inversa de la fuerza impulsora reducida ($1 - Y_t^{NaCl}$).....	127
Tabla IV.6. Variables dependientes e independientes consideradas en el análisis de regresión múltiple para los dos procedimientos de salado: control cinético y control termodinámico.....	137
Tabla IV.7. Masa inicial (M_0^0), área (A) y espesor (e) de los filetes empleados en el estudio (n=90) y las concentraciones promedio de humedad (x_0^w) y cloruro sódico (x_0^{NaCl}), y actividad de agua (a_w) de la lubina fresca (valor promedio \pm SD) (n=12).....	138

<p>Tabla IV.8. Coeficientes de regresión (b) y de correlación parcial (R_{part}^2) para cada variable independiente¹ y coeficientes de determinación (R^2) para las variables dependientes², en el estudio del proceso de salado con control cinético. Cte: constante del modelo de regresión.....</p>	141
<p>Tabla IV.9. Coeficientes de regresión (b) y de correlación parcial (R_{part}^2) para cada variable independiente¹ y coeficiente de determinación (R^2) para las variables dependiente², en el estudio termodinámico. Cte: constante del modelo de regresión.....</p>	148
<p>Tabla IV.10. Coeficientes de la varianza (valor promedio \pm SD) para las variaciones de masa total, agua y NaCl (ΔM_j^o, ΔM_j^w y ΔM_j^{NaCl}), fracción másica de NaCl (x^{NaCl}), fracción másica de NaCl en base seca (X^{NaCl}) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}), para el proceso de salado con control cinético y termodinámico, y resultado del ANOVA. salado con control cinético: $j=t$; control termodinámico: $j=X_{obj}^{NaCl}$</p>	152
<p>Tabla IV.11. Composición de cada una de las formulaciones empleadas en el estudio de salado de lubina. x^{NaCl}, x^{KCl} y x^{MgCO_3} corresponden a las fracciones másicas de NaCl, KCl y $MgCO_3$, de cada una de las formulaciones (g/g mezcla).....</p>	157
<p>Tabla IV.12. Fracciones másicas de agua (x_0^w), cloruro (x_0^{Cl}), sodio (x_0^{Na}), potasio (x_0^K) y magnesio (x_0^{Mg}), así como los valores de actividad de agua (a_w) y pH de la lubina fresca. Valores promedio \pm SD (n=12).....</p>	164

Tabla IV.13. Resultados del ANOVA multifactor realizado para las variables fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}) y fracción másica de sólidos solubles en la fase líquida (z^{ss}), y los factores proporción de NaCl en la mezcla (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (x_{obj}^{ss}).....	170
Tabla IV.14. Coeficientes de regresión (b) y de correlación parcial (R_{part}^2) para cada variable independiente ¹ y coeficiente de determinación (R^2) para cada variable dependiente ² , en el estudio termodinámico. Cte: constante del modelo.....	171
Tabla IV.15. Cantidad de exudado recogido (g exudado/100 g lubina) tras el proceso de salado. Valores promedio \pm SD (n=3).....	174
Tabla IV.16. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable cantidad de exudado (g exudado/g pescado) y los factores proporción de NaCl en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (x_{obj}^{ss}).....	174
Tabla IV.17. Valores de a_w de los filetes de lubina salados. Valores promedio \pm SD (n=3).....	175
Tabla IV.18. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable a_w y los factores proporción de NaCl en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (x_{obj}^{ss}).....	176
Tabla IV.19. Valores de pH de los filetes de lubina salados. Valores promedio \pm SD (n=3).....	177
Tabla IV.20. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable pH y los factores proporción de NaCl en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (x_{obj}^{ss}).....	177
Tabla IV.21. Coordenadas L*, a*b, * de los filetes de lubina fresca. Valores promedio \pm SD, n=180).....	178

Tabla IV.22. Resultados del ANOVA multifactor realizado para las variables L*, a* y b*, y los factores proporción de NaCl en la mezcla (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo ($x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$).....	179
Tabla IV.23. Valores de diferencia de color (ΔE) en los filetes de lubina. Valores promedio \pm SD (n=3).....	179
Tabla IV.24. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable diferencia de color (ΔE) y los factores proporción de NaCl en la mezcla (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo ($x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$).....	180
Tabla IV.25. Coordenadas L*, a* y b* para los filetes de lubina antes y después del salado y resultado del ANOVA. Valor promedio \pm SD (n=180).....	180
Tabla IV.26. Contenido en humedad, lípidos y cloruro sódico, y los valores de actividad de agua para lubina, atún y trucha ahumada obtenidos en el capítulo III.2. Valores promedio \pm SD de los tres lotes, y valores extremos (n=9).....	184
Capítulo V	
Tabla V.1. Programación del gradiente de elución empleado en el análisis de aminas biógenas.....	209
Tabla V.2. Caracterización físico-química de lubina fresca y de lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. CRA: capacidad de retención de agua (g H ₂ O retenida/100g H ₂ O). Valores promedio \pm SD (n=12).....	222
Tabla V.3. Concentración de nitrógeno básico volátil total (N-BVT), nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) e índice del ácido tiobarbitúrico (TBA) en lubina fresca y en la lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	225

Tabla V.4. Contenido en aminas biógenas (mg/Kg) en lubina fresca y en la lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	230
Tabla V.5. Coordenadas CIEL*a*b*, tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) en lubina fresca y en lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl; y diferencias de color de las muestras ahumadas respecto a la lubina fresca (ΔE). Valores promedio \pm SD (n=12).....	234
Tabla V.6. Parámetros mecánicos de dureza (D), cohesividad (C), adhesividad (A), elasticidad (E), gomosidad (G), masticabilidad (M) y fuerza máxima de corte (F_{max}) en la lubina fresca y en la lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	235
Tabla V.7. Recuentos microbiológicos de lubina fresca y de lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	236
Tabla V.8. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura V.25.....	270
Tabla V.9. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes representadas en la figura V.25.....	270
Tabla V.10. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura V.26.....	272
Tabla V.11. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes representadas en la figura V.26.....	272
Tabla V.12. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura V.28.....	277
Tabla V.13. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes representadas en la figura V.28.....	277

Capítulo VIII

Tabla VIII.1. Información recogida en las fichas de caracterización de los productos de la pesca ahumados y marinados encontrados en el mercado (Septiembre 2003).....	323
Tabla VIII.2. Nomenclatura utilizada en el capítulo IV. Abreviaturas empleadas para los términos citados a lo largo de trabajo así como sus unidades correspondientes.....	330
Tabla VIII.3. Puntuaciones de los atributos evaluados obtenidas en el análisis sensorial de lubina ahumada y salada con 4 formulaciones diferentes de sales. Puntuaciones promedio \pm SD (n=50).....	332
Tabla VIII.4. Resultados de los ANOVAS realizados para los parámetros fisico-químicos en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. CRA: capacidad de retención de agua (g H ₂ O retenida/100g H ₂ O). Valores promedio \pm SD (n=12).....	333
Tabla VIII.5. Resultados de los ANOVAS realizados para los parámetros químicos indicadores del deterioro, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	333
Tabla VIII.6. Resultados de los ANOVAS realizados para el contenido en aminos biógenas, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	334
Tabla VIII.7. Resultados de los ANOVAS realizados para las coordenadas de color, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	334

Tabla VIII.8. Resultados de los ANOVAS realizados para los parámetros mecánicos, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	335
Tabla VIII.9. Resultados de los ANOVAS realizados para los recuentos microbiológicos de lubina fresca y de lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).....	335

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1. LA LUBINA

1.1. Generalidades

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 (figura I.1).



Figura I.1. 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, oscilando la mayoría de los ejemplares entre los 30 y 70 cm, 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 forman 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. 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 I.1). 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 I.1. Composición centesimal y valor nutricional de la lubina (valores promedio en 100 g de porción comestible).

<i>Composición centesimal</i>	
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
<i>Minerales (mg)</i>	
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).

1.3. 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.

1.4. 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 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 de 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 2006 se situó en 103.427 Tm, siendo este valor un 32,2% superior a la cifra del 2005. En la actualidad, los principales países productores de lubina son Grecia,

Turquía, Italia, España y Francia; existiendo producciones menores en Portugal, Chipre, Croacia, Egipto, Malta, Túnez y Marruecos, y producciones incipientes en Bosnia y Yugoslavia.

Aunque se continúa descargando en los puertos pesqueros del Mediterráneo y Atlántico lubina procedente de la pesca extractiva, 9.568 Tm en 2005, su volumen permanece constante, mientras que la lubina de crianza supone ya más del 89% del total.

Tal y como se observa en la figura I.2, el precio en el mercado de la lubina ha sufrido ciertas oscilaciones en los últimos años. Hay que destacar la caída de precios producida entre los años 2000-2003, debida a los excedentes de la producción acuícola. En los últimos años, la lubina ha vuelto a alcanzar en el mercado precios similares a los presentados a finales de los 90.

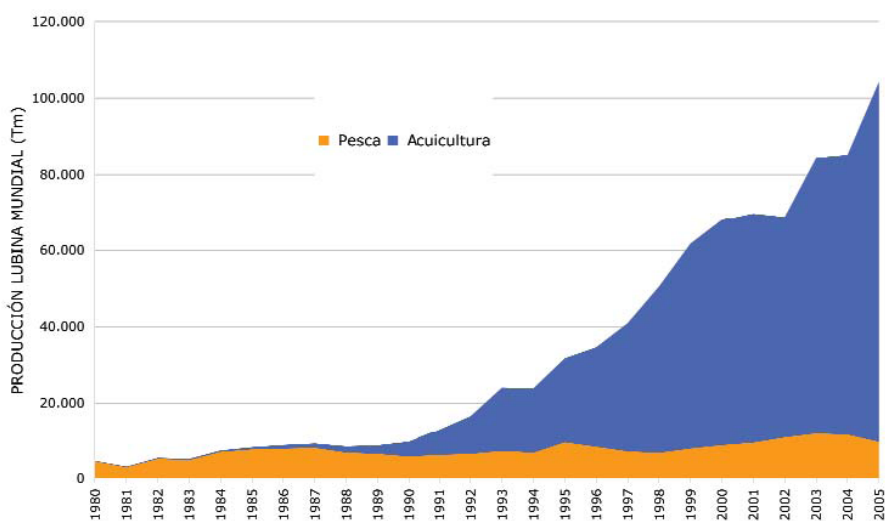


Figura I.2. Evolución de las fuentes de obtención de lubina en Europa. Datos de la producción acuícola y de pesca extractiva para el periodo 1980-2005. Fuente: Apromar, 2007.

El aumento en la oferta acuícola, ha provocado la caída en el precio medio en primera venta de la lubina procedente de piscifactoría (figura I.3). El precio medio en 2006 (ponderado para todas las tallas) se situó en 4,55 €/Kg, lo que supuso un valor total en primera venta de 439 millones de euros.

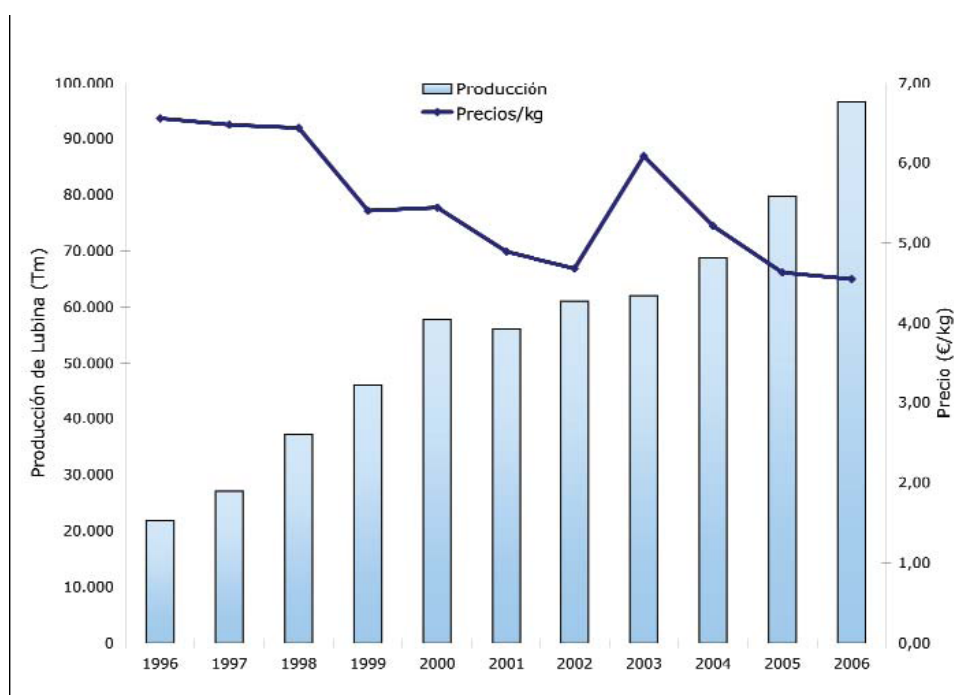


Figura I.3. Evolución de la producción de acuicultura y precios medios de lubina en Europa para el periodo 1996-2006. Fuente: Apromar, 2007.

2. 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.

2.1. El procesado de pescado como método de conservación

2.1.1. Salado

El salado de pescado como método de conservación y posterior consumo humano, se realiza desde hace más de miles de años (Martínez-Álvarez, 2002, Martínez-Álvarez y Gómez-Guillen, 2005; Pedro *et al.*, 2002, Zugarramurdi y Lupín, 1980). En el proceso de salado, la incorporación de sal al músculo de pescado, bien mediante la adición sal sólida o por inmersión en una salmuera, produce la reducción del contenido en humedad y el aumento de la concentración de sal, provocando el descenso de la actividad del agua. Cuando se alcanzan valores de actividad de agua inferiores a los mínimos necesarios para el crecimiento de los microorganismos, se inhibe el crecimiento microbiano.

El salado del pescado puede ser de menor o mayor intensidad, pudiendo alcanzar en el caso de los salados más intensos, contenidos de sal del 20% (g NaCl/100 g pescado); de esta forma, se consigue conservar el pescado prácticamente inalterable a temperatura ambiente durante un periodo

prolongado de tiempo. Un claro ejemplo de este tipo de salado, es el bacalao que se comercializa salado.

Los procedimientos de salado empleados en el salazonado de pescado se pueden clasificar en dos grandes grupos, dependiendo de la forma en la que la sal es adicionada al pescado, distinguiéndose entre el salado en seco o salado con salmuera.

Salazón en seco

Curado fuerte o intenso

Este tipo de salado requiere de una elevada cantidad de sal, y para llevarlo a cabo se disponen capas alternativas de sal y pescado, permitiendo que la salmuera que se forma durante el proceso se vaya eliminando, siendo en muchas ocasiones necesaria, de nuevo, la adición de sal. Por regla general, el pescado magro de tamaño grande se eviscera y abre hasta el último tercio de la espina central, para luego ser salado en capas durante varios días y casi cada semana, se rehace la pila y se resala durante un periodo aproximado de un mes. El producto final obtenido puede tener algo más de un 50% de agua y alrededor del 18% de sal, lo que implica la saturación de la fase acuosa del producto.

Incluso bajo estas condiciones tan estrictas, el pescado salado no se conserva bien a temperaturas superiores a 10 °C, ya que pueden crecer bacterias halofílicas causantes de coloraciones rojizas en la superficie (pink) y de olores extraños. Para conseguir que el producto sea más estable debe rebajarse el contenido de humedad, hasta valores por debajo del 50%.

El inconveniente de este método de salado es que no garantiza salazones regulares y homogéneos, pues los flancos de los peces se salan más intensamente que el lomo y es inevitable que diferentes ejemplares o, incluso, partes del mismo pez resulten con distintos contenidos en sal.

Curado ligero o de Gaspé

El curado ligero requiere una cantidad de sal menor, aproximadamente 8-10 kg por 100 kg de pescado, oscilando la concentración de sal en la fase líquida del producto final entre el 12 y el 20% (g NaCl/100 g de fase líquida).

Para llevar a cabo este procedimiento de salado, se forman pilas de capas sucesivas de sal y de pescado, en recipientes que impiden la pérdida de la salmuera que se va formando a medida que el líquido tisular sale del músculo y disuelve la sal adicionada. Durante el proceso, puede añadirse más sal o salmuera para que el pescado quede sumergido en el medio y, en algunos casos, se colocan pesas en la parte superior de la pila, con el fin de que las capas superficiales de pescado queden completamente sumergidas en la salmuera formada. Muchas de las especies que se salan por este sistema son grasas, ya que con este procedimiento se consigue excluir el oxígeno, evitando que se produzcan posibles enranciamientos. Cuando el pescado es grande puede ser descabezado y eviscerado, o al menos desprovisto de agallas, sin embargo en las especies pequeñas, el pescado suele salarse entero (Ordóñez, 1998).

Los productos curados de tipo Gaspé son amarillentos cuando se sacan de la salmuera y el producto final se caracteriza por su carne traslúcida de color ámbar característico. Estas propiedades los diferencian de los productos intensamente curados, que normalmente son blanco-grisáceos antes de su desecación y que después de ésta son muy blancos, debido a la delgada capa de sal existente en la superficie, siendo la carne subyacente opaca y de color amarillo pajizo (Burgess *et al.*, 1987).

Salado con salmuera

El salado con salmuera se emplea principalmente en pescados grasos, con el fin de evitar el contacto de éstos con el aire, y así prevenir su enranciamiento durante y después del procesado.

Para realizar este procedimiento de salado, el pescado se sumerge en una salmuera. Periódicamente, la salmuera ha de ser sustituida, ya que el pescado capta sal de ella y libera agua de sus tejidos y, en consecuencia, la concentración de sal en ésta se va diluyendo (MAPA, 2007). La concentración de sal en la salmuera y el tiempo durante el cual el pescado está sumergido en ella, son factores a controlar, y dependen principalmente del tipo de pescado y el tamaño de las piezas, incidiendo éstos parámetros de manera importante sobre la calidad del producto final. Así, cuando la concentración de sal es inferior al 12% (g sal/100g salmuera), el pescado solamente capta sal de la salmuera, mientras que a partir de concentraciones superiores al 12% además de tomar sal, el pescado pierde agua.

La velocidad de difusión de la sal hacia el interior del músculo y la salida de agua desde los tejidos, es proporcional al gradiente de concentraciones entre la superficie y el punto del pescado más lejano del medio de salado. Es por ello, que cuanto más fuerte sea la salmuera, más rápida será la penetración de sal y la consecuente reducción de la a_w , llegando antes a valores suficientemente bajos para ayudar a la conservación del producto (Horner, 2001).

La principal ventaja del salado con salmuera radica en que se consiguen salados más eficaces y homogéneas, siendo especialmente recomendable, tal y cómo se ha comentado anteriormente, para el salado de pescados con alto contenido graso.

Como se ha comentado anteriormente, durante el proceso de salado se producen dos fenómenos de transferencia de materia, la ganancia de sal y la pérdida de agua por parte del músculo del pescado. Estos flujos se ven afectados por diferentes factores:

- ✓ Contenido graso del pescado, ya que al aumentar éste los fenómenos de transferencia de sal y agua se ralentizan.

- ✓ Frescura de la carne del pescado, ya que cuanto menor sea la frescura más rápida será la captación de sal y mayor la pérdida de peso.
- ✓ Grosor de la pieza empleada, debido a que las piezas grandes requieren un mayor tiempo para alcanzar la concentración de sal deseada.
- ✓ Temperatura de procesado, de forma que el salado se acelera al aumentar la temperatura. Este factor presenta una limitación importante debido a que el aumento de temperatura favorece el crecimiento microbiano y, por tanto, las alteraciones que aparecen como consecuencia de la actividad microbiana.
- ✓ Pureza de la sal empleada, ya que la sal común contiene siempre una cierta proporción de impurezas, que pueden ralentizar la penetración de la sal en la carne. Estas impurezas suelen ser cloruros y sulfatos de calcio y magnesio.

El proceso de salado confiere al pescado ciertas características sensoriales que son altamente apreciadas por el consumidor. El salado aporta una mayor firmeza a la textura del pescado, proporciona un cierto aroma y ayudar a realzar los aromas de otros orígenes, inhibe el desarrollo de microorganismos y, por último, prepara al pescado para operaciones posteriores como sucede en el caso del proceso de ahumado, donde favorece la absorción de las sustancias procedentes del humo.

Sin embargo, desde el punto de vista nutricional, el consumo de productos salados supone un problema para un determinado sector de la población. La sal constituye la principal fuente de sodio en la dieta, excediendo la ingesta de sodio las recomendaciones nutricionales en la mayoría de los países industrializados. Esta ingesta excesiva ha sido directamente relacionada con enfermedades como la hipertensión (Law *et al.*, 1991), la cual aumenta el riesgo de infarto y muerte prematura por enfermedades cardiovasculares. El efecto negativo del exceso de sal sobre la salud y el creciente interés de los consumidores por todos aquellos aspectos saludables de la dieta, ha provocado el aumento en la demanda de productos con bajo contenido en sodio. Así, el

desarrollo de este tipo de productos se ha convertido en uno de los objetivos de la industria de procesado de alimentos.

2.1.2. Ahumado

El ahumado otra de las formas más antiguas de conservación del pescado. Cuando los pescadores se encontraban con un exceso de capturas que no podían secar al sol, por las características climáticas del momento (tiempo nublado y lluvioso), encendían hogueras cuyo principal objetivo era deshidratar el pescado. Indirectamente, los productos de la pesca adquirirían, mediante este proceso, un sabor y características especiales, como resultado de la desecación y de la acción del humo. En la actualidad, el ahumado más que un sistema de conservación se ha convertido en un proceso por el que se incorporan al pescado unos aromas altamente valorados por el consumidor, constituyendo las industrias de ahumado un 30% del sector de transformación de la pesca marina.

En cuanto al aroma y sabor del pescado, tanto los componentes del humo, como la sal y los procesos de desnaturalización de proteínas, hacen que el pescado ahumado adquiera unas características particulares y consigue también que este tipo de productos presente un brillo muy atractivo. Hay que destacar también que la calidad de la materia prima y la elección de las técnicas de ahumado son las que determinan en mayor medida la calidad final.

El efecto conservante del ahumado se debe a la combinación de los siguientes factores:

- ✓ Deshidratación superficial, lo que origina una barrera física al paso de los microorganismos y un ambiente hostil para cualquier proliferación microbiana aerobia.
- ✓ Salado, que reduce la a_w y por tanto inhibe el crecimiento de muchos microorganismos patógenos y responsables del deterioro (aunque se requiere una reducción inferior a 0,95 para que el efecto sea significativo, y a

este nivel de salinidad puede ser demasiado elevada, alrededor del 5%, para el gusto del consumidor).

- ✓ Deposición de sustancias antioxidantes fenólicas, que retrasan la autooxidación lipídica (y la rancidez) de los lípidos del pescado generalmente insaturados
- ✓ Deposición de sustancias antimicrobianas tales como fenoles, formaldehído y nitritos (Horner, 2001).

2.1.2.1. Aspectos toxicológicos del proceso de ahumado

El humo, además de favorecer la conservación del alimento y conferirle un aroma, sabor y color característicos, presenta algunos aspectos negativos a nivel toxicológico y nutricional (Escriche, 1992), como son la contaminación por los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y la degradación de aminoácidos.

Debido a la enorme preocupación que suscitó el hecho de que los productos ahumados podían contener compuestos con actividad mutagénica y/o cancerígena, se ha prestado mucha atención a la determinación de HAP en alimentos ahumados, especialmente al 3,4-benzo(a)pireno (Guillén *et al.*, 1996). La formación de HAP se produce como consecuencia de la combustión incompleta de la materia orgánica. A altas temperaturas los compuestos orgánicos (glúcidos, lípidos, ácidos grasos) se rompen en moléculas menores e inestables; estos fragmentos son, en su mayoría, radicales que se combinan formando moléculas mayores estables, como los HAP. De los 30 identificados en el humo, solo algunos son cancerígenos, dependiendo dicha actividad de su estructura molecular (Escriche, 1992).

Sin embargo, hoy se sabe que no son los alimentos ahumados los que mayores concentraciones HAP presentan y que, según demostró Huidobro *et al.* (1998) se puede evitar su formación si se tienen en cuenta ciertas consideraciones:

- ✓ Utilización de maderas duras, que producen menos HAP que las blandas y las resinosas.
- ✓ Control de la temperatura de combustión de la madera, la cual debe estar comprendida entre 300 y 400 °C, ya que por debajo de 400 °C no se forman HAP.
- ✓ Filtración del humo, ya que dependiendo del tipo de generador utilizado se puede filtrar el humo con el objeto de eliminar partículas de alquitrán y algunos componentes nocivos.

Además, la sustitución del ahumado tradicional por el empleo de aromas de humo todavía reduce más este riesgo, aunque algunos autores han detectado recientemente la presencia de HAP en algunos aromas comerciales de humo en concentraciones superiores a las permitidas (Guillén *et al.*, 1996).

2.1.2.2. Tipos de ahumado

a) El ahumado tradicional

El principio original de este tipo de ahumado consiste en exponer el pescado fresco, ligeramente salado, a la acción del humo obtenido mediante combustión lenta de madera en trozos, viruta y/o serrín. La temperatura del humo contribuye al secado y algunos productos del mismo se impregnan en el pescado impartándole su sabor y color característicos. Según la temperatura de ahumado, los métodos tradicionales se pueden clasificar en dos tipos, el ahumado en frío y el ahumado en caliente.

- ✓ **Ahumado en frío:** en este tipo de procesado las temperaturas no sobrepasan los 30 °C y su duración oscila desde varios días hasta incluso semanas. Los pescados ahumados en frío se conservan durante un periodo más largo si se someten a salazones muy intensas y se exponen durante más tiempo a la acción del humo. Este tipo de ahumado es muy aromático y da origen a la presencia de sustancias conservadoras en el pescado.
- ✓ **Ahumado en caliente:** aunque las diversas operaciones practicadas en este tipo de ahumado son semejantes a las del ahumado en frío, se trabaja

con parámetros diferentes de tiempo y temperatura. La temperatura puede llegar a los 80 °C, por lo que finalmente se obtiene un producto con un cierto grado de cocción, y el proceso, por lo general, dura de 30 a 60 minutos. En este caso, se puede producir una desnaturalización de proteínas por la acción del calor, con la consiguiente pérdida de parte de su valor nutritivo. Además, algunos de los compuestos con efecto conservante se pierden al transformarse en CO₂ y H₂O, como consecuencia de la temperatura más alta.

En ambos métodos se practican diversas técnicas de manipulación, salado, producción y aporte de humo, calentamiento, enfriamiento y envasado, cuyos parámetros varían en función de la especie de pescado y de las características propias del producto final (Guillén *et al.*, 1996).

Para realizar cualquiera de los dos tipos de ahumado citados anteriormente, se puede emplear el ahumador tradicional o el ahumador mecánico. El ahumador tradicional es una simple chimenea en la que se cuelga el pescado sobre una hoguera de serrín, que arde lentamente a fin de producir humo, pero no fuego, aunque también puede ser una cámara a la que se transfiere el humo producido en el horno localizado cerca de la misma. Estos equipos presentan serios problemas, ya que es difícil el control, el humo puede desviarse, el fuego puede avivarse inesperadamente y el secado es finalmente muy irregular.

Para resolver esta situación, se recurre al ahumador mecánico, en el que el humo se obtiene colocando serrín de madera dura sobre virutas de madera blanda. El humo es conducido por medio de una serie de conductos y se va mezclando con aire. La temperatura se controla por medio de calentadores eléctricos o de vapor, y la humedad se puede controlar ajustando el aire que entra al horno. Este mayor control del proceso permite la obtención de productos de calidad más uniforme (Neave, 1986).

b) El ahumado con aromas de humo

En los últimos años, el ahumado de alimentos de forma tradicional está siendo sustituido por el empleo de aromas de humo, ya que tiene un ámbito de aplicación mucho más amplio.

Se define el aroma de humo como el extracto de humo utilizado en los procedimientos tradicionales de ahumado de los productos alimenticios. Los aromas de humo, tal y como los entiende la industria alimentaria engloban los denominados extractos de humo, preparaciones aromáticas de humo condensados de humo y/o humos líquidos. (Guillén *et al.*, 1996).

El humo líquido suprime los inconvenientes del ahumado tradicional, ya sean en el ámbito higiénico (generación de compuestos nocivos como los benzopirenos y contaminación atmosférica), en el ámbito práctico (riesgos de incendio, equipos difíciles de limpiar debido a la presencia de alquitranes y volúmenes importantes de almacenamiento de serrín o virutas) o en el ámbito económico (menores tiempos de ahumado y de costes de producción). Las principales ventajas del empleo de humo líquido son los mínimos costes de instalación y de funcionamiento, la reducción del tiempo de ahumado y que esta técnica permite obtener una coloración homogénea e uniforme en el producto final.

Básicamente, los compuestos generados en la combustión de la madera pueden procesarse de dos modos diferentes, bien por simple condensación del humo, dando lugar a un condensado del que se elimina el alquitrán y los HAP, o bien por retención de los componentes del humo en soportes físicos que luego se emplearán en la elaboración del alimento ahumado. Como soportes líquidos se emplea agua, aceite, vinagre y soluciones hidroalcohólicas, etc., y como soportes sólidos se emplean azúcares, almidones, dextrinas, goma arábiga, especias, sales, hidrolizados de proteínas y sistemas coloidales como gelatinas.

No todos los componentes del humo interaccionan con la misma intensidad con los distintos soportes empleados, no quedando retenidos en la misma proporción, por lo que las preparaciones aromáticas obtenidas de un

mismo humo pero con distinto soporte, presentarán perfiles aromáticos distintos si la naturaleza de estos soportes es muy diferente (Guillén *et al.*, 1996).

Se pueden encontrar diferentes formas de presentación del humo líquido, entre las que destacan las siguientes:

- ✓ **Humo líquido acuoso.** Consiste en un condensado acuoso de humo envejecido y filtrado para eliminar breas y material particulado. Puede emplearse directamente o diluido en aplicaciones que requieran bajas concentraciones. Debido a su elevada acidez suele emplearse en productos tales como salsas, adobos y escabeches.
- ✓ **Humo líquido soportado sobre aceite vegetal.** Es elaborado a partir de la mezcla de humo acuoso en aceites vegetales y suele tratarse de un producto menos ácido que el humo acuoso, y posee un sutil aroma a humo. Se aplica principalmente en embutidos secos, alimentos enlatados y aperitivos.
- ✓ **Condensados de humo o "superhumos".** Son aromas de humo líquido altamente concentrados por lo que se emplean a muy bajas concentraciones. Suelen aplicarse mediante pulverización, aportando un color más oscuro y estable al alimento tratado y un aroma de humo más profundo.
- ✓ **Preparaciones aromáticas de humo sólidas.** Son las obtenidas reteniendo el humo líquido acuoso en una amplia variedad de soportes sólidos pulverulentos. Este tipo de preparaciones, por su presentación, son adecuadas para la elaboración de mezclas de condimentos, sopas y emulsiones cárnicas.
- ✓ **Aromas de humo solubles.** Esta forma de presentación es adecuada para conseguir una dispensación inmediata del aroma en el alimento, y para favorecerla generalmente llevan incorporados emulsionantes.
- ✓ **Aromas de humo acuosos tamponados.** Son aromas de humo acuosos parcialmente neutralizados o tamponados para alcanzar un pH superior a 4,0. Se suelen emplear para aromatizar alimentos sometidos a curado y

pueden añadirse a la salmuera de curado, que es inyectada en el producto, o bien es empleada para remojar o sumergir el alimento.

La aplicación de estos aromas en los alimentos puede ser de diversas formas:

- ✓ ***Adición a la mezcla.*** El aroma se añade en dosis variables a la mezcla de los ingredientes empleados en la elaboración del alimento. Se añade normalmente a la masa durante la fabricación de los productos picados, como salchichas tipo Frankfurt y salchichones secos tipo salami. Esta adición directa permite una distribución homogénea del aroma en la masa del alimento.
- ✓ ***Inyección.*** El aroma de humo se puede añadir a la salmuera de inyección en dosis variables. Este método se emplea cuando no se requiere un tratamiento de la superficie del alimento. Permite también una distribución homogénea del aroma y, por tanto, un sabor uniforme y perfectamente reproducible. Esta técnica se emplea en piezas grandes como jamones y paletillas.
- ✓ ***Remojo o inmersión.*** Este método consiste en sumergir los productos a ahumar en una disolución de aroma de humo durante un tiempo variable, de 5 a 60 segundos. Esta técnica se aplica generalmente a jamones, paletillas y salchichas, y parece ser que los productos así tratados presentan un conjunto satisfactorio de propiedades organolépticas.
- ✓ ***Pulverización.*** Es la técnica de aplicación más reciente, donde el aroma de humo es pulverizado en forma de aerosol, en un túnel por el cual circulan los productos a ahumar como salchichas y jamones. Con esta pulverización se obtienen resultados muy buenos por el sabor y la coloración que adquieren los alimentos.
- ✓ ***Ahumado de tripas y de envases.*** Este método consiste en la inmersión de tripas en aromas líquidos o la pulverización de los envases. Una vez

impregnado el envase, parte de los componentes aromáticos pasarán posteriormente al alimento una vez envasado.

Los métodos de inmersión y pulverización de los alimentos, así como los de ahumado de tripas y envases, constituyen principalmente formas de tratamiento de la superficie del alimento. Los componentes del humo quedan adheridos a la superficie del mismo en mayor o menor grado, dependiendo de la naturaleza de éste.

El ahumado mediante aromas de humo tiene una serie de ventajas si se compara con el ahumado tradicional.

Ventajas relativas al propio procedimiento:

- ✓ El empleo de aromas de humo supone un ahorro de costes, debido a que no es necesaria la inversión en generadores de humo y en instalaciones. A su vez, se ve favorecida la higiene del proceso y los tiempos de manufactura.
- ✓ Se contribuye a una menor contaminación ambiental. Al emplear aromas de humo obtenidos por condensación o retención de los componentes de humo en soportes, se reducen las emisiones de humo al ambiente, que suelen producirse habitualmente en otros procedimientos de ahumado, si no se disponen de elementos de eliminación de humos residuales.
- ✓ La aplicación de los aromas de humo al alimento es muy versátil y la posibilidad de combinar los diferentes procedimientos de ahumado permite obtener las cualidades organolépticas de color, olor y sabor deseadas.

Ventajas relativas al control de las sustancias que se incorporan al alimento:

- ✓ Es posible obtener preparados aromáticos de humo muy uniformes, los cuales proporcionan a los productos un aroma y un color muy homogéneo.
- ✓ La preparación aromática se incorpora al alimento de un modo directo, uniforme y controlado, pudiéndose evitar en alguno de los procedimientos

una mayor concentración de compuestos aromáticos del humo en la superficie que en el interior.

- ✓ Se puede realizar el control de la cantidad de compuestos aromáticos que recibe el alimento y, por lo tanto, es posible intensificar el aroma del mismo de forma sencilla.
- ✓ Las preparaciones aromáticas de humo se pueden obtener libres de compuestos perjudiciales, por lo tanto su empleo puede eliminar la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos cancerígenos, indeseables en los productos ahumados, a veces difíciles de evitar en otros tipos de ahumado.

Otras ventajas:

- ✓ La gran diversidad existente de aromas de humo en lo relativo a la preparación y presentación, permite su aplicación a una gran variedad de alimentos que tradicionalmente no se ahumaban.
- ✓ Al igual que el ahumado tradicional, contribuye a la conservación del alimento por la acción antioxidante y antibacteriana de estas preparaciones. En este sentido, el humo líquido tiene la misma capacidad conservadora que el humo natural, además de poder presentar su mismo perfil aromático u otros muy diferentes según su forma de elaboración (Guillén *et al.*, 1996).

2.2. Almacenamiento en refrigeración

La conservación de los alimentos en condiciones de refrigeración se refiere, generalmente al almacenamiento a temperaturas superiores a las de congelación, desde unos 16 °C hasta -2 °C (Potter, 1986). Mientras que el agua pura congela a 0 °C, la inmensa mayoría de los alimentos no empiezan a congelar hasta que se alcanza una temperatura de aproximadamente -2 °C o inferior. La vida útil en almacenamiento refrigerado puede variar entre unos días a varias semanas, dependiendo del tipo de alimento.

El efecto conservador de la refrigeración se basa en el hecho de que, al reducir la temperatura disminuye la velocidad de las reacciones químicas y

crecimiento de los microorganismos. La temperatura de refrigeración apropiada, es generalmente inferior a la temperatura mínima de crecimiento de la mayoría de los microorganismos productores de intoxicaciones alimentarias, aumentando también considerablemente el tiempo de generación de los microorganismos psicrófilos y psicrotrofos (Roberts *et al.*, 1981). Sin embargo, si su población inicial es alta, los alimentos refrigerados pueden alterarse en poco tiempo.

Debido a que las velocidades de crecimiento aumentan significativamente con un aumento de la temperatura de sólo unos grados, debe evitarse la variación de las temperaturas durante el almacenamiento.

2.3. 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).

2.3.1. Envasado a vacío

El pescado envasado a vacío permanece en buen estado ya que, al extraer el aire en su totalidad, se reduce el número de bacterias. La reducción de la presencia de oxígeno por sí misma, no implica la inhibición del crecimiento microbiano hasta que la concentración de oxígeno se sitúa por debajo del 1% y se mantiene a dicho nivel. Algunas alteraciones, no obstante, ocurrirán debido a organismos anaerobios y a reacciones no-oxidativas, aunque se minimizan normalmente por el almacenamiento refrigerado.

El pescado envasado a vacío con piel o en filetes, se mantiene jugoso durante su almacenamiento y no sufre pérdidas de peso por exudado. El pescado correctamente envasado a vacío se conserva en refrigeración hasta seis semanas; además este tipo de envasado permite la congelación del producto, aumentando de forma importante el periodo de conservación.

La principal preocupación con respecto al envasado a vacío de los alimentos marinos es la anaerobiosis, que puede favorecer el crecimiento de *Clostridium botulinum*, la cepa tóxica tipo E, para la cual la carne de pescado es un medio excelente de crecimiento. El inherente riesgo es significativamente mayor que en carne debido a la mayor incidencia de *Clostridium botulinum* en el ambiente marino (Bugueño, 1999; Huss, 1980). Al eliminarse el oxígeno del entorno atmosférico del producto, se crean condiciones favorables para su crecimiento, aunque la presencia de otros agentes oxidantes puede minimizar los efectos de las bajas concentraciones de oxígeno. Este riesgo, sin embargo es mayor en casos de temperaturas altas o en prolongados tiempos de conservación.

2.3.2. Envasado en atmósfera modificada

Se define como atmósfera modificada aquella en la que se modifican antes del almacenamiento, las concentraciones de oxígeno y dióxido de carbono, pero tras el envasado, estas concentraciones van a ir cambiando en función del tiempo, temperatura y permeabilidad del envase.

Los gases protectores, en combinación con el frío y un envase del material adecuado, pueden alargar mucho la vida útil de un alimento (Madrid *et al.*, 1994).

Dentro de este tipo, hay que diferenciar dos procedimientos de envasado diferentes:

- ✓ ***Barrido gaseoso.*** La purga de aire en el embalaje está asegurada por un barrido continuo de gas. El gas se inyecta en un tubo con la ayuda de una tubería de inyección justo antes de que el film sea cortado y termosellado, formándose los envases individuales con la atmósfera protectora en su interior.
- ✓ ***Vacío compensado.*** Se dispone de una máquina de formación de envases por calor a partir de un film continuo, que toma la forma deseada según el molde utilizado. Durante el envasado se llena el envase con el alimento correspondiente y se procede a su cierre con otra capa del film. Se produce el vacío en el envase, que se rompe por la inyección de una mezcla de gases, justo antes de soldar por calor el film superior.

Los gases protectores utilizados en el envasado de los alimentos son:

- ✓ Nitrógeno (N_2), que es un gas totalmente inerte, no reacciona con el producto y ayuda a conservar su calidad.
- ✓ Dióxido de carbono (CO_2), inhibe el desarrollo de los microorganismos y trabaja muy bien en combinación con el frío, ya que aumenta su solubilidad al descender la temperatura.
- ✓ Oxígeno (O_2), que en combinación con el N_2 y el CO_2 ayuda a mantener la frescura y el color de las carnes rojas y algunos pescados. A dosis altas puede producir el enranciamiento de la fracción grasa de los alimentos.

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).

3. ALTERACIÓN DEL PESCADO

3.1. Generalidades

Los alimentos contienen todas las sustancias químicas necesarias para mantener la vida y son susceptibles de cambios y degradaciones. Así pues, todo alimento tiene que estar libre de cualquier contaminación química o microbiana nociva en el momento de su consumo, por lo tanto, la higiene es el primer requisito a tener en cuenta en la manipulación, elaboración y conservación. Los alimentos, tanto naturales como procesados, constituyen auténticos ecosistemas que se encuentran sometidos a una serie de factores físicos, químicos, enzimáticos y microbiológicos, que provocan cambios en sus propiedades reológicas, organolépticas, valor nutritivo, apariencia e incluso en la inocuidad para los consumidores (Gould, 1992). Estos cambios se clasifican en varios grupos:

- ✓ Los factores físicos de deterioro de los alimentos incluyen la hidratación, deshidratación y la evaporación de compuestos volátiles.
- ✓ Los cambios químicos incluyen la oxidación de los ácidos grasos insaturados (rancidez oxidativa), la oxidación de pigmentos que provocan cambios de color del producto y las reacciones entre azúcares reductores y grupos amino (reacciones de Maillard), que originan decoloraciones y cambios de textura.
- ✓ Las principales alteraciones debidas a reacciones enzimáticas incluyen la rancidez lipolítica, causada por la acción de las lipasas sobre las grasas, la coagulación de las proteínas y la aparición de péptidos amargos por la acción de las proteasas, y la decoloración por la actividad de las polifenoloxidasas.
- ✓ La pérdida de la calidad microbiológica de un alimento puede deberse a la presencia o desarrollo de microorganismos productores de toxiinfecciones alimentarias (Gould, 1992), entre los que destacan *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* o *Clostridium botulinum*, todos ellos patógenos para el ser humano. Además los microorganismos, fundamentalmente las bacterias, son los responsables de alteraciones de los alimentos, tales como la producción de compuestos volátiles pestilentes, la putrefacción, etc.

Como consecuencia de todas estas alteraciones, se producen una serie de modificaciones en la calidad de los alimentos, tales como la degradación del aroma, el sabor, el color, la textura, su valor nutritivo y hasta la producción de compuestos tóxicos (Erikson, 1982; Fennema, 1993; Ofstad, 1995). Esta degradación puede verse afectada por diferentes variables:

- ✓ **Temperatura.** Es la más importante de estas variables, debido a su gran influencia en todos los tipos de reacciones químicas y en el crecimiento microbiano. En gran variedad de procesos, el uso de temperaturas adecuadas puede reducir la velocidad de deterioro de los alimentos.
- ✓ **Tiempo.** Es importante frente a las variaciones químicas y microbiológicas que se producen durante un determinado período de almacenamiento, y

también respecto a la forma en que estas variaciones se combinan para determinar la duración de la conservación del producto.

- ✓ **Actividad del agua.** Es una de las variables más importantes en el control de la velocidad de descomposición de los alimentos, siendo un factor decisivo en las reacciones enzimáticas, oxidación de lípidos, pardeamiento no enzimático, crecimiento microbiano, etc. La mayoría de las reacciones tienden a disminuir por debajo de un valor de actividad de agua correspondiente al margen medio de humedad en alimentos (0,75-0,85).
- ✓ **pH.** Influye sobre la velocidad de muchas reacciones químicas y enzimáticas, así como sobre el desarrollo de microorganismos. Por tanto, pequeñas variaciones de pH son capaces de producir profundas alteraciones en la calidad de algunos alimentos, pero son necesarios valores extremos de pH para inhibir el desarrollo microbiano o los procesos enzimáticos.
- ✓ **Composición del producto final.** Es un condicionante capital de su transformación química, siendo sumamente importante la relación entre la calidad de la materia prima y la del producto final. Así, por ejemplo, la forma en que se manipulan post-mortem los tejidos animales repercute en el alcance de la contaminación microbiana, etc., siendo capaz de modificar el tiempo de conservación, retención de agua, dureza, gusto y color.
- ✓ **Composición de la fase gaseosa del producto envasado.** Este aspecto es importante principalmente respecto a la disponibilidad de oxígeno como reactivo. Las consecuencias de una pequeña cantidad de oxígeno residual influyen a veces en el posterior comportamiento del producto.

3.2. Aspectos específicos de la alteración del pescado

El músculo del pescado recién capturado es un alimento altamente deseado por su sabor y alto valor nutritivo, sin embargo, el pescado fresco es extremadamente susceptible al deterioro. La vida comercial del pescado o de los productos elaborados a partir de éste, depende de múltiples factores, siendo uno de los más importantes la calidad inicial de la materia prima, el nivel

higiénico de las operaciones de manipulación y procesado, y el valor de actividad de agua del producto. También hay que considerar otros aspectos tales como la concentración de sal, el tipo de envasado y el lugar de almacenamiento, ya que son capaces de influir en la actividad del agua del producto. La calidad inicial o biológica está determinada por la madurez del pescado, el desove y la alimentación, aunque también puede verse afectada por el tamaño y la edad del pescado.

El pescado se altera como consecuencia del efecto de la combinación de reacciones químicas, continuando la actividad enzimática endógena, por el crecimiento de bacterias. La alteración del pescado almacenado y, por tanto la pérdida de calidad, puede ocasionar el desarrollo de olores y sabores desagradables, textura excesivamente blanda, pérdida de la capacidad de retención de agua, etc. El sabor y el aroma del pescado alterado están provocados por los productos metabólicos de los microorganismos, que utilizan los constituyentes solubles en agua de los tejidos para desarrollarse. Los cambios en la textura están relacionados con los cambios sufridos por las proteínas del músculo del pescado; solamente en las últimas etapas, cuando la alteración está muy avanzada, las proteínas son descompuestas por las proteinasas bacterianas, dando lugar a un conjunto de pequeños péptidos y aminoácidos libres. Entre los productos más significativos de la actividad bacteriana se incluyen ácidos grasos de cadena corta, aldehídos y cetonas, amonio, aminas y poliaminas biogénicas de los aminoácidos, y los sulfuros volátiles de los aminoácidos que contienen azufre (Bugueño, 1999).

3.3. Métodos de evaluación del deterioro

Tal y como se ha comentado anteriormente, los cambios *post-mortem* del pescado conducen a la aparición de olores, coloraciones y sabores anormales, junto con la acumulación de compuestos orgánicos, susceptibles de detectarse por métodos sensoriales y analíticos. Por ello, es de gran importancia conocer

los parámetros que permitan identificar estos compuestos, con el objeto de evaluar la frescura y calidad del pescado tanto fresco como procesado.

El desarrollo de métodos seguros para valorar el grado de deterioro del pescado, así como la evaluación de los criterios de calidad, ha sido durante muchos años la meta de las investigaciones sobre el pescado. Si bien se ha hecho un progreso significativo para desarrollar métodos rápidos y objetivos, se han necesitado muchas investigaciones para verificar si estos métodos son aplicables para la medida de la alteración en todo tipo de pescados y productos pesqueros.

Representantes de la industria pesquera, cadenas de supermercados y subastas de pescado, afirman que hay una necesidad urgente de encontrar métodos rápidos y seguros para evaluar la frescura del mismo. El análisis sensorial es el método más empleado, aunque las técnicas instrumentales rápidas son prometedoras para este fin. Otros métodos para evaluar la frescura del pescado son: la evaluación de cambios en lípidos y proteínas, la evaluación por métodos físicos (textura, microestructura, color, espectroscopía), análisis de compuestos volátiles, análisis de nucleótidos de adenosina y sus metabolitos y, por último, la evaluación del deterioro por métodos microbiológicos. En este sentido, se han propuesto diferentes parámetros o índices que permiten la evaluación de la frescura y calidad del pescado, utilizando diferentes métodos microbiológicos, sensoriales, químicos y físicos.

✓ **Métodos microbiológicos.** La finalidad del análisis microbiológico de los productos pesqueros es evaluar la presencia de bacterias u otros microorganismos de importancia para la salud pública, así como proporcionar información sobre la calidad higiénica del pescado. Los métodos microbiológicos son utilizados, tanto en inspecciones de pescado como en control de calidad, para asegurar que los productos pesqueros cumplen con la reglamentación estándar, tanto para patógenos como para otros tipos de microorganismos. La aplicación de estos métodos para evaluar la alteración

del pescado, es necesaria y se utiliza específicamente como parte de acuerdos comerciales entre productores y compradores.

- ✓ **Métodos sensoriales.** Los métodos sensoriales emplean los sentidos para evaluar características del pescado como su aspecto, textura, olor, color y sabor. Son de enorme importancia ya que constituyen los métodos más utilizados en la inspección diaria en lonjas, puertos y mercados.
- ✓ **Métodos químicos.** En la evolución de la frescura del pescado se utilizan además diferentes índices químicos, como determinación de bases volátiles totales (BVT), trimetilamina (TMA), determinación del contenido aminas biógenas o la evaluación de la oxidación lipídica mediante el índice de peróxido o el índice del TBA.
- ✓ **Métodos físicos.** A su vez, como indicadores físicos de la frescura y calidad del pescado se pueden emplear diferentes métodos que permiten evaluar la textura, la capacidad de retención de agua y las propiedades dieléctricas del pescado.

Es importante destacar que ningún método aislado es suficiente para determinar la frescura y calidad del pescado, por lo que se aconseja realizar al menos dos pruebas, una para determinar su frescura y otra para el crecimiento microbiano.

I. Introducción

II. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO

II. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO

1. OBJETIVO

El objetivo general del presente trabajo fue desarrollar un producto de lubina ahumada con bajo contenido en sodio.

Con el fin de alcanzar este objetivo general se plantearon una serie de objetivos específicos, los cuales aparecen detallados en cada uno de los diferentes apartados que constituyen este trabajo.

2. PLAN DE TRABAJO

1. Revisión bibliográfica y de la legislación vigente relacionada con el producto objeto de este estudio.

2. Puesta a punto de la metodología analítica.

2.1. Métodos de análisis físico-químicos: contenido en humedad, lípidos, proteínas, cenizas, minerales, pH, actividad de agua, capacidad de retención de agua, cloruro sódico, ácidos grasos, aminoácidos libres, nitrógeno básico volátil total y nitrógeno de trimetilamina, oxidación lipídica y aminas biógenas.

2.2. Métodos de análisis instrumental de color.

2.3. Métodos de análisis mecánicos: ensayos de compresión, corte y doble compresión (TPA).

2.2. Métodos de análisis sensoriales.

2.3. Métodos de análisis microbiológicos: aerobios mesófilos, mohos y levaduras, enterobacterias, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sulfito-reductores, *Salmonella* spp., *Streptococcus faecalis*, Bacterias productoras de sulfhídrico.

3. Estudio fisico-químico del pescado fresco y de los productos de la pesca ahumados y marinado presentes en el mercado.
4. Estudio del proceso de salado de la lubina.
5. Estudio del efecto de la sustitución de sodio por potasio durante el salado de la lubina.
6. Selección y optimización de los parámetros de salado, ahumado y secado.
7. Estudio de la calidad fisico-química, microbiológica y sensorial de la lubina ahumada.
8. Análisis global de la factibilidad de los procesos estudiados y elaboración del informe final.

III. CARACTERIZACIÓN DE LUBINA FRESCA Y DE PRODUCTOS AHUMADOS

III. CARACTERIZACIÓN DE LUBINA FRESCA Y DE PRODUCTOS AHUMADOS

III.1. CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN DE LUBINAS (Dicentrarchus labrax L.) PROCEDENTES DE PISCIFACTORÍA Y PESCA EXTRACTIVA

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha observado cierta tendencia a aumentar el consumo de pescado como alternativa al consumo de carne y productos cárnicos. De hecho, durante los últimos cuatro decenios se estima que el consumo mundial per cápita de pescado ha aumentado desde 9,0 Kg en 1961 hasta aproximadamente 16,5 Kg en 2003. En el contexto de las recomendaciones dietéticas realizadas por diferentes organizaciones internacionales relacionadas con la salud, los productos de la pesca ocupan un lugar destacado cuando se pretende seguir una dieta equilibrada, alcanzar los requerimientos nutricionales y actuar sobre factores de riesgo de determinadas enfermedades.

En general, los pescados aportan proteínas de alto valor biológico, vitaminas hidrosolubles y liposolubles, elementos minerales esenciales y un contenido calórico relativamente bajo. El reducido contenido en grasa de muchas especies de pescado y los efectos beneficiosos de sus ácidos grasos poliinsaturados ω -3, presentes especialmente en los pescados azules, son otros de los atributos que hacen del pescado un alimento muy interesante en la dieta de la población. En este sentido, su papel es especialmente importante en los países desarrollados, donde el número de muertes por enfermedades cardiovasculares es elevado. Además, el efecto positivo de estos ácidos grasos en la prevalencia de la artritis reumatoide, diferentes tipos de cáncer, así como en el desarrollo de metástasis, ha sido demostrado (American Health Association, 2002).

La creciente importancia del pescado en la dieta, el crecimiento de la población mundial, la introducción del pescado en países que no habían sido tradicionalmente consumidores de productos pesqueros, así como el preocupante agotamiento de los caladeros pesqueros ha provocado que en la actualidad se busquen alternativas eficaces que permitan asegurar el suministro de pescado a la población. Es dentro de este contexto donde se posiciona la producción acuícola como una de las soluciones a la problemática del sector pesquero; de hecho, durante los últimos años, se ha registrado un importante incremento en la cantidad de pescado procedente de acuicultura destinado a consumo humano, estimándose que en 2004 el 43% del pescado destinado a la alimentación humana fue suministrado por el sector acuícola (FAO, 2004). Como consecuencia del aumento en la oferta de pescado procedente de piscifactoría, el precio del pescado de crianza ha experimentado una reducción importante. La reducción en los precios unido a sus excelentes características sensoriales, altamente apreciadas por el consumidor, ha provocado que el consumo de pescado procedente de piscifactoría haya aumentado de manera progresiva, durante los últimos 15 años.

Con el objeto de satisfacer esta creciente demanda, durante la última década, se han creado un gran número de piscifactorías. En las costas mediterráneas, el sector se ha especializado en especies de pescado de alto valor comercial, como la lubina y la dorada (Kyrana y Lougovois, 2002). El incremento de la producción anual de lubina y dorada (Kyrana *et al.*, 1997) y, como consecuencia, la reducción de su precio en el mercado, han popularizado estas especies entre el consumidor medio y las convierten, además, en una excelente materia prima para la industria de elaboración de productos derivados de la pesca. Paralelamente al aumento en el consumo y producción de pescado criado de manera intensiva, ha aumentado el interés por conocer si los pescados de crianza mantienen la calidad de los de origen salvaje.

La calidad del pescado es un complejo conjunto de caracteres donde se incluyen factores intrínsecos como la textura, composición química, color y

contenido en grasa (Fauconneau *et al.*, 1995), y que se ve afectada de una forma importante por factores extrínsecos como los procedimientos de manipulación previos y posteriores al sacrificio del animal (Dunajski, 1979; Gjerdrem, 1997). Los parámetros de calidad de los productos de la pesca, tal y como sucede con otros alimentos, dependen de factores relacionados con los procesos de producción o cría y varían de unos mercados a otros. Las características del ambiente acuático y la composición y calidad de la dieta son algunos de los factores que afectan, en mayor medida, al valor nutricional del pescado. De hecho, es conocido que las propiedades nutricionales y sensoriales del pescado están estrictamente influenciadas por factores intrínsecos (especie, tamaño y madurez sexual) y extrínsecos (fuente de nutrientes, época de captura, salinidad del agua y temperatura) (Børresen, 1992). Por ello, es importante conocer como afectan a su calidad las nuevas tendencias en la cría de pescado.

La composición y los atributos sensoriales difieren en general entre los pescados salvajes y de crianza (Børresen, 1992; Netteleton y Exler, 1992). La composición del músculo del pescado salvaje viene determinada por las condiciones medioambientales, principalmente debido a la disponibilidad de nutrientes. En los pescados criados en piscifactoría, la alimentación con dietas artificiales proporciona una amplia variedad de nutrientes, lo que determina no solo la velocidad de crecimiento del pescado, sino también la composición de su carne, en particular el contenido lipídico, el cual se ve cuantitativa y cualitativamente modificado (Izquierdo *et al.*, 2003). Respecto a las características sensoriales, diferentes estudios han mostrado que los consumidores prefieren el pescado procedente de pesca extractiva al de crianza debido a una calidad organoléptica superior y textura más firme, tal y como ha sido demostrado en el caso del salmón Atlántico (Sylvia *et al.*, 1995), pez gato punteado (Webster *et al.*, 1993) y dorada (Grigorakis *et al.*, 2003). Sin embargo, en otros estudios, el salmón procedente de piscifactoría fue calificado con el mismo nivel en apariencia, aroma, sabor y textura (Farmer *et al.*, 2000).

El pescado de piscifactoría suele tener una textura más blanda y sabor más suave que el pescado salvaje, lo que ha sido relacionado con diferencias en la estructura del músculo y en su composición centesimal (Periago *et al.*, 2005), así como en la composición de los compuestos del perfil aromático que imparten aromas característicos (Grigorakis *et al.*, 2003).

Por otro lado, los pescados procedentes de piscifactoría presentan una importante ventaja frente a los pescados de origen salvaje, ya que son producidos y sacrificados bajo unas condiciones controladas, por lo que los peligros asociados en algunas ocasiones al consumo de pescado podrían ser reducidos (Periago *et al.*, 2005).

2. OBJETIVO

El objetivo del presente capítulo fue evaluar la influencia del origen y modo de cría sobre la composición, valor nutricional y parámetros fisicoquímicos de la lubina (*Dicentrarchus labrax* L.).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima y preparación de la muestra

En el presente estudio se emplearon un total de 27 lubinas procedentes de 3 orígenes distintos (9 pescados de cada origen). Dos granjas suministraron el pescado de acuicultura, una de ellas ubicada en la Comunidad Valenciana (España) y la otra en Rio Achaia (Grecia), mientras que los especímenes salvajes fueron capturados en la costa mediterránea, en el área de Valencia (España).

Todo el pescado empleado en este estudio, independientemente de su procedencia, fue adquirido en el Mercado de Mayoristas de Valencia (MERCAVALENCIA) y trasladado de inmediato al laboratorio.

3.2. Determinaciones analíticas

Los reactivos empleados en las determinaciones analíticas fueron suministrados por dos casas comerciales: Panreac (Barcelona, España) y Merck (Darmstadt, Alemania). Los patrones utilizados en la determinación de ácidos grasos y aminoácidos libres fueron suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

3.2.1. Humedad

La determinación de humedad se realizó según el método de la AOAC 950.46 (1997).

Los pesasustancias con arena de mar y varilla de vidrio, se secaron en estufa (J.P. Selecta, S. A., Barcelona, España) a 103 ± 2 °C durante 24 horas. A continuación, se atemperaron en un desecador y se pesaron en una balanza analítica (m_0). Se añadieron 10 g de muestra triturada y se pesó de nuevo el pesasustancias con la arena, varilla y muestra (m_1). Con ayuda de la varilla de vidrio, se homogeneizó la muestra de lubina con la arena de mar, favoreciéndose la salida de agua del producto. Las muestras se mantuvieron en estufa a 103 ± 2 °C durante 24 h, periodo tras el cual, los pesasustancias se atemperaron en desecador y se tomó el peso de éstos (m_2). El porcentaje de humedad expresado en g de agua por 100 g de muestra, se calculó mediante la ecuación III.1.

$$\% \text{ humedad} = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} \cdot 100 \quad \text{III.1}$$

donde:

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

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

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

3.2.2. Lípidos

La determinación de grasa se realizó por extracción en Soxhlet con éter de petróleo según el método 991.36 de la AOAC (1997).

Se pesaron aproximadamente 10 g de muestra (m_0) en un pesasustancias, se homogeneizaron con arena de mar y se secaron hasta peso constante en estufa a 103 ± 2 °C. El contenido del pesasustancias se introdujo en un cartucho de extracción de celulosa Albet® 900 (Filalbet, Barcelona, España) de dimensiones 22 x 80 mm y se tapó con algodón hidrófilo. Este cartucho se colocó en la cámara de extracción del equipo Soxhlet, donde se adicionó éter de petróleo. El montaje del Soxhlet constaba de refrigerante acoplado a la cámara de extracción y ésta acoplada a un matraz esférico, previamente pesado (m_1), totalmente limpio y seco.

La materia grasa se extrajo durante 6 h, regulando la ebullición de forma que se produjera una sifonada cada cuatro minutos. El disolvente residual se eliminó con ayuda de un rotavapor y posteriormente en estufa a 103 ± 2 °C durante 30 min. A continuación, los matraces de enfriaron en un desecador hasta temperatura ambiente y se pesaron en balanza analítica (m_2).

El cálculo del porcentaje de grasa en la lubina se realizó mediante la ecuación III.2:

$$\% \text{grasa} = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \cdot 100 \quad \text{III.2}$$

donde:

m_0 = masa de la muestra (g).

m_1 = masa del matraz (g).

m_2 = masa del matraz con la grasa extraída (g).

3.2.3. Proteínas

La determinación de proteínas se realizó según el método Kjeldahl, tal y como se describe en el método 928.08 de la AOAC (1997). El análisis del

contenido en nitrógeno total basado en el método Kjeldahl, consta de tres etapas: digestión, destilación y valoración.

- *Digestión:* En un tubo Kjeldahl se introdujeron 0,5 g de muestra exactamente pesada y 3 g de catalizador compuesto por K_2SO_4 , $CuSO_4$ y Se (10:1:0,1). A continuación, se adicionaron 10 mL de H_2SO_4 (98% v/v) y 5 mL de H_2O_2 (30% v/v). Los tubos se introdujeron en una unidad de digestión Büchi B-426 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Suiza), donde se calentaron a 450 °C hasta digestión completa. Se consideró la digestión finalizada cuando la disolución contenida en el tubo adquirió una coloración verde esmeralda.

- *Destilación:* La disolución obtenida tras la digestión se diluyó en frío con 50 mL agua destilada y se llevó a una unidad de destilación semiautomática Büchi B-316, donde se añadió un exceso de hidróxido sódico 10 N y se destiló durante 4 min. El amoníaco liberado durante la destilación se recogió sobre 50 mL de una disolución de ácido bórico (4% p/v).

- *Valoración:* El amoníaco recogido sobre el ácido bórico se valoró con H_2SO_4 0,3 N en presencia del indicador Shiro T-Shiro (disolución de rojo de metilo al 0,2% y azul de metileno al 0,1% en alcohol etílico), hasta el viraje de la disolución desde verde (medio básico) a violeta (medio ácido).

Paralelamente se realizó un ensayo en blanco.

La cantidad de proteína se calculó mediante la ecuación III.3:

$$\% \text{ proteína} = \frac{(V_m - V_b) \cdot N_{H_2SO_4} \cdot f \cdot \text{Peq}_{N_2} \cdot 6,25}{m} \cdot 100 \quad \text{III.3}$$

donde:

V_m = volumen de ácido empleado en la valoración (L).

V_b = volumen de ácido empleado en el ensayo en blanco (L).

f = factor de la normalidad del ácido sulfúrico.

$N_{H_2SO_4}$ = normalidad del ácido sulfúrico.

$\text{Peq}_{N_2} = 14$.

m = masa de muestra (g).

3.2.4. Cenizas

La determinación del contenido de cenizas del pescado se realizó según el método 920.153 de la AOAC (1997).

Los crisoles de porcelana se introdujeron en el horno mufla (J.P. Selecta modelo 367 PE, Barcelona, España) a 550 °C durante aproximadamente 2 h, a continuación se enfriaron hasta temperatura ambiente en un desecador y se pesaron en balanza analítica (m_0). En cada crisol se introdujeron entre 0,5 y 1 g de muestra, tomando nuevamente el peso del crisol con la muestra (m_1). Posteriormente, se carbonizó la muestra en una placa calefactora, con el fin de eliminar toda la humedad del producto, y a continuación, los crisoles se introdujeron en el horno mufla a una temperatura de 550 °C durante 6 h. Los crisoles enfriados a temperatura ambiente en el desecador fueron de nuevo pesados (m_2).

El contenido en cenizas, expresado como g de cenizas por 100 g muestra, se calculó mediante la ecuación III.4:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \cdot 100 \quad \text{III.4}$$

donde:

m_0 = masa del crisol (g).

m_1 = masa del crisol con muestra antes de la calcinación (g).

m_2 = masa del crisol con cenizas (g).

3.2.5. Minerales

Se determinó el contenido en sodio, magnesio, calcio, potasio, hierro, cobre, manganeso y zinc. Para estas determinaciones se empleó el residuo obtenido tras la calcinación de las muestras, tal y como ha sido descrito en el apartado anterior. Este residuo seco se disolvió en 1 mL de HCl 35% (v/v), se filtró a través de papel de filtro Whatman nº 1 (Whatman International Ltd., Maidstone, UK), se aforó a 10 mL con agua destilada. Se realizaron diluciones hasta la concentración adecuada para cada mineral.

La determinación de todos los elementos minerales, excepto del fósforo, se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica utilizando un espectrofotómetro Perkin-Elmer 3100 (Norwalk, CT, USA). Las condiciones instrumentales utilizadas fueron las recomendadas por el fabricante del equipo.

Para la determinación del contenido en fósforo se empleó un método espectrofotométrico, basado en la reacción del fósforo presente en la muestra con molibdato de amonio (Escriche y Camacho, 1998). A partir de esta reacción se forma un complejo molibdo-fosfórico, que se reduce con cloruro estannoso, dando lugar a un compuesto de color azul. Finalmente, la densidad óptica de esta disolución fue leída con un espectrofotómetro CE-1020 (Cecil Instruments, Cambridge, UK) a una longitud de onda de 600 nm. Paralelamente a la preparación de las muestras, se realizó una recta de calibrado a partir de diferentes concentraciones de un patrón de fósforo.

3.2.6. pH

La determinación del pH se realizó midiendo el potencial desarrollado entre los electrodos utilizando un pHmetro Crison micropH 2001 (Crison Instruments S.A, Alella, Barcelona, España), con un electrodo combinado, previamente calibrado con las disoluciones de pH 7,00 y 4,00. Las medidas se realizaron por triplicado a una disolución de pescado:agua destilada (relación 1:10 p/v).

3.2.7. Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua (a_w) se determinó a partir de las muestras de lubina previamente trituradas. Para esta determinación se empleó un higrómetro de punto de rocío Aqualab[®] CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

3.2.8. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

Para la determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) se diseñaron especialmente unos tubos de centrifuga divididos en dos partes

(figura III.1). La zona de unión de cada tubo poseía un reborde donde se apoyaba una rejilla de sección circular. Se tomó el peso del tubo de centrifuga más la rejilla (m_1) sobre la que se colocó el papel de filtro, también de sección circular.

Se pesaron 1,5 g de muestra (m_2) que se colocaron sobre el filtro. Tras la centrifugación a 2000 rpm durante 10 min, se retiró la muestra y el papel de filtro, el tubo junto con la rejilla y el líquido extraído en la centrifugación fueron pesados de nuevo (m_3). Para determinar la cantidad de líquido absorbido por el filtro, éste fue pesado antes (m_4) y después de introducirlo en la estufa (103 ± 2 °C) durante 24 h, periodo tras el cual el filtro fue pesado de nuevo (m_5).

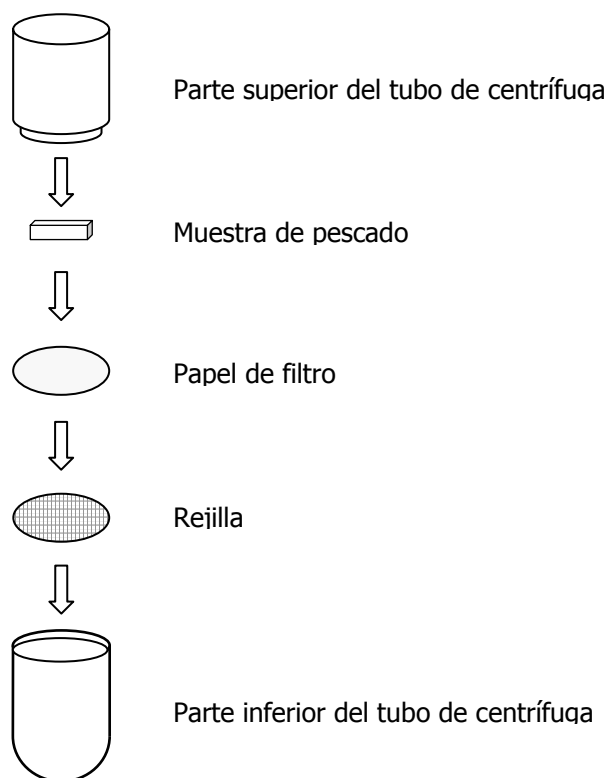


Figura III.1. Esquema del montaje del tubo de centrifuga utilizado en la determinación de la capacidad de retención de agua (CRA).

A partir de los pesos obtenidos, se calculó el valor de CRA (g H₂O retenida/100 g H₂O) de cada muestra aplicando la ecuación III.5

$$\text{CRA (g H}_2\text{O retenida/100 g H}_2\text{O)} = \left[1 - \left(\frac{m_3 - m_1 + m_4 - m_5}{m_2 \cdot H} \right) \right] \cdot 100 \quad \text{III.5}$$

donde:

m_1 = masa del tubo de centrifuga más la rejilla (g).

m_2 = masa de músculo de pescado (g).

m_3 = masa del tubo de centrifuga con la rejilla más el líquido liberado por la muestra después de la centrifugación (g).

m_4 = masa del filtro húmedo después de la centrifugación (g).

m_5 = masa del filtro después de ser secado en estufa (g).

H = contenido en humedad de la lubina (g H₂O/g lubina).

3.2.9. Nitrógeno básico volátil total (N-BVT)

La determinación del contenido en nitrógeno básico volátil total (N-BVT) se realizó mediante destilación por arrastre de vapor, según el método descrito por Malle y Tao (1987).

Para esta determinación se homogeneizaron en Ultra-Turrax T-25 (IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania) 40 g de lubina, previamente triturada, con 80 mL de una disolución acuosa de ácido tricloroacético (7,5% p/v) durante 1 min. Este homogeneizado se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min y el sobrenadante fue filtrado a través de papel de filtro Whatman nº 1, obteniéndose así el extracto de la muestra.

En un tubo de destilación tipo Kjeldahl, se introdujeron 25 mL del filtrado obtenido y 5 mL de una disolución acuosa de NaOH (10% p/v). Los tubos se llevaron a una unidad de destilación Büchi B-316 y el destilado fue recogido sobre 15 mL de una disolución acuosa de ácido bórico (4% p/v), hasta alcanzar un volumen final de 50 mL. Finalmente, la disolución obtenida se valoró con ácido sulfúrico 0,01 N, utilizando Shiro T-Shiro como indicador.

Paralelamente, se realizó un ensayo en blanco, el cual se preparó de igual forma que las muestras, pero donde los 25 mL del extracto de la muestra se sustituyeron por 25 mL de ácido tricloroacético (7,5% p/v).

La concentración de N-VBT (mg N/100 g muestra) se calculó a partir del volumen de ácido sulfúrico empleado en la valoración del destilado recogido, mediante la ecuación III.6.

$$\text{mg N / 100 g muestra} = \frac{N \cdot f \cdot (V_m - V_b) \cdot (80 + (m \cdot H)) \cdot 14}{m \cdot 25} \cdot 10^5 \quad \text{III.6}$$

donde:

N = normalidad del ácido sulfúrico.

f = factor de la normalidad del ácido sulfúrico

V_m = volumen de ácido sulfúrico empleado en la valoración de la muestra (L).

V_b = volumen de ácido sulfúrico empleado en la valoración del blanco (L).

m = masa de la muestra (g).

H = contenido en humedad de la lubina (g H₂O/g lubina).

3.2.10. Color

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

A partir de las coordenadas colorimétricas del sistema CIEL*a*b* (1976), L* (luminosidad), a* (desviación hacia el rojo y el verde) y b* (desviación hacia el amarillo y el azul), se calcularon las magnitudes psicofísicas de tono (h*_{ab}) y croma (C*_{ab}), mediante las ecuaciones III.7 y III.8.

$$h_{ab}^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad \text{III.7}$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{III.8}$$

3.2.11. Ensayos mecánicos

Para el estudio de las propiedades mecánicas de las distintas muestras de lubina se realizó un ensayo de corte y un ensayo de compresión. Para ambos ensayos se emplearon porciones de lubina de dimensiones 20 x 20 x 10 mm, obtenidas de la parte dorsal de cada filete. Las muestras fueron envueltas mediante un film plástico y se mantuvieron almacenadas en refrigeración (4 ± 1 °C) hasta el momento de análisis. Se seleccionaron muestras lo más homogéneas posible, ya que el tamaño y geometría de éstas tiene un efecto significativo en la medida instrumental de la textura (Veland y Torrisen, 1999).

Para ambos ensayos se empleó una prensa universal TA-XT2[®] (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK) equipada con una célula de carga de 250 N. Los datos instrumentales se procesaron empleando el programa Texture Exponent 32 v 1.0 (Stable Micro Systems).

a) Ensayo de compresión

En el ensayo de compresión, la prensa se equipó con un émbolo cilíndrico de 7,5 cm de diámetro y fondo plano. El equipo se programó para que presionara las muestras de lubina a una velocidad de 1 mm/s hasta que las piezas alcanzaran una deformación del 50% de su altura.

Los parámetros medidos en este análisis fueron la firmeza y el módulo de deformabilidad, obtenidos a partir de la fuerza máxima y de la pendiente de la curva de compresión, respectivamente (Orban *et al.*, 1997).

b) Ensayo de corte

Para el ensayo de corte se empleó una célula o cuchilla Warner-Brazler HDP/BS (Stable Micro Systems), penetrando a través de la muestra a una velocidad constante de 1 mm/s y cortando transversalmente las fibras musculares.

Las curvas fuerza-distancia obtenidas en este ensayo permitieron obtener los parámetros de fuerza máxima de corte (F_{\max}) y fuerza de fractura (F_{fractura}).

3.2.12. Análisis de ácidos grasos

La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). La extracción de la fracción lipídica se llevó a cabo según el procedimiento descrito por Folch *et al.* (1957), empleando una mezcla de cloroformo:metanol (2:1 v/v) con BHT (0,05% p/v). La transesterificación de los ácidos grasos presentes en la fracción lipídica extraída de la muestra, se llevó a cabo empleando una mezcla de metanol:ácido clorhídrico:dimetoxipropano (40:4:1,6 v/v/v).

Los metilésteres de los ácidos grasos se analizaron en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas Finnigan TRACE MS (TeramoQuest, Austin, USA). De cada uno de los extractos se inyectaron 2 μ L en una columna capilar DB-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m; JW Scientific INC., Folsom, CA, USA). El gas portador empleado fue helio (grado ultrapuro, 99,999%) a un flujo de 1 mL/min. La temperatura del inyector fue 220 °C; la temperatura del horno se programó desde 85 a 180 °C, siguiendo una rampa de temperatura de 5 °C/min, con un tiempo de estabilización inicial y final de 2 y 5 min, respectivamente, y a continuación aumentó hasta 240 °C a razón de 10 °C/min, manteniéndose esta temperatura durante 5 min. La temperatura de la interfase del MS fue 220 °C, la temperatura de la fuente de ionización fue de 200 °C y el voltaje de ionización 70 eV; el rango m/z fue 35-450 a 0,4 scan/s.

La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo mediante la comparación de los tiempos de retención y los espectros de masas de los compuestos desconocidos con patrones inyectados bajo las mismas condiciones. Las disoluciones de los patrones de los ácidos grasos fueron preparadas y derivatizadas siguiendo el mismo procedimiento descrito para las muestras. Las áreas de los picos de los patrones fueron utilizadas para la cuantificación mediante el método de patrón externo (Valcárcel-Cases y Gómez-Hens, 1994).

3.2.13. Análisis de aminoácidos libres

La determinación de aminoácidos libres se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con derivatización precolumna utilizando fenilisotiocianato (PITC).

La extracción de los aminoácidos libres se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito por Bugueño *et al.* (1999). Se homogeneizaron 10 g de pescado con 50 mL de ácido clorhídrico 0,1 M, durante 3 min empleando un Ultra-Turrax T-25, este homogenizado se centrifugó a 5000 rpm y 4 °C durante 10 min, y el sobrenadante obtenido se filtró a través de lana de vidrio. La desproteización se realizó mezclando 1 mL del sobrenadante filtrado con 2 mL de acetonitrilo, y centrifugando a 4500 rpm y 4 °C durante 10 min. A continuación 350 µL del sobrenadante se mezclaron con 20 µL de una disolución de α -ácido aminobutírico 1 mM (patrón interno) y se agitaron durante 30 s, de la disolución así obtenida se tomaron 50 µL para su derivatización.

En tubos de forma cónica se mezclaron los 50 µL del extracto de la muestra con 40 µL de una mezcla de etanol-agua-trietilamina (TEA) (2:2:1 v/v/v), y fueron secados a vacío a -40 °C en un liofilizador (Telstar Lioalfa-6, Terrassa, España) durante 40 min. La derivatización de las muestras se llevó a cabo adicionando 40 µL de una mezcla de etanol-agua-TEA-feniltioisocianato (PITC) (7:1:1:1 v/v/v) en los tubos que contenían las muestras, los cuales fueron sellados y mantenidos a temperatura ambiente durante 20 min antes de ser secados a vacío de nuevo. Tras la derivatización, el liofilizado fue diluido con 400 µL de fosfato sódico 4 mM (pH 7,4) con 5% acetonitrilo. Todas las muestras fueron filtradas a través de un filtro de membrana de nailon de 13 mm y 0,45 µm (Waters, Mildford, MA, USA)

Los aminoácidos derivatizados fueron analizados en un cromatógrafo líquido Waters LC Module I Plus (Waters, Mildford, MA, USA) de dos bombas (modelo W600), muestreador automático (modelo W715) y detector UV/Vis de longitud de onda variable (Modelo W486), conectado a un desgasificador de

membrana SpectraSystem SCM1000 (Termo Separation Products, San Jose, CA, USA). Los datos fueron recogidos, almacenados y analizados empleando el programa MILLENIUM software (Waters).

Las separaciones cromatográficas se realizaron con una columna Nova Pack C18 (3,9 x 150 mm y tamaño de partícula de 4 μm) (Waters) termostatada a 40 ± 1 °C.

El volumen de inyección fue igual a 20 μL y los cromatogramas fueron monitorizados a una longitud de onda de 254 nm.

Como fase móvil se utilizó un sistema binario de dos eluyentes:

- Fase móvil A: Sodio acetato 0,14 M con 0,5 mL/L de TEA. El pH de esta disolución se ajustó hasta un valor de 6,4 con ácido acético glacial. LA disolución final contenía un 6% de acetonitrilo.
- Fase móvil B: Acetonitrilo-agua 60:40 (v/v)

Ambas fases móviles fueron filtradas a través de una membrana de nailon 0,45 μm (Waters). El gradiente utilizado en el análisis se muestra en la tabla III.1.

Tabla III.1. Programación del gradiente de elución empleado en el análisis de aminoácidos libres.

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	Fase móvil	
		A%	B%
0	1,0	100	0
10,5	1,0	54	46
11,5	1,0	0	100
12,0	1,5	0	100
12,5	1,5	0	100
20,0	1,5	100	0
20,5	1,0	100	0
25,0	1,0	100	0

La identificación de los aminoácidos se llevó a cabo comparando los tiempos de retención correspondientes a los picos de los patrones con los picos obtenidos en el cromatograma de las muestras, y confirmados mediante el método de adición de patrón (Johnson y Stevenson, 1978). Las disoluciones de los patrones de los aminoácidos con el patrón interno se prepararon y derivatizaron siguiendo el mismo procedimiento descrito para las muestras.

La cuantificación se realizó mediante el método del patrón interno con rectas de calibrado obtenidas a partir de la representación de la relación de áreas (compuesto/patrón interno) frente a la relación de concentración (compuesto/patrón interno), bajo idénticas condiciones cromatográficas (Valcárcel-Cases y Gómez-Hens, 1994).

3.3. Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante el programa Statgraphics Plus v.5.1 (Manugistics, Rockville, MD, USA). Con el objetivo de comprobar la existencia de diferencias significativas entre los diferentes tipos de muestras para cada parámetro evaluado se llevó a cabo un análisis simple de la varianza (ANOVA). El procedimiento LSD (*least significant difference*) se utilizó para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Composición centesimal, contenido mineral y parámetros físico-químicos

En la tabla III.2 se muestran los valores promedio de la composición centesimal y contenido en minerales para las muestras de lubina procedentes de piscifactoría los dos orígenes estudiados (G: Grecia y E: España) y de lubina de pesca extractiva (S).

Tabla III.2. Composición centesimal y contenido mineral de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).

Composición centesimal (g/100 g)				
	G	E	S	α
Humedad	74,56 \pm 0,26 a	76,70 \pm 0,16 b	77,49 \pm 0,23 c	***
Lípidos	4,38 \pm 0,72 a	4,57 \pm 0,17 a	1,04 \pm 0,70 b	***
Proteínas	19,10 \pm 0,33 a	17,39 \pm 0,65 b	21,61 \pm 1,16 c	***
Cenizas	1,21 \pm 0,02 a	1,20 \pm 0,02 a	1,260 \pm 0,02 a	ns
Composición mineral				
Macroelementos (mg/g)				
Na	0,25 \pm 0,09 a	0,28 \pm 0,14 a	0,92 \pm 0,12 a	ns
Mg	0,11 \pm 0,02 a	0,26 \pm 0,09 a	0,12 \pm 0,02 a	ns
Ca	0,20 \pm 0,01 a	0,10 \pm 0,02 b	0,11 \pm 0,02 b	***
K	1,73 \pm 0,43 a	1,34 \pm 0,22 a	1,52 \pm 0,42 a	ns
P	0,37 \pm 0,05 a	0,29 \pm 0,01 a	0,37 \pm 0,22 a	ns
Microelementos (μg/g)				
Fe	1,10 \pm 0,23 a	1,73 \pm 0,53 a	1,64 \pm 0,56 a	ns
Cu	0,29 \pm 0,07 a	0,27 \pm 0,05 a	0,24 \pm 0,13 a	ns
Mn	0,08 \pm 0,02 a	0,06 \pm 0,02 ab	0,05 \pm 0,01 b	ns
Zn	2,34 \pm 0,47 a	1,68 \pm 0,42 ab	1,64 \pm 0,58 b	ns

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): ns: no significativo, *** $p < 0,001$.

En general, los valores obtenidos en la composición centesimal y contenido mineral en el caso de las lubinas procedentes de acuicultura fueron similares a los obtenidos por otros autores para esta misma especie criada en cautividad (Erkan y Özden, 2007; Kyrana y Lougovois, 2002).

Hay que destacar que las lubinas salvajes presentaron un mayor contenido en humedad y proteínas, y menor contenido en lípidos que las procedentes de piscifactoría. El hecho de que los pescados procedentes de

piscifactoría presenten contenidos en grasa mayores que sus homólogos salvajes, ha sido previamente observado tanto para lubina (Alasalvar *et al.*, 2001; Alasalvar *et al.*, 2002; Di Bella *et al.*, 1992; Orban *et al.*, 2002; Periago *et al.*, 2005), como para otras especies de pescado como dorada (Alasalvar *et al.*, 2001; Di Bella *et al.*, 1992; Grigorakis *et al.*, 2002; Grigorakis *et al.*, 2003; 2003; Kyrana *et al.*, 1997), salmón (Foran *et al.*, 2005; Johnston *et al.*, 2006; Montero *et al.*, 2003), trucha arco-iris (Nettleton y Exler, 1992) y perca amarilla (González *et al.*, 2006).

Las diferencias encontradas cuando se compara el contenido lipídico de individuos salvajes y de crianza de una misma especie son debidas a diferentes factores como la disponibilidad y tipo de alimentación, composición de la dieta (los piensos comerciales son, en general, ricos en grasas e incluyen también carbohidratos en su formulación), además los pescados de piscifactoría presentan un menor consumo de energía, mientras que los pescados salvajes sufren de algunos periodos de inanición (Haard, 1992) y presentan un mayor nivel de actividad (Grigorakis *et al.*, 2002).

En el pescado, el contenido en humedad y grasa están directamente relacionados, ya que constituyen en su conjunto aproximadamente el 80% del total de la composición del mismo (Belitz y Grosch, 1997). Así, un aumento en el contenido graso se produciría a expensas del contenido en agua, es decir, existe una correlación inversa entre el contenido en humedad y grasa. Esta correlación nos permitiría explicar el hecho de que el contenido en humedad de la lubina salvaje fuera significativamente superior a la humedad de la lubina de crianza.

Respecto al contenido proteico, hay que destacar la existencia de diferencias significativas entre los tres tipos de muestra. Tal y como se ha comentado anteriormente, el contenido proteico de las lubinas procedentes de pesca extractiva (21,61% p/p) fue superior al de las lubinas procedentes de piscifactoría, independientemente de su lugar de origen (Grecia: 19,10% y España: 17,39%, p/p). En ningún caso, las diferencias encontradas entre las

distintas muestras superaron el 4%, lo que coincide con los resultados presentados por Haard (1992). Existe cierta variabilidad entre los resultados dados en otros estudios, de forma que, mientras algunos autores no hallaron diferencias significativas respecto al contenido proteico, en función del tipo de cría (Alasalvar *et al.*, 2002; Grigorkis *et al.*, 2003; Orban *et al.*, 2002), otros autores encontraron que las lubinas cultivadas poseían un contenido en proteínas mayor que las lubinas salvajes (Periago *et al.*, 2005).

En cuanto a la composición mineral en el músculo de lubina, hay que destacar que no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes tipos de muestra, excepto en el caso del calcio, donde las lubinas procedentes de Grecia presentaron un contenido significativamente superior (0,20 mg/g muestra) al del resto de muestras estudiadas (tabla III.2). En general, los valores obtenidos para los tres tipos de muestra fueron del mismo orden que los obtenidos por otros autores para esta misma especie de pescado (Alasalvar *et al.*, 2002; Erkan y Özden 2007; Orban *et al.*, 2002; USDA, 2006).

Los minerales analizados fueron clasificados en macro y micro-elementos dependiendo de su abundancia, considerando macroelementos el Na, Mg, Ca, K y P, mientras que Fe, Cu, Mn y Zn se englobaban dentro del grupo de los microelementos. Todos ellos se encuentran dentro de los minerales considerados esenciales, cuyas principales funciones incluyen formar parte de la estructura esquelética, mantenimiento del sistema coloidal y regulación del equilibrio ácido-base. Los minerales también constituyen una parte importante de hormonas, enzimas, así como activadores de enzimas (Alasalvar *et al.*, 2002). Además, hay que destacar el efecto de los minerales sobre el sabor del pescado (González *et al.*, 2006); es por ello que la ausencia de diferencias entre las diferentes procedencias y modo de cría, no provocaría, desde este punto de vista, diferencias en el sabor de las diferentes muestras.

Respecto a los elementos mayoritarios o macroelementos, el potasio fue el elemento que presentó mayores concentraciones en todas las muestras, independientemente del tipo de cría y zona de origen, tal y como ha sido

observado por Erkan y Özden (2007) para esta misma especie de pescado. La concentración de potasio en las muestras de lubina osciló desde los 1,34 mg/g para la lubina criada en España hasta los 1,73 mg/g de la lubina de Grecia.

En relación a los elementos traza o microelementos, hay que destacar el hierro y zinc por ser los más abundantes. A pesar de la ausencia de diferencias significativas entre los diferentes tipos de muestra, algunos estudios han mostrado que la composición mineral del pescado está afectada por diferentes factores como la época del año, las diferencias biológicas (especie, tamaño, tipo de musculatura, edad, sexo y madurez sexual), tipo de alimentación y su entorno (composición del agua, salinidad, temperatura y contaminantes) (Alasalvar *et al.*, 2002).

Paralelamente al estudio de la composición química del músculo de lubina, se determinaron algunos parámetros fisico-químicos como pH, actividad de agua (a_w), capacidad de retención de agua (CRA) y contenido en nitrógeno básico volátil total (N-BVT) en los tres tipos de muestra. Los valores promedio de estas determinaciones se muestran en la tabla III.3.

Tabla III.3. Parámetros fisico-químicos de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). CRA: Capacidad de retención de agua (g H₂O retenida/100 g H₂O); N-BVT: Nitrógeno básico volátil total (mg N/100 g muestra). Valores promedio \pm SD (n=9).

	G	E	S	α
pH	6,15 \pm 0,03 a	6,12 \pm 0,01 a	6,36 \pm 0,02 b	***
a_w	0,988 \pm 0,002 a	0,990 \pm 0,001 a	0,990 \pm 0,001 a	ns
CRA	73,11 \pm 2,62 a	72,56 \pm 1,91 a	83,92 \pm 2,02 b	***
N-BVT	24,99 \pm 1,31 a	24,19 \pm 1,85 a	23,19 \pm 1,44 a	ns

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): n.s: no significativo, *** $p < 0,001$.

Los valores de pH obtenidos para las muestras de lubina se encuentran dentro de los límites establecidos por Belitz (1997) para el pescado fresco (6,0-

6,5). Hay que destacar la existencia de diferencias significativas entre los diferentes modos de cría ($p < 0,001$), siendo el pH de la lubina salvaje significativamente superior al resto. Otros autores han observado diferencias similares entre ambos tipos de cría para esta misma especie (Orban *et al.*, 2002; Periago *et al.* 2005), así como para otras especies (Ofstad *et al.* 1996; Olsson *et al.*, 2007; Rustad, 1992). En este sentido, en especies como el bacalao se encontraron diferencias entre los valores de pH de bacalao salvaje y de piscifactoría, donde el pescado de acuicultura presentaba valores entre 0,5 y 0,9 unidades de pH por debajo del pH del pescado salvaje, observándose para estos últimos mayor variabilidad entre individuos (Rustad, 1992).

Hay que considerar que el pH del músculo de pescado varía de manera importante durante el almacenamiento, es por ello que, valores relativamente bajos de pH en las primeras horas después de la captura, indicarían el buen estado nutricional del pescado y también que la recogida/captura se ha realizado en estado de reposo o que el pescado no ha sido sometido a estrés. El valor típico de pH del pescado vivo es alrededor de 7,0; sin embargo, durante la fase inicial del almacenamiento, el pH baja considerablemente, situándose el pH post-mortem entre 6,0 y 7,1, dependiendo de la especie de pescado, estado nutricional, la época del año, etc. (Simeonidou *et al.*, 1998). Esta reducción del pH contribuiría a prolongar la vida útil del pescado. Posteriormente, los valores de pH del músculo aumentan gradualmente debido a la producción de metabolitos alcalinos de origen bacteriano, por lo que, tal y como han señalado diferentes autores, existiría una relación directa entre los valores de pH y los recuentos de microorganismos totales (Kyra y Lougovois, 2002).

Hay que destacar también que, respecto a los valores de pH de la lubina fresca consultados en bibliografía se observa cierta variabilidad (Cakli *et al.*, 2007; Kyra y Lougovois, 2002; Mashiyom *et al.*, 2002; Orban *et al.*, 2002; Özden *et al.*, 2007; Papadopoulos *et al.*, 2003; Parisi *et al.*, 2002; Periago *et al.*,

2005; Taliadourou *et al.*, 2003; Torrieri *et al.*, 2006), lo que confirmaría que el de pH del músculo del pescado depende de múltiples factores.

Los valores de actividad de agua (a_w) obtenidos se encuentran entre los valores típicos de pescado fresco (0,980-0,990), no encontrándose diferencias significativas entre los diferentes tipos de muestra. Los valores obtenidos en el presente estudio fueron altos, y similares a los dados por Cakli *et al.* (2007) para esta misma especie de pescado. En general, los altos valores de a_w en el pescado fresco, son los responsables de la elevada susceptibilidad de este tipo de alimento al deterioro microbiano.

La capacidad de retención de agua (CRA) es un parámetro directamente relacionado con la jugosidad de los alimentos, de manera que valores altos de CRA corresponden a productos jugosos (Huss, 1998). La CRA en el músculo de pescado es importante por diferentes motivos: desde el punto de vista económico, la pérdida de agua es comercialmente equivalente a la pérdida de producto; además el exudado acumulado no es atractivo para el consumidor y con este líquido exudado se pierden nutrientes solubles que son irrecuperables. Hay que destacar también que la habilidad del músculo para retener agua tiene una importante influencia sobre la textura (Fennema, 1990; Olsson *et al.*, 2003). Las lubinas procedentes de pesca extractiva presentaron valores de CRA significativamente superiores a sus homólogos cultivados. Estas diferencias entre ambos sistemas de cría coinciden con los resultados obtenidos por Rustad (1992) y Olsson *et al.* (2007) en bacalao y podrían estar determinadas por los diferentes valores de pH del músculo (tabla III.3), ya que cuanto mayor es el valor de pH en el músculo mayor es el valor de CRA del mismo.

Respecto a los valores de N-BVT, hay que destacar que no se observaron diferencias significativas entre los tres tipos de muestra. 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 30-35 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 en el momento de análisis.

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, 2005). 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. La CEE (2005) señala que el N-BVT debe ser empleado únicamente en el caso de que la evaluación sensorial del pescado fresco indicara duda sobre la frescura del mismo. 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).

Por otra parte, hay que señalar que, a pesar de que el N-BVT ha sido utilizado tradicionalmente como índice de frescura en pescado (Huidobro y Tejada, 1990), su utilización en este sentido es, en la actualidad, ampliamente cuestionada, y diferentes autores lo proponen más como una medida del deterioro que como un índice de frescura, ya que se sabe que el contenido de N-BVT se mantiene más o menos constante durante los primeros días de almacenamiento, aumentando su concentración cuando el producto se encuentra prácticamente en el límite de aceptabilidad organoléptica. Diferentes

estudios avalan estas consideraciones; en este sentido Kyrana *et al.* (1997) mostraron que en dorada procedente de piscifactoría, el valor inicial de 26,0 mg N /100 g, permaneció prácticamente constante durante los 10 primeros días de almacenamiento, momento a partir del cual se produjo un aumento exponencial hasta alcanzar los 50 mg N-BVT/100 g al cabo de 24 días de almacenamiento.

4.2. Color

Los valores correspondientes a las coordenadas de color (L^* , a^* y b^*), así como los valores correspondientes al tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*), de las diferentes muestras de lubina se muestran en la tabla III.4.

Tabla III.4. Coordenadas de color CIEL*a*b*, tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).

	G	E	S	α
L^*	37,63 \pm 4,69 a	36,66 \pm 3,62 a	42,39 \pm 1,54 b	*
a^*	-2,20 \pm 0,81 a	-2,30 \pm 1,75 a	-3,17 \pm 1,03 a	ns
b^*	2,39 \pm 1,41 a	3,91 \pm 1,33 a	2,66 \pm 0,75 a	ns
h_{ab}^*	0,78 \pm 0,36 a	0,31 \pm 1,03 a	0,71 \pm 0,22 a	ns
C_{ab}^*	3,43 \pm 1,03 a	4,91 \pm 0,95 b	4,22 \pm 0,94 b	*

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas.
Nivel de significación (α): n.s: no significativo, * $p < 0,05$.

Tal y como se muestra en la tabla III.4, las lubinas salvajes presentaron valores de luminosidad significativamente superiores a los de las lubinas procedentes de piscifactoría, independientemente de su origen geográfico ($p < 0,05$). Estas diferencias podrían ser atribuidas a los distintos valores de humedad encontrados entre ambos modos de cría; así, valores mayores de humedad (tabla III.2) implicarían valores más altos del parámetro L^* .

Los valores de L^* en el presente estudio fueron ligeramente más bajos que los consultados en bibliografía para esta misma especie de pescado (Cakli *et al.*, 2007; Torreri *et al.*, 2006).

No se observaron diferencias significativas respecto al resto de coordenadas, excepto en el croma.

4.3. Ensayos mecánicos

En el estudio de las propiedades mecánicas de las diferentes muestras de lubina, se encontraron diferencias significativas entre las lubinas procedentes de piscifactoría y las de pesca extractiva, siendo el músculo de estas últimas el que presentó mayor dureza y resistencia al corte (tabla III.5). Tal y como se observa en la tabla III.5, la fuerza ejercida para comprimir el músculo de la lubina salvaje fue aproximadamente el doble que la necesaria en el caso de la lubina de piscifactoría; estos resultados fueron similares a los obtenidos en los ensayos de corte o cizalla, donde la lubina de pesca extractiva presentó una mayor resistencia al corte. Otros autores encontraron resultados similares en el estudio de las propiedades mecánicas de diferentes especies de pescado (González *et al.*, 2006; Haard, 1992; Periago *et al.*, 2005). Las diferencias encontradas entre los parámetros de textura de los diferentes modos de cría podrían ser atribuidas principalmente al diferente entorno donde se crían estos animales; así, los peces que viven de forma salvaje en el mar, desarrollan más su musculatura que los peces de acuicultura, los cuales son criados en jaulas donde tienen limitado su movimiento (Lie, 2001; Mørkøre *et al.*, 2001).

Por otra parte, se ha demostrado que existe una relación directa del contenido lipídico sobre la textura (Andersen *et al.*, 1994, 1997; Børresen, 1992; Fauconneau *et al.*, 1995; Ginés *et al.*, 2004; Johnston *et al.*, 2006; Orban *et al.*, 1997); así, un incremento en el contenido graso del pescado provocaría el descenso de la resistencia a la compresión del músculo.

Además, la textura del pescado puede verse afectada por otros factores como el rigor mortis, pH post-mortem, proteolisis, estado nutricional, tiempo de

almacenamiento, capacidad de retención de agua, tamaño y tipo de proteína del músculo, etc. (Haard, 1992; Lie, 2001; Rasmussen, 2001).

Tabla III.5. Parámetros de textura de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).

	G	E	S	α
Ensayo de compresión				
Firmeza (N)	24,51 \pm 4,42 a	22,40 \pm 3,48 a	43,70 \pm 1,67 b	***
Deformación (N/s)	9,73 \pm 1,39 a	8,55 \pm 1,13 a	15,21 \pm 1,36 b	**
Ensayo de corte				
F _{fractura} (N)	5,31 \pm 0,74 a	5,62 \pm 1,51	25,17 \pm 4,80 b	***
F _{max} (N)	24,91 \pm 3,16 a	24,75 \pm 1,82 a	81,69 \pm 0,15 b	***

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): ** p<0,01; *** p<0,001.

Hay que destacar que estas diferencias encontradas en la medida instrumental de textura no fueron percibidas en otros estudios, donde se llevó a cabo la evaluación sensorial de la textura, ya que los catadores no encontraron diferencias entre ambos sistemas de cría (Cox y Karahadian, 1998; Lindsay, 1980).

4.4. Análisis de ácidos grasos

En el estudio de la fracción lipídica de la lubina se identificaron y cuantificaron 14 ácidos grasos, de los cuales 5 fueron ácidos grasos saturados: 14:0 (ácido mirístico), 15:0 (pentadecanoico), 16:0 (palmitico), 17:0 (heptadecanoico) y 18:0 (esteárico); 3 ácidos grasos monoinsaturados: 16:1 n-7 (ácido palmitoleico), 18:1 n-9 (oleico) y 20:1 n-9 (eicosenoico) y 6 ácidos grasos poliinsaturados (PUFA): 18:2 n-6 (ácido linoleico), 18:3 n-3 (linolénico), 20:2 n-6 (eicosadienoico), 20:4 n-6 (araquidónico), 20:5 n-3 (eicosapentaenoico, EPA) y 22:6 n-3 (docosahexaenoico, DHA) (tabla III.6). En

general, la composición de ácidos grasos presentes en la fracción lipídica de las lubinas analizadas coinciden con los proporcionados por otros autores para esta misma especie de pescado (Alasalvar *et al.*, 2002; Amerio *et al.*, 1996; Di Bella *et al.*, 1992; Lanari *et al.*, 1999; Nicolosi *et al.*, 1993; Orban *et al.*, 1996; Periago *et al.*, 2005; Pirini *et al.*, 2000).

Todas las muestras de lubina, independientemente de su procedencia, se caracterizaron por tener elevados niveles de ácido palmítico (16:0), esteárico (18:0), oleico (18:1), linoleico (18:2), eicosapentaenoico (EPA, 20:5) y docosahexaenoico (DHA, 22:6). Las lubinas procedentes de piscifactoría presentaron concentraciones significativamente mayores de los ácidos grasos 14:0, 18:1 n-9, 20:1 n-9 y 18:2 n-6 y menores de los ácidos 16:0, 18:0, 20:4 n-6, 20:5 n-3 y 22:6 n-3 que las lubinas procedentes de pesca extractiva. En general, las lubinas salvajes se caracterizaron por un mayor contenido en ácidos grasos saturados y poliinsaturados, mientras que las lubinas de acuicultura presentaron un mayor contenido en ácidos grasos monoinsaturados. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores para lubina como para otras especies de pescado (Alasalvar *et al.*, 2002; Di Bella *et al.*, 1992; González *et al.*, 2006; Grigorakis *et al.*, 2002; Nicolosi *et al.*, 1993; Periago *et al.*, 2005; Orban *et al.*, 2002; 2003).

El ácido palmítico fue el ácido graso saturado que apareció en todas las muestras en mayor proporción; mientras que dentro del grupo de los ácidos grasos monoinsaturados destacó el ácido oleico, especialmente en las lubinas procedentes de piscifactoría. Las elevadas concentraciones de ácidos oleico en las muestras procedentes de acuicultura serían debidas a la presencia de ese ácido graso en los piensos suministrados en las granjas (Grigorakis *et al.*, 2002); en cambio, la dieta de los pescados salvajes se encuentra constituida principalmente por otros peces pequeños, moluscos y crustáceos, es decir, una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados de origen animal, lo cual se refleja en su perfil lipídico.

Respecto a los ácidos grasos poliinsaturados, hay que destacar que las lubinas de crianza presentaron mayores niveles de los ácidos grasos de la serie n-6, especialmente del ácido linoleico (18:2, n-6). Este ácido graso se encuentra presente principalmente en los aceites vegetales que son empleados en la fabricación de piensos destinados a la acuicultura y se acumula inalterado en los lípidos del pescado (Owen *et al.*, 1975; Yamada *et al.*, 1980). Las lubinas salvajes, en cambio, presentaron concentraciones significativamente mayores de ácido araquidónico (20:4 n-6); estas mismas diferencias han sido observadas en otras especies de pescado (Alasalvar *et al.*, 2002; Gonzalez *et al.*, 2006; Grigorakis *et al.*, 2002; Orban *et al.*, 1996; Orban *et al.*, 2002; Serot *et al.*, 1998).

Dentro del grupo de los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3, se puede considerar que la lubina es una buena fuente de los ácidos EPA (20:5 n-3) y DHA (22:6 n-3), siendo las proporciones de ambos ácidos grasos mayores en las lubinas procedentes de pesca extractiva. Este hecho podría ser atribuido a que los piensos suministrados en las piscifactorías son ricos en ácidos grasos monoinsturados y poliinsaturados de la serie n-6, pero deficientes en poliinsturados de la serie n-3, lo que conduce al valor más bajo de la relación n-3/n-6 en la fracción lipídica del pescado de piscifactoría y, por tanto, lo que podría considerarse en una reducción de la calidad de su grasa. Estos resultados coinciden con los datos por otros autores (Alasalvar *et al.*, 2002; Chanmugam *et al.*, 1986; Grigorakis *et al.*, 2002; Serot *et al.*, 1998); aunque otros autores observaron proporciones n-3/n-6 superiores en las lubinas de piscifactorías (Periago *et al.*, 2005; Orban *et al.*, 2002). Este hecho indicaría la elevada influencia de la composición de la dieta en la composición de la fracción lipídica del músculo (Alasalvar *et al.*, 2002; Grigorakis *et al.*, 2002). En este sentido, es interesante destacar que una correcta elección de los lípidos de la dieta permitiría mejorar la calidad nutritiva de los pescados de piscifactoría.

Tabla III.6. Ácidos grasos de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S) (g/100 g ácidos grasos). Valores promedio \pm SD (n=9).

	G	E	S	α
<i>Saturados</i>				
14:0	3,35 \pm 0,41 a	3,27 \pm 0,09 a	2,08 \pm 0,07 b	***
15:0	0,73 \pm 0,09 a	0,59 \pm 0,08 b	0,92 \pm 0,04 c	*
16:0	21,50 \pm 1,64 a	22,24 \pm 0,36 a	24,57 \pm 0,96 b	***
17:0	0,29 \pm 0,02 a	0,24 \pm 0,04 a	0,50 \pm 0,14 b	***
18:0	4,51 \pm 0,21 a	4,58 \pm 0,11 a	9,31 \pm 0,34 b	***
Total	30,38	30,57	37,38	-
<i>Monoinsaturados</i>				
16:1 n-7	4,19 \pm 0,16 a	4,58 \pm 0,09 a	5,12 \pm 0,56 b	*
18:1 n-9	28,27 \pm 0,36 a	27,96 \pm 0,71 a	16,47 \pm 0,42 b	***
20:1 n-9	4,01 \pm 0,15 a	5,66 \pm 1,01 a	1,95 \pm 0,10 b	***
Total	36,47	36,32	23,54	-
<i>Poliinsaturados</i>				
18:2 n-6	13,56 \pm 1,52 a	9,91 \pm 0,35 b	2,73 \pm 0,06 c	***
18:3 n-3	1,15 \pm 0,55 a	1,19 \pm 0,31 a	1,13 \pm 0,31 a	ns
20:2 n-6	1,98 \pm 0,48 a	2,10 \pm 0,92 a	1,06 \pm 0,53 a	ns
20:4 n-6	0,33 \pm 0,03 a	0,48 \pm 0,01 a	5,37 \pm 0,30 b	***
20:5 n-3	7,81 \pm 0,85 a	9,26 \pm 0,81 b	12,17 \pm 0,13 c	***
22:6 n-3	8,33 \pm 1,11 a	7,36 \pm 0,26 b	16,62 \pm 0,81 c	***
Total	33,11	33,11	39,08	-
Σ n-3	17,29	17,81	29,92	-
Σ n-6	15,87	12,49	9,16	-
Σ n-3: Σ n-6	1,09	1,43	3,27	-
EPA:DHA	0,94	1,26	0,73	-

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): n.s: no significativo, * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

Finalmente, hay que señalar la composición de la fracción lipídica en el pescado puede variar también en función de época del año, temperatura del

agua, salinidad, tamaño y edad del pez, estado reproductivo, etc. (Ackman, 1989; Nettleton y Exler, 1992).

4.5. Análisis de aminoácidos libres

En la tabla III.7 se muestra el contenido en aminoácidos libres en las muestras de lubina estudiadas.

Tabla III.7. Contenido en aminoácidos libres (mg/Kg) de lubina procedente de acuicultura, con origen en Grecia (G) y España (E), y de lubina salvaje (S). Valores promedio \pm SD (n=9).

	G	E	S	α
Ác aspártico ^a	1,03 \pm 0,07 a	1,25 \pm 0,64 a	1,48 \pm 0,31 a	ns
Ác glutámico ^a	24,42 \pm 3,25 a	18,58 \pm 2,51 a	5,23 \pm 0,68 b	***
Asparagina ^a	0,69 \pm 0,11 a	1,29 \pm 0,91 b	2,78 \pm 0,81 c	*
Serina ^a	5,83 \pm 1,04 a	4,31 \pm 0,98 a	12,88 \pm 2,62 b	***
Glicina ^a	44,86 \pm 14,49 a	50,01 \pm 9,78 a	6,59 \pm 1,35 b	***
Histidina ^e	18,45 \pm 9,78 a	15,02 \pm 2,47 a	2,56 \pm 1,23 b	***
Arginina ^e	8,67 \pm 7,51 a	9,27 \pm 4,63 a	25,74 \pm 11,91 b	***
Taurina ^a	168,11 \pm 38,27 a	178,51 \pm 27,66 a	243,53 \pm 47,60 b	***
Treonina ^e	4,23 \pm 0,62 a	3,30 \pm 0,88 a	2,84 \pm 0,54 a	ns
Alanina ^a	18,36 \pm 1,53 a	13,58 \pm 2,13 a	2,49 \pm 0,32 b	***
Prolina ^a	2,68 \pm 0,49 a	3,58 \pm 0,69 a	4,60 \pm 0,94 a	ns
Tirosina ^a	1,80 \pm 0,27 a	0,88 \pm 0,14 b	0,52 \pm 0,29 c	*
Valina ^e	4,02 \pm 0,88 a	3,92 \pm 0,52 a	3,10 \pm 1,38 a	ns
Metionina ^e	3,90 \pm 1,57 a	5,50 \pm 1,03 a	9,82 \pm 1,99 b	***
Isoleucina ^e	23,88 \pm 7,21 a	25,36 \pm 2,69 a	28,36 \pm 4,18 a	ns
Leucina ^e	6,46 \pm 2,55 a	6,24 \pm 1,36 a	7,64 \pm 3,09 a	ns
Fenilalanina ^e	0,65 \pm 0,12 a	0,42 \pm 0,08 a	1,25 \pm 0,23 b	**
Lisina ^e	17,34 \pm 4,16 a	16,22 \pm 2,68 a	17,88 \pm 4,05 a	ns
Total	355,38	357,24	379,29	-

e: aminoácido esencial; a: aminoácido no esencial

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas.

Nivel de significación (α): ns: no significativo, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

Tal y como se muestra en la tabla III.7, el perfil de aminoácidos libres se vio afectado por el sistema de cría; sin embargo, no se observaron diferencias entre las distintas áreas de procedencia del pescado. Las lubinas procedentes de piscifactoría se caracterizaron por mayores niveles de ácido glutámico, glicina, histidina y alanina, así como niveles más bajos de serina, arginina, taurina y metionina, que las lubinas salvajes.

Las muestras de lubina procedentes de pesca extractiva presentaron una mayor concentración de aminoácidos libres totales (379,29 mg/Kg) que las procedentes de piscifactoría (Grecia: 355, 38 y España: 357,24 mg/Kg).

El aminoácido mayoritario en todas las muestras fue la taurina, lo que coincide con los resultados obtenidos en diferentes estudios para distintas especies de pescado (Cha *et al.*, 1998; Hwang *et al.*, 2000; Saito y Kunisaki, 1998); otros autores encontraron también que este es el aminoácido libre intracelular mayoritario en tejidos animales (Sarwar y Botting, 1990). La taurina presenta un efecto importante sobre las funciones fisiológicas humanas (Fuke, 1994; Gaull, 1989; Redmond *et al.*, 1998 Stapleton *et al.*, 1997; Sturman, 1993), sin embargo no ejerce ningún efecto sobre el sabor o formación de los componentes activos del aroma (Konosu y Yamaguchi, 1982; Oshima *et al.*, 1991).

Después de la taurina, se considera que los principales aminoácidos en los organismos acuáticos son arginina, lisina y leucina, siendo estos aminoácidos los que aparecieron en mayor proporción en todas las muestras analizadas (tabla III.7). La tirosina, arginina y lisina son importantes en el deterioro de pescado, ya que, por descarboxilación, pueden generar aminas biógenas (tiramina, agmatina y cadaverina, respectivamente), las cuales afectan a la seguridad del producto.

Por otro lado, algunos aminoácidos libres como el ácido glutámico, ácido aspártico, alanina y glicina confieren un aroma y sabor característico al pescado (Ruiz-Capillas y Moral, 2004). En este sentido, fueron las muestras procedentes de acuicultura las que presentaron mayores concentraciones de estos. Bauchart

et al. (2007) y Ruiz-Capillas y Moral (2001) observaron un descenso en la concentración de glicina con el tiempo de almacenamiento en trucha arcoíris y atún, respectivamente, lo que podría provocar a cierta pérdida del sabor y aroma. Es por ello, que las diferencias encontradas para este aminoácido entre las lubinas salvajes y las de piscifactoría podrían ser atribuidas también a diferencias en el tiempo de almacenamiento de las muestras y no solamente al tipo de dieta.

5. CONCLUSIONES

El modo de cría afectó a la composición centesimal, color, textura, y al perfil de ácidos grasos y aminoácidos libres de la lubina; sin embargo, no tuvo ningún efecto sobre el contenido mineral.

Las lubinas de piscifactoría presentaron un mayor contenido lipídico y menor contenido proteico y en humedad que las lubinas procedentes de pesca extractiva, independientemente de su área geográfica de procedencia.

Las lubinas salvajes presentaron una mayor luminosidad, así como una textura más firme que las lubinas de crianza.

Respecto al perfil de ácidos grasos, las lubinas salvajes se caracterizaron por altos niveles de ácidos grasos saturados y poliinsaturados, especialmente de la serie n-3, mientras que las lubinas de crianza presentaron mayores contenidos de monoinsaturados y poliinsaturados de la serie n-6.

Los aminoácidos mayoritarios fueron, en todas las muestras, taurina, glicina, ácido glutámico, alanina e isoleucina.

Las diferencias encontradas entre ambos sistemas de cría podrían implicar diferencias en las características sensoriales de este tipo de pescados.

Finalmente, se podría destacar que la lubina procedente de piscifactoría es una buena alternativa a la de pesca extractiva por su excelente valor nutricional y su bajo coste. Debido a la alta influencia de la dieta en la composición del pescado, se podría modificar la composición de los piensos

para aumentar el contenido en compuestos beneficiosos para la salud como los PUFA ω -3. Todo ello hace que la lubina de crianza sea especialmente atractiva tanto para su consumo en fresco como para su utilización en la elaboración industrial de productos derivados de ella.

III.2. COMPOSICIÓN Y CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS PESCADOS AHUMADOS Y MARINADOS EN EL MERCADO ESPAÑOL

1. INTRODUCCIÓN

El ahumado es uno de los métodos más antiguos empleado para la conservación de pescado. La capacidad conservante del ahumado, se debe principalmente al efecto sinérgico que aparece como consecuencia de la combinación de diferentes factores, como son la incorporación de sal, la acción conservante de los componentes del humo y la deshidratación que sufre el pescado durante el ahumado, lo que permite retrasar los procesos microbiológicos y oxidativos, causantes del deterioro en el pescado fresco. De todos estos factores, es el incremento en el contenido en sal, el principal responsable del aumento de la vida útil de este tipo de productos.

El proceso de ahumado, además de ayudar a la conservación, proporciona al producto una textura más firme, así como un sabor agradable y típico. De hecho, la importante aceptación de este tipo de productos por parte de los consumidores se debe más a sus peculiares características sensoriales, que a la capacidad para conservar el alimento. En la actualidad, por tanto, la finalidad del ahumado es elaborar un producto de una alta calidad sensorial. Hay que destacar también, que el pescado ahumado es un producto altamente nutritivo, ya que mantiene prácticamente todos los nutrientes presentes en el pescado fresco, excepto su contenido proteico, debido a la acción de la temperatura. especialmente en el ahumado en caliente, que provoca la desnaturalización proteica.

Según los datos proporcionados por la FAO, el sector de la industria de los ahumados presenta una considerable importancia económica dentro de los productos derivados de la pesca, con unos márgenes de beneficios superiores a los 78 millones de dólares. Existe un importante mercado que demanda este tipo de productos, lo que supone una producción mundial alrededor de 104.000 Tm. Las especies de pescado más importantes dentro de este sector son el

salmón y arenque, con una producción cercana a los 39.000 y 14.000 Tm en 2004; sin embargo, en la actualidad otras especies de pescado empiezan a ser cada vez más comunes en nuestro mercado, tales como la palometa, bacalao, trucha, etc. (FAO, 2006).

La materia prima empleada en la industria de los productos de la pesca ahumados es básicamente de origen acuícola. Debido a que el coste de la materia prima juega un papel importante en los costes de producción, los productores adquieren el pescado fresco en un mercado altamente diversificado. Este hecho implica una alta variabilidad en las características de la materia prima, ya que los procedimientos de cría, condiciones de sacrificio, envasado y transporte varían de forma importante de unos países a otros, así como de una piscifactoría a otra (Torrissen, 1995). Sin embargo, los productores están dotados, cada vez en mayor medida, con un equipamiento que permite un mejor control de los parámetros de producción. Es por ello, que el perfecto conocimiento de las características de la materia prima y de los efectos que el procesado causa en el pescado, permitiría conseguir un producto que se ajuste a la demanda del mercado y alcanzar los objetivos de rentabilidad (Beltran y Moral, 1991; Cardinal *et al.*, 2001; Røra *et al.*, 1998).

Las características propias de cada especie de pescado, tales como el contenido graso, la cantidad de agua presente en el músculo, las dimensiones de las piezas, etc. deben de ser consideradas a la hora de establecer las condiciones adecuadas de salado y ahumado. Es por ello necesario, que los productores conozcan la naturaleza y características de la materia prima, con el fin de decidir las técnicas de manipulación y procesado más adecuadas a aplicar (Sallam *et al.*, 2006).

Respecto a los procedimientos de elaboración empleados, hay que destacar que los métodos tradicionales de curado, que implicaban salados fuertes y varios días de ahumado en frío, están siendo reemplazados por procesos más suaves, que dan lugar a productos con niveles de sal más bajos, desde el 2,5% al 6% (en la fase líquida del pescado) y una humedad mayor,

desde el 65% al 70% (Indrasena *et al.*, 2000; Kolodziejska *et al.*, 2002; Sigurgisladottir *et al.*, 2000).

Numerosos autores han estudiado el efecto del proceso de ahumado en los parámetros de calidad de distintas especies de pescado (Birkeland *et al.*, 2004; Cardinal *et al.*, 2001; Espe *et al.*, 2001; Espe *et al.*, 2002; Goulas y Kontominas, 2005; Jittinandana *et al.*, 2002; Kolodziejska *et al.*, 2002; Martínez *et al.*, 2007; Montero *et al.*, 2003; Røra y Einen, 2003; Sigurgisladottir *et al.*, 2000; Truelstrup Hansen *et al.*, 1995; 1998; Vasiliadou *et al.*, 2005); sin embargo, existe poca información sobre los valores típicos que presentan los productos ahumados comerciales, en cuanto a su composición, valor nutricional y características fisico-químicas. La caracterización de los productos ahumados puede ser útil, no solo para conocer la composición y los principales atributos de calidad de este tipo de productos, sino también para establecer sus principales características comunes. En este sentido, el salmón ahumado es el único producto comercial estudiado (Espe *et al.*, 2004; Røra *et al.*, 2004; Truelstrup Hansen *et al.*, 1998). El salmón ahumado en frío se considera una semiconserva, con un contenido en sal que oscila desde el 2,0% al 3,9%, contenido en agua entre el 65% y el 70% y pH desde el 5,8 al 6,3 (Truelstrup Hansen *et al.*, 1995; 1996; 1998).

Otro tipo de productos de la pesca con características similares a los pescados ahumados son los marinados. Los pescados marinados son también semiconservas de pescado, comercializadas como productos listos para consumir, que no precisan ningún tipo de calentamiento previo a su consumo (Gram y Huss, 1996). Son considerados, al igual que el pescado ahumado, una "delicatessen" de alto valor nutricional. Este tipo de productos, aunque incluye una amplia gama de pescados procesados, es económicamente menos importante que el sector de los ahumados, con una producción mundial en 2004 cercana a las 10.000 Tm (FAO, 2006). Tradicionalmente, los marinados han sido productos elaborados a partir de pescado fresco, congelado o salado, entero o en porciones, en cuya elaboración se emplean como ingredientes un

ácido orgánico comestible, generalmente ácido acético, y sal, y donde el producto se introduce en salmueras, salsas, cremas o aceite (Meyer, 1965). Sin embargo, en el mercado español, el término "marinado" se emplea para definir aquellos productos que han sido procesados empleando una mezcla a partes iguales de sal y azúcar, y que viene acompañado por diferentes especias, entre las que destaca el eneldo. Otro ingrediente que se incluye de manera habitual en los marinados es el vinagre. La combinación de todos estos ingredientes permite retardar la acción bacteriana y enzimática, incrementado de este modo la vida útil del producto, comparado con la del pescado fresco. Sin embargo, el objetivo del marinado, tal y como sucede con el ahumado, no es solamente retardar el deterioro del pescado, sino proporcionar unos atributos sensoriales característicos, que vienen dados por los cambios que provoca el proceso en el sabor, textura y estructura de la materia prima, resultando de este modo un producto con unas características sensoriales particulares. Los marinados almacenados a temperaturas de refrigeración (4-6 °C) pueden ser conservados durante un largo periodo de tiempo (Sallam *et al.*, 2006).

Para ambos tipos de productos de la pesca, ahumados y marinados, algunos parámetros físico-químicos, como la actividad de agua (a_w) y la concentración de sal, están directamente relacionados con la vida útil del producto. Algunos estudios han mostrado que para un mismo tipo de producto, existe una importante variabilidad en estos parámetros (Espe *et al.*, 2004; Cornu *et al.*, 2006), lo que tendría implicaciones para las características sensoriales del producto y, lo que es más importante, para su seguridad. En este sentido, sería muy interesante tener un conocimiento preciso sobre las principales características de los productos de la pesca ahumados y marinados disponibles en mercado, con el objeto de estandarizar los parámetros que mejor definen a estos productos, proporcionando una referencia para los productores y para investigaciones en el campo del desarrollo de nuevos productos.

2. OBJETIVO

El objetivo de este capítulo fue identificar los diferentes productos ahumados y marinados presentes en el mercado español, así como determinar y comparar la composición físico-química de los diferentes productos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima

Se llevó a cabo un estudio previo, en cinco supermercados e hipermercados de la ciudad de Valencia (España), en el que se identificaron todos los productos de la pesca ahumados y marinados ofertados en el mercado en esa fecha (septiembre de 2003). Con la información recogida de las etiquetas de todos los productos encontrados, se realizaron fichas de caracterización, las cuales incluían la información relativa al origen del pescado, ingredientes, fecha de caducidad, tipo de envasado, peso neto, precio y condiciones de conservación.

A partir de la información recopilada, se seleccionó la materia prima que se utilizaría en esta fase del estudio. Esta selección se realizó en base a la composición del producto (con el objeto de analizar productos con formulaciones diferentes), así como a su disponibilidad en el mercado.

Se seleccionaron un total de 15 productos que correspondían a 10 especies diferentes de pescado. Entre los productos ahumados se escogieron una marca comercial de anchoa (ANE), anguila (EEL), arenque (HER), atún (TUS), lubina (BSS), palometa (BRA) y pez espada (SWO), y dos marcas comerciales de bacalao (CODa y CODb), salmón (SALa y SALb) y trucha (TRSa y TRSb). Además se seleccionaron dos marcas diferentes de salmón marinado (SAL-Ma y SAL-Mb). Los códigos asignados a cada una de las especies corresponden a los códigos FAO (MAPA, 2007).

En el punto de distribución, todas las muestras se encontraban fileteadas, envasadas a vacío y almacenadas en refrigeración. Los pesos netos de los

envases fueron 80, 100 ó 125 g dependiendo de la muestra. De cada muestra se analizaron tres lotes (con un intervalo entre fechas de adquisición de aproximadamente de un mes).

3.2. Determinaciones analíticas

3.2.1. Composición y valor nutricional

La determinación del contenido en humedad, proteínas lípidos, y cenizas se realizó siguiendo los procedimientos descritos por la AOAC (1997), tal y como ha sido detallado en el capítulo III.1 (apartados 3.2.1-3.2.4). El valor energético de cada una de las muestras se estimó a partir de los valores correspondientes al contenido lipídico y proteico, considerando los factores de conversión de 4,27 Kcal/g de proteína y de 9,02 Kcal/g de grasa (Exler, 1987), y asumiendo como nulo el aporte energético de los carbohidratos, por estar en una proporción prácticamente despreciable.

La determinación del contenido en calcio, magnesio, sodio y potasio, se realizó por espectrofotometría de absorción atómica, tal y como ha sido descrito anteriormente (capítulo III.1, apartado 3.2.5).

3.2.2. Contenido en cloruro sódico

Para la determinación del contenido en cloruro sódico de las muestras de pescado, se homogeneizaron 2 g de la muestra triturada en agua destilada, empleando un homogeneizador Ultra-turrax T-25 (IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania). La disolución obtenida se enrasó hasta un volumen de 100 mL y se centrifugó a 2000 rpm durante 10 min. El sobrenadante obtenido se filtró y se tomó una alícuota de 500 µL de este filtrado para su valoración en el analizador automático de cloruros Sherwood mod 926 (Sherwood Scientific Ltd., Cambridge, UK).

El equipo proporciona un valor de la lectura en mg de ión cloruro/L. A partir de este valor se puede estimar la concentración de cloruro sódico en las muestras mediante la ecuación III.9:

$$\text{g NaCl / 100 g muestra} = \frac{\text{Lectura} \cdot V \cdot 58,5}{m \cdot 35,5 \cdot 10} \quad \text{III.9}$$

donde:

Lectura = valor dado por el equipo (mg Cl⁻/L).

V = volumen de la disolución de pescado (L).

m = masa de la muestra (g).

3.2.3. pH

El pH de las muestras se midió a partir de pescado homogeneizado en agua destilada (1:10 p/p) utilizando un pH-metro Crison micropH 2001 (Crison Instruments S.A, Alella, Barcelona, España).

3.2.4. Actividad de agua (a_w)

Las medidas de actividad de agua (a_w) se realizaron a partir de un higrómetro de punto de rocío AquaLab[®] CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

3.2.5. Capacidad de Retención de Agua (CRA)

La capacidad de retención se determinó mediante el método descrito en el capítulo III.1, apartado 3.2.8.

3.2.6. Color

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

Las medidas se realizaron inmediatamente después de abrir el envase y sobre el mismo fondo sobre el que se presentaba el producto. Se tomaron medidas en seis puntos diferentes del pescado, que correspondían exactamente

a la zona del producto que el consumidor puede observar a través de la película de plástico transparente que envuelve el mismo. La selección de estos puntos se consideró la más apropiada debido a que el color es uno de los principales aspectos de calidad para el consumidor a la hora de decidir la compra.

A partir de las coordenadas colorimétricas del sistema CIEL*a*b* (1976), L* (luminosidad), a* (desviación hacia el rojo y el verde) y b* (desviación hacia el amarillo y el azul), se calcularon las magnitudes psicofísicas de tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}), tal y como se ha descrito en el capítulo III.1, apartado 3.2.10.

3.3. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA simple) para evaluar las diferencias en la composición centesimal, parámetros fisico-químicos y coordenadas de color entre los diferentes pescados ahumados y marinados, así como entre lotes de un mismo producto. Se consideraron como variables dependientes cada uno de los atributos evaluados, y como factores la especie de pescado o el lote de compra. Los análisis de regresión simple y regresión múltiple se emplearon para determinar la correlación entre variables, siendo el nivel de significación establecido $p \leq 0,05$.

El análisis Cluster se empleó para determinar el agrupamiento natural de los productos analizados en función de su composición y parámetros fisico-químicos. Se utilizó un análisis Cluster jerárquico mediante el método de Ward, considerando la distancia Euclideana como medida de proximidad entre variables.

A partir de los datos obtenidos en las determinaciones de color, se realizó un análisis discriminante Stepwise hacia adelante empleando la lambda de Wilks como criterio estadístico de selección de variables.

Los análisis de la varianza (ANOVA), las regresiones y el análisis discriminante se llevaron a cabo mediante el programa Statgraphics (versión 5.0; Manugistics, Inc., Rockville MD, USA). El programa estadístico empleado para el análisis Cluster fue el SPSS versión 14.0 (SPSS Inc., Chicago IL, USA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Selección de las muestras de pescado

La información recogida de las etiquetas de todos los productos ahumados y marinados encontrados, se recopiló en fichas de caracterización (Anexo A, tabla VIII.1), donde se incluyó la información relativa al origen del pescado, ingredientes, fecha de caducidad, tipo de envasado, peso neto, precio y condiciones de conservación.

En este estudio, se contabilizaron un total de 55 productos ahumados, que correspondían a 11 especies diferentes de pescado: anchoa, anguila, arenque, atún, bacalao, esturión, lubina, palometa, pez espada, salmón y trucha. Respecto a los productos marinados, tan solo se encontraron 3 marcas comerciales de salmón marinado.

La mayor parte de la oferta de este tipo de productos consistió en pescado ahumado en lonchas y envasado a vacío, en envases de aproximadamente 100-150 g (peso neto) almacenados en refrigeración en el punto de distribución. Los envases, en general, estaban diseñados de manera que el consumidor podía ver el producto a través de una ventana transparente antes de la compra. Las muestras de salmón marinado, se presentaban de manera que el envase plástico se encontraba incluido dentro de un sobre de cartón, el cual dejaba libre, también, el área visible del producto anteriormente citada.

De todas las especies de pescado ahumado, el salmón fue el producto del cual se encontraron un mayor número de marcas comerciales (10 marcas), así como una mayor gama de productos elaborados a partir de salmón ahumado, como por ejemplo, en dados, lomo, solomillo, lomo imperial, lomito imperial y ventresca de salmón ahumado, así como salmón enlatado en aceite y aceite de girasol, crema de salmón ahumado y *tartar* de salmón ahumado. Hay que destacar que este producto fue el único en el que se hace una distinción especial del origen del mismo, comercializándose bajo la denominación de

“salmón noruego” y “salmón escocés”, encontrando 8 marcas de salmón noruego y 4 de salmón escocés.

La siguiente especie de pescado con mayor presencia en el mercado de los ahumados fue el bacalao, del que además del bacalao ahumado en lonchas, se encontraron diferentes marcas de bacalao ahumado en aceite (enlatado, envasado a vacío y en atmósfera modificada), taquitos de bacalao ahumado e hígado de bacalao ahumado enlatado.

Tal y como ha sido descrito anteriormente, con la información recogida a partir de estos productos, se seleccionaron finalmente 15 productos, detallados previamente el apartado de Material y Métodos.

En la tabla III.8 se muestra la información correspondiente a cada uno de los productos seleccionados, donde se incluye el código FAO dado para cada producto (MAPA, 2007), el origen del pescado, los ingredientes y el tiempo que resta desde la fecha de análisis hasta la caducidad del producto.

Todos los productos analizados incluían como ingredientes sal, azúcar y humo, excepto las muestras ANE, CODb, SAL-Sb y TRSb que no incluían azúcar en su formulación. Respecto a las muestras de salmón marinado, hay que señalar que ambas marcas contenían sal, azúcar, eneldo y otras especias no especificadas, y que la muestra denominada SAL-Ma se elaboró empleando salmón ahumado.

Es interesante destacar también, que en algunos casos se emplearon aditivos, todos ellos permitidos por la legislación española (MSC, 1996; 2002). El arenque ahumado incluyó en su formulación benzoato sódico (E-211) y ácido cítrico (E-300), como conservante y antioxidante respectivamente, mientras que en la elaboración de palometa ahumada además de benzoato sódico se emplearon dos colorantes diferentes, rojo cochinilla (E-124) y amarillo anaranjado (E-110).

Tabla III.8. Información de los pescados ahumados y marinados analizados.

<i>Producto</i>	<i>Código¹</i>	<i>Origen</i>	<i>Formulación</i>	<i>Lote</i>	<i>Vida útil restante (días)</i>
Anchoa ahumada	ANE	Capturado en el mar Mediterráneo	Anchoa, sal y humo natural	1	37
				2	4
				3	24
Anguila ahumada	ELE	-	Anguila, sal, azúcar y humo natural	1	23
				2	31
				3	23
Arenque ahumado	HER	Capturado en el Atlántico Noreste	Arenque, sal, azúcar, conservante E-211, antioxidante E-300 y humo natural.	1	31
				2	19
				3	40
Atún ahumado	TUS	Capturado en el océano Pacífico	Atún, sal, azúcar y humo de madera de haya	1	6
				2	30
				3	24
Bacalao ahumado marca a	CODa	Capturado en el Atlántico Noreste	Bacalao, sal, azúcar y humo de madera de haya	1	14
				2	17
				3	17
Bacalao ahumado marca b	CODb	Capturado en el Atlántico Noreste	Bacalao, sal y humo de madera de haya.	1	4
				2	23
				3	18
Lubina ahumada	BSS	-	Lubina, sal, azúcar y humo natural	1	23
				2	40
				3	30
Palometa ahumada	BRA	Capturado en el océano Pacífico	Palometa, sal, azúcar, colorantes E-124 y E-110, conservante E-221, humo de madera de haya	1	18
				2	21
				3	8
Pez espada ahumado	SWO	Capturado en el Atlántico Noreste	Pez espada, sal, azúcar y humo	1	31
				2	21
				3	25
Salmón ahumado marca a	SAL-Sa	Criado en Noruega y otros países	Salmón, sal, azúcar y humo de madera de haya	1	14
				2	29
				3	25
Salmón ahumado marca b	SAL-Sb	Criado en Noruega	Salmón, sal y humo de madera de haya	1	21
				2	28
				3	27

Continuación tabla III.8

Salmón marinado marca a	SAL-Ma	Criado en Noruega	Salmón, sal, azúcar, eneldo y otras especias	1	22
				2	16
				3	26
Salmón marinado marca b	SAL-Mb	Criado en Noruega y otros países	Salmón, sal, azúcar, eneldo y especias	1	28
				2	29
				3	18
Trucha ahumada marca a	TRSa	Criada en Dinamarca	Trucha, sal, azúcar y humo natural	1	23
				2	26
				3	5
Trucha ahumada marca b	TR Sb	Criada en Dinamarca	Trucha, sal y humo natural	1	24
				2	12
				3	36

¹ Códigos FAO de las especies de pescado (MAPA, 2007)

4.2. Composición y valor nutricional

4.2.1. Efecto de la especie de pescado sobre la composición centesimal y valor nutricional

La tabla III.9 muestra los contenidos en humedad, proteínas, lípidos y cenizas, así como los valores energéticos para cada uno de los productos de pescado ahumado y marinado analizados.

Tal y como cabría esperar, se encontraron diferencias significativas respecto al contenido en humedad, proteínas y lípidos entre las diferentes especies de pescado, debido a que la composición del músculo está afectada por las características intrínsecas de cada especie.

El agua fue el componente que apareció en todas las muestras, en mayor proporción, a pesar de que estos productos han sido sometidos a una deshidratación durante el procesado. Los contenidos en humedad variaron desde 75,9% (p/p) para la lubina ahumada hasta 48,7% (p/p) para la anguila ahumada.

Las especificaciones industriales para los productos ahumados en el mercado francés, recomiendan un contenido en agua inferior al 65% (Cardinal *et al.*, 2001). En este estudio la anchoa, anguila, arenque, atún, salmón y trucha, cumplieron estas recomendaciones, lo que podría atribuirse bien a diferencias en las demandas de los consumidores, que conducen a una amplia variedad de productos, con diferentes contenidos de sal e intensidades de tratamiento (Cardinal *et al.*, 2006), o podría también ser atribuido a diferencias en la humedad del pescado fresco de partida o a distintas formas de procesado.

Las proteínas fueron el segundo componente mayoritario en todas las muestras, excepto para la anguila ahumada, donde el contenido lipídico fue superior. El contenido en proteínas osciló desde 16,5% (p/p) para SAL-Sa y TRSb hasta 24,9% (p/p) para ANE. Debido a que el proceso de ahumado conlleva una desnaturalización proteica, siendo ésta mayor en el caso del ahumado en caliente, podría considerarse que las diferencias encontradas entre productos son consecuencia del empleo de condiciones de procesado diferentes entre productos. Sin embargo, no es posible establecer ninguna distinción al respecto, ya que en las especificaciones del producto no se hace referencia al proceso de ahumado empleado. Por otro lado, las características intrínsecas de cada especie también tienen una fuerte influencia en el contenido proteico.

Respecto al contenido lipídico, puede observarse un amplio rango de concentraciones, ya que este tipo de productos proceden de especies con diferentes contenidos grasos. Las especies grasas, como anguila, arenque, salmón o trucha dieron lugar a productos con el contenido lipídico más alto, que oscilaron desde 10,0% (p/p) para TRSa hasta 30,6% (p/p) para ELE; mientras que las especies magras, como el bacalao o lubina, dieron lugar a productos con el menor contenido lipídico (inferior al 1%). En pescado fresco, diferentes autores han establecido una correlación inversa entre el contenido en agua y el contenido lipídico (Nettleton y Exler, 1992), siendo esta relación más fuerte en el caso de las especies grasas. Con el objeto de comprobar si esta misma relación se mantenía en los productos ahumados y marinados, se

realizaron dos análisis estadísticos por regresión lineal simple, uno a partir de los datos correspondientes a los productos grasos (contenido lipídico superior al 6% p/p) y otro con las muestras cuyo contenido lipídico era inferior al 6% (p/p). Los resultados estadísticos mostraron una correlación más fuerte en el caso de los productos grasos ($r=-0,910$, $p<0,001$) que en los productos magros y semi-grasos ($r=-0,793$, $p<0,001$), lo que indicaría que hubo una correlación inversa entre el contenido en humedad y el contenido lipídico en los productos estudiados. Sin embargo, a partir de la información proporcionada en el envase del producto, es imposible establecer si el contenido final de agua en cada producto se debe a su contenido lipídico o a la intensidad del proceso de deshidratación al que el pescado ha sido sometido.

Las diferencias encontradas en el contenido de cenizas entre los productos analizados, se debieron principalmente a diferencias en su contenido en sal. La anchoa ahumada mostró el mayor contenido en cenizas ($>12\%$ p/p) mientras que el valor más bajo lo presentó la anguila ahumada ($2,3\%$ p/p). El resto de productos mostraron contenidos en cenizas que oscilaron entre el $3,5\%$ y el $6,8\%$ (p/p).

En relación al valor energético (tabla III.9), los distintos valores son consecuencia de las diferencias encontradas en la composición centesimal de los productos, especialmente en el contenido lipídico. Estos valores oscilaron entre $78,9$ Kcal/100 g (CODa) y $373,5$ Kcal/g (ELE), lo que correspondió a los productos con el menor y mayor contenido graso, respectivamente.

Tabla III.9. Composición centesimal y valor energético en las muestras de pescado ahumado/marinado. Valores promedio \pm SD de los tres lotes y valores extremos (n=9). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.

Producto	Humedad (g/100 g)	Proteínas (g/100 g)	Lípidos (g/100 g)	Cenizas (g/100 g)	Valor energético (Kcal/100 g)
ANE	64,6 \pm 2,5*** 60,9 - 67,0	24,9 \pm 6,8*** 19,4 - 34,1	3,4 \pm 0,7** 2,1 - 4,2	12,3 \pm 2,9*** 10,0 - 16,7	144,7 \pm 39,2* 109,2 - 225,8
ELE	48,7 \pm 5,9* 42,2 - 56,6	22,8 \pm 1,2 ^{ns} 21,1 - 24,3	30,6 \pm 6,9*** 20,7 - 36,7	2,3 \pm 0,2 ^{ns} 2,1 - 2,7	373,5 \pm 61,9*** 280,9 - 431,6
HER	60,3 \pm 2,3*** 56,7 - 62,8	17,7 \pm 1,3*** 15,9 - 18,6	13,3 \pm 1,9 ^{ns} 11,5 - 17,4	6,8 \pm 0,7* 6,1 - 8,4	197,6 \pm 16,0 ^{ns} 178,5 - 236,9
TUS	62,6 \pm 3,0*** 58,6 - 66,2	21,1 \pm 7,1*** 15,4 - 31,5	2,6 \pm 0,9*** 1,4 - 3,8	6,5 \pm 0,5 ^{ns} 6,1 - 7,5	110,8 \pm 32,7** 81,3 - 157,9
COD a	74,7 \pm 0,8*** 73,6 - 76,0	17,8 \pm 5,2* 11,4 - 22,6	0,3 \pm 0,1 ^{ns} 0,1 - 0,5	5,3 \pm 0,5* 4,6 - 6,0	78,9 \pm 21,9* 50,2 - 100,0
COD b	74,7 \pm 0,7* 73,3 - 75,4	18,9 \pm 4,7*** 11,5 - 22,6	0,3 \pm 0,1 ^{ns} 0,3 - 0,4	5,8 \pm 1,2*** 4,8 - 7,5	83,0 \pm 19,7*** 52,2 - 99,5
BSS	75,9 \pm 2,2*** 72,8 - 78,2	20,7 \pm 0,7 ^{ns} 19,3 - 21,6	0,5 \pm 0,2** 0,3-0,9	4,7 \pm 3,2*** 2,1 - 9,3	93,8 \pm 3,3 ^{ns} 86,1 - 96,6
BRA	71,9 \pm 2,4*** 68,5 - 74,0	19,9 \pm 3,4*** 15,3 - 23,0	1,7 \pm 0,2* 1,5-2,2	5,0 \pm 1,1** 3,9 - 6,6	100,5 \pm 15,9*** 79,53 - 116,1
SWO	71,9 \pm 2,4*** 68,5 - 74,0	23,1 \pm 0,5 ^{ns} 22,6 - 23,9	1,9 \pm 1,8*** 0,7 - 4,5	5,6 \pm 0,6 ^{ns} 4,5 - 6,2	116,5 \pm 16,0*** 103,2 - 139,2
SAL-Sa	60,4 \pm 2,0** 57,2 - 62,9	16,5 \pm 5,9*** 9,9 - 22,7	12,5 \pm 3,9** 7,6 - 17,5	5,0 \pm 0,9*** 3,6 - 5,7	183,4 \pm 17,0 ^{ns} 165,8 - 223,9
SAL-Sb	61,1 \pm 1,7** 58,7 - 62,8	20,7 \pm 6,5*** 12,6 - 27,8	12,9 \pm 2,0* 10,3 - 16,3	4,1 \pm 0,5*** 3,3 - 4,6	205,6 \pm 43,1*** 146,9 - 255,1
SAL-Ma	61,2 \pm 0,6* 60,5 - 62,4	22,3 \pm 0,8 ^{ns} 20,9 - 23,5	12,9 \pm 1,3*** 11,7 - 14,9	4,0 \pm 0,5* 3,2 - 4,8	211,9 \pm 14,0** 194,8 - 234,6
SAL-Mb	63,1 \pm 1,2*** 61,4 - 64,5	22,5 \pm 1,6* 20,3 - 24,9	10,7 \pm 2,9*** 7,1 - 14,6	3,5 \pm 0,8*** 2,5 - 4,7	192,9 \pm 27,9*** 151,0 - 230,3
TRSa	61,3 \pm 1,0 ^{ns} 59,5 - 62,7	18,6 \pm 5,3*** 12,2 - 25,2	10,0 \pm 3,2*** 5,7 - 14,1	4,7 \pm 1,9* 2,8 - 8,6	169,6 \pm 9,6 ^{ns} 152,6 - 180,7
TR Sb	65,2 \pm 1,2*** 63,7 - 66,5	16,5 \pm 4,6*** 13,1 - 23,5	12,0 \pm 3,3*** 7,4 - 14,9	5,2 \pm 0,4 ^{ns} 4,7 - 5,7	179,4 \pm 44,5*** 123,1 - 230,4

Nivel de significación: n.s: no significativo, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

Los valores obtenidos en la determinación de la composición mineral de los productos analizados se muestran en la tabla III.10. Las concentraciones de calcio, sodio, magnesio y potasio fueron considerablemente mayores que las publicadas por la USDA (2007) para los correspondientes pescados frescos. Este hecho se debe principalmente a la pérdida de agua durante el proceso, que implica una concentración del contenido mineral. Además, la incorporación de sal, conlleva un incremento en el contenido en sodio del músculo de pescado, siendo éste el mineral encontrado en mayor proporción, seguido por el potasio. La anchoa ahumada mostró las mayores concentraciones de Ca, Na, Mg y K. El incremento en el contenido en calcio y magnesio, podría deberse también a que las sales marinas, que son las más comúnmente empleadas en el procesado del pescado, a menudo contienen iones de calcio y magnesio como principales impurezas, con contenidos que varían desde 1 a 15 g/Kg (Lauritzen *et al.*, 2004).

Tabla III.10. Contenido en calcio, sodio, magnesio y potasio en las muestras de pescado ahumado/marinado. Valores promedio \pm SD de los tres lotes, y valores extremos (n=9). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.

Producto	Ca (mg/100 g)	Na (mg/100 g)	Mg (mg/100 g)	K (mg/100 g)
ANE	228 \pm 62 ^{ns} 130 - 316	3124 \pm 498 ^{ns} 2338 - 3765	97 \pm 34 ^{***} 71 - 157	519 \pm 48 ^{ns} 445 - 575
ELE	28,22 \pm 6,00 ^{ns} 21,69 - 36,04	497 \pm 349 ^{ns} 428 - 541	23 \pm 8 ^{**} 16 - 36	171 \pm 36 ^{ns} 111 - 207
HER	97 \pm 6 ^{ns} 90 - 104	2367 \pm 214 ^{ns} 2157 - 2764	16 \pm 2 ^{ns} 13 - 19	284 \pm 27 ^{ns} 254 - 326
TUS	78 \pm 4 ^{ns} 72 - 85	1476 \pm 452 ^{**} 986 - 2105	21 \pm 3 ^{ns} 16 - 28	246 \pm 9,63 ^{ns} 231 - 265
CODa	76 \pm 10 ^{ns} 60 - 88	1506 \pm 241 [*] 1301 - 1928	41 \pm 7 ^{ns} 35 - 57	455 \pm 60 ^{ns} 366 - 505
CODb	63 \pm 5 ^{ns} 56 - 70	1825 \pm 651 ^{***} 968 - 2690	40 \pm 18 ^{***} 23 - 67	428 \pm 74 ^{ns} 511 - 281
BSS	25 \pm 14 ^{**} 14 - 55	1507 \pm 990 ^{**} 823 - 2944	32 \pm 8 ^{**} 13 - 37	383 \pm 40 ^{**} 319 - 435
BRA	61 \pm 11 ^{**} 49 - 79	1282 \pm 68 ^{**} 1173 - 1355	55 \pm 15 ^{***} 32 - 73	295 \pm 49 ^{**} 214 - 379
SWO	89 \pm 6 [*] 74 - 96	1665 \pm 133 [*] 1802 - 1436	20 \pm 7 ^{**} 13 - 32	513 \pm 61 ^{ns} 421 - 609
SAL-Sa	36 \pm 8 ^{ns} 20 - 47	1144 \pm 141 ^{ns} 920 - 1348	31 \pm 4 ^{ns} 26 - 36	398 \pm 73 ^{ns} 287 - 478
SAL-Sb	39 \pm 7 [*] 29 - 50	1366 \pm 221 ^{**} 1051 - 1649	31 \pm 6 [*] 26 - 32	312 \pm 37 ^{**} 270 - 374
SAL-Ma	19 \pm 7 ^{ns} 12 - 36	5286 \pm 526 ^{ns} 4798 - 5908	56 \pm 17 ^{ns} 45 - 69	254 \pm 39 ^{ns} 191 - 289
SAL-Mb	93 \pm 8 [*] 81 - 106	951 \pm 326 ^{***} 524 - 1352	55 \pm 9 ^{ns} 37 - 66	477 \pm 53 ^{ns} 406 - 485
TRSa	75 \pm 50 [*] 31-116	1504 \pm 979 ^{**} 716 - 3295	46 \pm 28 ^{ns} 29 - 108	296 \pm 48 ^{**} 233 - 370
TR Sb	40 \pm 12 ^{ns} 27 - 55	973 \pm 696 ^{***} 48 - 1547	42 \pm 5 ^{ns} 37 - 44	368 \pm 29 ^{ns} 322 - 404

Nivel de significación: n.s: no significativo, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

4.2.2. Efecto del lote de adquisición del producto sobre la composición centesimal y valor nutricional

En la tabla III.9 se pueden observar los resultados obtenidos en el ANOVA realizado considerando como factor el lote de compra y como variables dependientes los contenidos en humedad, proteínas, lípidos, cenizas y valor energético, respectivamente con el objeto de ver si existían diferencias significativas entre lotes de un mismo producto.

Respecto al contenido en humedad, se encontraron diferencias significativas en todas las muestras, excepto en una de las marcas de trucha ahumada (TRSa). El atún ahumado (TUS) mostró las mayores diferencias ($p < 0,001$) entre lotes de compra (mín. 58,6 – máx. 66,2% p/p).

En relación al contenido proteico, las únicas muestras que no mostraron diferencias entre lotes fueron ELE, BSS, SWO y SAL-Ma. Se encontraron diferencias significativas también en el contenido lipídico de los diferentes lotes, en todas las muestras, excepto en HER, CODa y CODb.

Las diferencias observadas en todos los componentes, especialmente en los contenidos proteico y lipídico, entre lotes de un mismo producto, serían debidas a la variabilidad dentro de una misma especie causada por la edad, estación, madurez sexual, acceso al alimento, composición del mismo y las condiciones físicas experimentadas por el individuo (Børresen, 1992; Espe *et al.*, 2001; Gejdrem, 1997). Sin embargo, las diferencias observadas en los contenidos en humedad y cenizas podrían estar estrechamente relacionadas con las condiciones de ahumado/marinado, especialmente con la intensidad de salado y/o secado. Como consecuencia de esta variabilidad en la composición, los valores energéticos de los lotes fueron también significativamente diferentes.

La materia prima empleada en el proceso en algunos casos es congelada, como sucede en el caso del salmón ahumado, lo que permite al productor disponer de materia prima cuando lo exige la demanda del producto final, o como sucede en el caso del pescado ahumado en frío, donde la materia prima

deber ser congelada para eliminar problemas con ciertos parásitos (Montero *et al.*, 2003). Sin embargo, en la información suministrada en los envases de los productos ahumados/marinados, no apareció ninguna referencia sobre si la materia prima era fresca o congelada o incluso fresca y congelada indistintamente dependiendo de la disponibilidad del pescado en el mercado. Por esta razón, fue imposible establecer ninguna correlación entre el lote o la fecha de compra y la fecha de captura del pescado, lo que podría determinar la composición del producto ahumado/marinado ya que, tal y como se ha comentado anteriormente, la composición química del músculo de pescado se ve afectada por la estación del año, la edad y madurez sexual de cada individuo.

Debe también considerarse el efecto de la composición y disponibilidad del alimento, estado nutricional y peso de cada individuo, sobre la composición química del músculo. En este sentido, el empleo de pescado de piscifactoría podría minimizar las diferencias encontradas en el músculo de pescado de origen salvaje, permitiendo de esta forma a los productores tener acceso a una materia prima de calidad uniforme a lo largo de todo el año (Cardinal *et al.*, 2001). Sin embargo, en el caso de los productos ahumados de salmón y trucha, ambos de origen acuícola, se encontraron también diferencias en la composición química entre los diferentes lotes, especialmente respecto al contenido lipídico. Esta circunstancia podría ser debida al empleo de materia prima de diferentes piscifactorías, donde las condiciones de crianza pudieran ser diferentes. Estas variaciones podrían ser también debidas a distintas condiciones de sacrificio, envasado y transporte.

En relación al contenido en cenizas, hay que señalar que todas las muestras presentaron diferencias significativas entre lotes, excepto en el caso de ELE, TUS, SWO y TRSb. Hay que destacar las diferencias encontradas en la lubina ahumada, donde el contenido máximo en cenizas (9,3% p/p) fue más de cuatro veces superior al valor mínimo (2,1% p/p).

Respecto a la composición mineral, en la tabla III.10 se muestran los resultados obtenidos en el ANOVA realizado considerando como factor el lote de compra y como variables dependientes los contenidos en calcio, sodio, magnesio y potasio, respectivamente, con el objeto de ver si existían diferencias significativas entre lotes de un mismo producto. En general, se observaron importantes variaciones entre lotes, las cuales podrían ser atribuidas a las diferencias encontradas en el contenido en sal y humedad.

4.3. Caracterización fisico-química

4.3.1. Efecto de la especie de pescado sobre algunos parámetros fisico-químicos

Los contenidos en cloruro sódico y sacarosa, valores de pH, a_w y CRA de las muestras de los diferentes pescados ahumados y marinados se muestran en la tabla III.11.

Tabla III.11. Parámetros físico-químicos en las muestras de pescado ahumado/marinado. Valores promedio \pm SD de los tres lotes y valores extremos (n=9). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.

Producto	NaCl (g/100 g)	Sacarosa (g/100 g)	pH	a_w	CRA (g H₂O retenida /100 g H₂O)
ANE	9,11 \pm 2,23** 7,16-11,86	NC ¹	7,41 \pm 0,09* 7,28-7,51	0,911 \pm 0,025*** 0,875-0,932	0,83 \pm 0,03 ^{ns} 0,78-0,90
ELE	1,57 \pm 0,38*** 1,25-2,13	ND ¹	6,14 \pm 0,12*** 6,06-6,30	0,971 \pm 0,004*** 0,966-0,975	0,72 \pm 0,01** 0,60-0,85
HER	5,18 \pm 1,01*** 3,98-6,65	0,66 \pm 1,7 ^{ns} 0,45-0,87	5,23 \pm 0,1*** 5,09-5,33	0,932 \pm 0,003*** 0,928-0,935	0,47 \pm 0,10** 0,33-0,58
TUS	2,91 \pm 1,31*** 1,48-4,60	0,21 \pm 0,16 ^{ns} 0,03-0,47	5,66 \pm 0,16* 5,38-5,87	0,938 \pm 0,015*** 0,922-0,958	0,87 \pm 0,03*** 0,84-0,91
CODa	3,00 \pm 0,69 ^{ns} 2,12-3,92	0,29 \pm 0,2*** 0,08-0,57	6,49 \pm 0,04*** 6,43-6,53	0,964 \pm 0,003** 0,960-0,969	0,81 \pm 0,05 ^{ns} 0,70-0,86
CODb	3,48 \pm 0,66** 2,65-4,46	NC ²	7,11 \pm 0,26 ^{ns} 6,61-7,44	0,963 \pm 0,02 ^{ns} 0,962-0,966	0,86 \pm 0,12 ^{ns} 0,81-0,93
BSS	3,50 \pm 1,82*** 1,95-5,96	ND ¹	7,15 \pm 0,44*** 6,60-7,65	0,963 \pm 0,018*** 0,938-0,976	0,84 \pm 0,04 ^{ns} 0,78-0,91
BRA	3,44 \pm 0,76*** 2,67-4,62	0,29 \pm 0,06** 0,21-0,35	6,05 \pm 0,03*** 6,00-6,08	0,960 \pm 0,06*** 0,951-0,902	0,81 \pm 0,06** 0,73-0,90
SWO	3,40 \pm 0,90*** 2,02-4,47	0,04 \pm 0,03 ^{ns} 0,02-0,09	6,22 \pm 0,50*** 5,57-6,71	0,958 \pm 0,01*** 0,941-0,967	0,86 \pm 0,09*** 0,75-0,97
SAL-S a	3,37 \pm 0,95*** 2,56-4,69	0,22 \pm 0,85 ^{ns} 0,12-0,31	6,30 \pm 0,06** 6,20-6,37	0,950 \pm 0,011*** 0,934-0,964	0,86 \pm 0,05** 0,79-0,95
SAL-Sb	2,97 \pm 0,54*** 2,5-3,76	NC ²	6,28 \pm 0,02** 6,26-6,31	0,961 \pm 0,09*** 0,948-0,968	0,84 \pm 0,02* 0,79-0,86
SAL-Ma	2,66 \pm 0,56*** 2,01-3,56	0,43 \pm 0,2** 0,13-0,81	6,17 \pm 0,17*** 5,94-6,31	0,970 \pm 0,008*** 0,960-0,976	0,79 \pm 0,04** 0,72-0,84
SAL-Mb	2,38 \pm 0,72*** 1,517-3,394	0,07 \pm 0,05*** 0,02-0,18	6,41 \pm 0,13*** 6,22-6,53	0,960 \pm 0,004*** 0,954-0,965	0,83 \pm 0,10 ^{ns} 0,78-0,85
TRSa	2,90 \pm 1,12*** 1,69-4,63	0,05 \pm 0,02** 0,01-0,08	6,18 \pm 0,15*** 5,99-6,36	0,956 \pm 0,014*** 0,936-0,968	0,85 \pm 0,04* 0,79-0,90
TRSB	3,09 \pm 3,82** 3,09-3,82	NC ²	6,41 \pm 0,01 ^{ns} 6,40-6,43	0,958 \pm 0,005 0,950-0,966	0,86 \pm 0,02 ^{ns} 0,88-0,83

Nivel de significación: n.s: no significativo, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

¹ ND: no detectado; ² NC: no contiene.

El contenido en cloruro sódico es uno de los parámetros más importantes para los pescados ahumados y marinados, ya que además de afectar directamente al sabor y textura del producto, contribuye a prolongar la vida útil del pescado. Los contenidos de sal de las muestras estudiadas fueron variables, dependiendo del producto analizado (tabla III.11). La anchoa ahumada mostró los mayores valores (9,11% p/p) seguido por el arenque ahumado (5,18% p/p), mientras que el valor más bajo fue 1,57% (p/p) para la anguila ahumada. El resto de muestras presentaron valores que oscilaron entre 2,38% y 3,50% (p/p), lo que coincide con las nuevas tendencias de los productos de la pesca ahumados en frío, los cuales se caracterizan por ser productos ligeramente salados (desde 2,5% hasta 6% p/v (fase líquida)) y una humedad elevada (entre el 45% y el 70% p/p) (Indrasena *et al.*, 2000; Sigurgisladottir *et al.*, 2000). Por otra parte, la sal potencia la oxidación lipídica via hierro-activación; los iones sodio desplazan el hierro libre para la catálisis de la oxidación lipídica (Kanner *et al.*, 1991; Liu *et al.*, 1997). Debido a la relación entre la sal y la oxidación lipídica, cabría esperar que las especies grasas de pescado fueran saladas con menor intensidad que las especies magras, con el fin de evitar las reacciones de oxidación. Además, hay que considerar que la presencia de lípidos en el músculo de pescado supone una barrera física a la difusión de sal, por lo que la ganancia de sal se vería ralentizada en los pescados grasos. Con el objeto de comprobar si existía alguna relación entre el contenido lipídico y la concentración de sal de los productos estudiados, se llevaron a cabo dos análisis de regresión simple, uno de ellos considerando la relación entre el contenido graso y el porcentaje de sal (%NaCl p/p) en la muestra y el otro entre el contenido graso y la concentración de sal en fase líquida (%NaCl p/v).

A partir de los resultados obtenidos en el análisis estadístico, no se pudo establecer satisfactoriamente ningún tipo de correlación entre el contenido en grasa y el de sal ($r=-0,278$, $p<0,01$ para %NaCl y $r=-0,149$, $p>0,05$ para sal en la fase líquida).

Respecto al contenido en sacarosa, las únicas muestras que no contenían azúcar en su composición fueron ANE, CODb, SAL-Sb y TRSb (tabla III.11), tal y como estaba indicado en sus correspondientes etiquetas (tabla III.8). Sin embargo, en las muestras ELE y BSS, cuya formulación sí incluía azúcar como ingrediente (tabla III.8), no se detectó la presencia de sacarosa en los análisis realizados (tabla III.9). Respecto al contenido en sacarosa, se encontraron diferencias significativas ($p < 0,001$) entre los diferentes productos, oscilando los valores medios entre 0,04% (p/p) para SWO y 0,66% (p/p) para HER.

Los valores de pH mayores correspondieron a ANE, CODb y BSS (7,41, 7,11 y 7,15, respectivamente), mientras que HER y TUS presentaron valores considerablemente más bajos (5,23 y 5,66, respectivamente). En general, los procesos de ahumado y marinado provocan una reducción en los valores de pH, con relación al del pescado fresco. El descenso del pH en músculo del pescado, que se produce como consecuencia de la adición de sal, se debe al incremento en la fuerza iónica de la disolución intracelular, siendo este descenso de pH lineal con el aumento de sal en las muestras (Leroi y Jofraud, 2000).

Los bajos valores de pH observados en las muestras de arenque ahumado, podrían ser atribuidos al ácido ascórbico, incorporado en la formulación como agente antioxidante (tabla III.8), debido al elevado contenido lipídico de esta especie de pescado. 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).

La larga vida útil de este tipo de productos, se debería, por tanto, al efecto combinado de diferentes factores, como la reducción en los valores de a_w , el efecto bactericida y antioxidante del humo y/o las especias empleadas en el proceso de marinado, unido al envasado a vacío y el almacenamiento en refrigeración.

Respecto a los valores de a_w , se encontraron valores muy bajos comparando con los del pescado fresco (0,980 a 0,990) (Christian, 1980), debido principalmente al incremento en la concentración de sal en la fase líquida, lo que conduciría a un incremento en la vida útil del producto. Los valores de este parámetro oscilarían entre 0,911 y 0,971, lo que se corresponde con las muestras con mayor y menor concentración de sal, respectivamente. De la misma forma, la variabilidad observada entre muestras, podría estar relacionada con los diferentes contenidos en sal comentados anteriormente.

Una de las cualidades del pescado más apreciadas por el consumidor es la jugosidad, la cual está directamente relacionada con la capacidad de retención de agua (CRA) (Huss, 1988). Se ha encontrado que las variaciones en la CRA están relacionadas con los valores de pH y con modificaciones en la proteína del músculo, así, un aumento en el pH del músculo provocaría el descenso en los valores de CRA y, por tanto, una mayor formación de exudado. Este hecho, podría sugerir que este parámetro está ligado al crecimiento bacteriano y, por consiguiente, al deterioro del pescado (Pastoriza *et al.*, 1997). Sin embargo, Rustad (1992) encontró una relación, de manera que cuanto mayor era el pH pescado fresco el valor de CRA era también mayor.

Todos los productos analizados presentaron valores de CRA similares, que oscilaron entre 0,72 y 0,87 (g agua retenida/g agua) para las muestras ELE y TUS respectivamente, excepto el arenque ahumado cuyos valores fueron significativamente menores a los del resto de muestras (0,47 g agua retenida/g agua). Hay que señalar también que, tal y como se ha mostrado anteriormente, esta muestra presentó valores de pH mucho menores que el resto. Sin embargo, en este estudio, no se encontró ningún tipo de correlación entre los valores de CRA y pH (datos de la regresión no mostrados) en los productos ahumados/marinados, por lo que las diferencias encontradas entre los diferentes productos podrían ser atribuidas a variaciones en las características de la materia prima.

4.3.2. Efecto del lote de adquisición del producto sobre algunos parámetros físico-químicos

Respecto al contenido en NaCl, se encontraron diferencias significativas entre los tres lotes para todos los productos, excepto en CODa, siendo estas diferencias especialmente importantes en el caso de TUS, BSS, SAL-Mb y TRSa, donde los valores máximos fueron dos veces mayores al mínimo. Estas diferencias podrían afectar tanto a la vida útil del producto, como a sus características sensoriales, por lo que sería interesante emplear procedimientos de salado que permitieran obtener productos con un contenido de sal constante y, por tanto, asegurar que los productos que llegan al consumidor sean homogéneos y seguros. En este sentido, Truelstrup Hansen (1995) mostró que en muestras procesadas de la misma forma y almacenadas bajo las mismas condiciones, pero con una concentración de sal diferente (concentración de NaCl en la fase líquida de 4,6 y 2,2% p/v), aquellas muestras con la concentración de sal mayor, fueron aceptables durante al menos 2-3 semanas más que las muestras elaboradas con la cantidad de sal más baja.

Como consecuencia de las diferencias encontradas respecto a los valores de humedad y sal, se produjo una importante variabilidad también en los valores de a_w entre lotes, lo que tendría implicaciones sobre los aspectos relacionados con la seguridad de estos productos. Por ejemplo, en el caso de la anchoa ahumada, su contenido en sal varió desde el 7,16% (p/p) hasta el 11,86% (p/p), lo que se tradujo en un amplio rango de valores de a_w (desde 0,875 hasta 0,932).

Establecer una correlación entre %NaCl o a_w y el tiempo de vida útil de productos que han sido elaborados por industrias diferentes sería imposible, debido al importante número de factores implicados, tales como material de envasado, método de elaboración, número y tipo de microorganismos, número de ciclos de congelado y descongelado, y calidad de la materia prima (Truelstrup Hansen *et al.*, 1998). Sin embargo, esta correlación resultaría útil para comparar productos procesados bajo idénticas condiciones, en este

sentido, Truelstrup Hansen *et al.* (1995) mostró un incremento en la vida útil del salmón ahumado cuando los niveles de sal aumentaron, tal y como se ha comentado anteriormente. Estos resultados apoyarían la importancia de asegurar que los productos presenten un contenido de sal homogéneo entre los diferentes lotes de una misma muestra, para establecer una vida útil más adecuada para cada producto.

No se encontraron diferencias en el contenido en sacarosa entre lotes en HER, TUS, SWO y SAL-Ma.

Respecto a los valores de pH, cabe destacar que se encontraron diferencias significativas entre lotes de una misma muestra en todos los casos, excepto en CODb y TRSb. Considerando que las diferencias en los valores de pH dependen de varios aspectos como la especie, alimentación, época del año, etc., podría esperarse que el pescado procedente de piscifactoría, el cual generalmente es criado y sacrificado bajo las mismas condiciones, mostrara valores de pH similares entre lotes, o que al menos estos valores estuvieran relacionados con el tiempo de vida útil que resta hasta su caducidad y/o con %NaCl. Se empleó una regresión múltiple (mediante la selección de variables hacia adelante) para cada uno de los productos (excepto para aquellas muestras donde no hubo diferencias significativas entre lotes), considerando como variable dependiente el pH y como independientes el tiempo de vida útil restante y %NaCl, con el establecer una posible correlación en este tipo de productos. Los valores de R^2 para todos los pescados estudiados oscilaron entre 0,70 y 0,99, excepto para ELE cuyo valor fue igual a 0,44. Se observaron los mejores ajustes en las muestras elaboradas a partir de pescados que procedían de acuicultura (R^2 entre 0,81 y 0,99). Estos valores muestran que hubo una fuerte correlación entre el pH, el tiempo vida útil y el contenido en sal de las muestras, especialmente en los productos elaborados con pescados procedentes de piscifactoría.

4.4. Efecto global de la especie de pescado y lote de adquisición del producto sobre la composición centesimal, valor nutricional y parámetros fisico-químicos

A partir de los datos obtenidos en los análisis fisico-químicos se llevó a cabo un análisis multivariante *Cluster*. En el *dendograma* obtenido (figura III.2), las muestras aparecen agrupadas en siete grupos o clusters diferentes, lo que coincide con los grupos que cabría esperar en función de las similitudes en sus atributos. En este sentido, el primer *cluster* agrupó todas las muestras de trucha y salmón, excepto el SAL-Mb (*cluster* 4), siendo este el único producto de todos los analizados, que no incluía aromas de humo en su formulación. Todos los productos incluidos en este cluster presentaron un contenido lipídico similar (entre el 10% al 13% p/p) y por tanto un elevado valor energético. Los productos reunidos en el *cluster* 3 (ambas marcas de bacalao ahumado, lubina, palometa y pez espada) correspondieron a aquellas muestras con el contenido lipídico más bajo y mayor humedad. El resto de muestras aparecieron sin agruparse en el *dendograma* (*clusters* 2 (TUS), 4 (SAL-Ma), 5 (ELE), 6 (HER) y 7 (ANE)). Hay que destacar que las características fisico-químicas del arenque ahumado (*cluster* 5) fueron significativamente diferentes a las medidas en el resto de productos ahumados, mostrando el mayor contenido lipídico, el valor más bajo en humedad y sal, y el mayor valor en a_w . El *cluster* 7 (ANE) por su parte, se caracterizó por presentar el valor más alto de pH y contenido en sal, así como un valor significativamente inferior en a_w al resto de muestras, lo que podría ser debido a la alta intensidad en las condiciones de salado/ahumado.

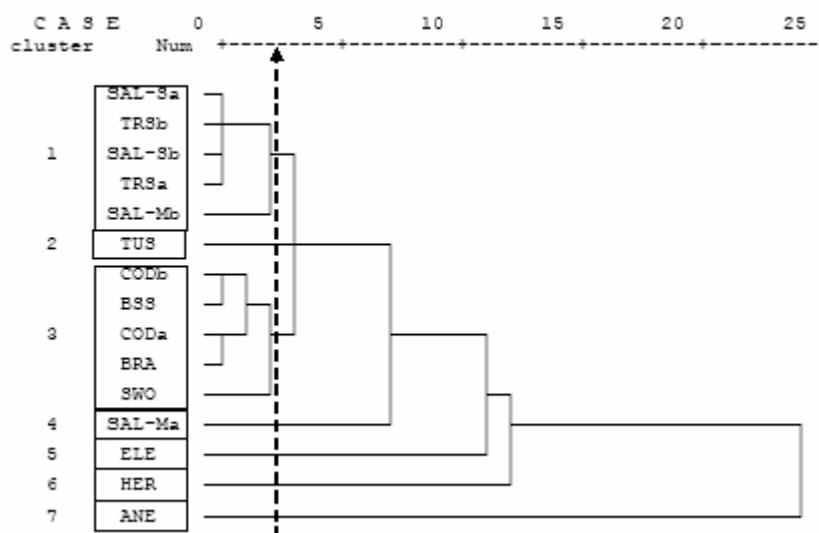


Figura III.2. Dendrograma obtenido a partir del Análisis Cluster Jerárquico realizado con los datos relativos a la composición y características fisico-químicas de los productos ahumados y marinados. Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.

4.5. Estudio del color

4.5.1. Efecto de la especie de pescado sobre el color

Uno de los criterios de compra más importantes para los consumidores es la apariencia del producto, solo después del tiempo de vida útil que resta hasta la fecha de caducidad (Røra *et al.*, 2004). En este sentido, (Torrissen *et al.*, 2000) mostraron que el color del pescado es el principal aspecto de calidad para los consumidores de salmón ahumado, en los mercados alemanes y franceses.

Los mayores esfuerzos de la industria de alimentos han ido orientados hacia el envasado de los productos, para que estos resulten lo más atractivos posibles para el consumidor. En los productos ahumados, es importante que el envase esté diseñado de tal forma que el pescado sea claramente visible por el

consumidor, y es en este sentido, donde el color tiene un especial interés. Uno de los aspectos que mayor efecto posee sobre el color percibido por el consumidor, es el fondo del envase donde el producto es presentado. Con el objeto de obtener una medida del color lo más próxima posible al color que percibe el consumidor antes de la compra, las determinaciones de color se realizaron directamente en el área del filete que el consumidor veía a través de la ventana transparente del envase, empleando el fondo del envase que traía cada producto.

Los valores correspondientes a las coordenadas psicométricas CIE $L^*a^*b^*$, tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) se muestran en la tabla III.12

Tabla III.12. Coordenadas de color en las muestras de pescado ahumado/marinado. L*: luminosidad, a*: rojo-verde, b*: amarillo-azul, C_{ab}*: croma, h_{ab}*: tono. Valores promedio ± SD de los tres lotes y valores extremos (n=18). Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.

Producto	L*	a*	b*	C _{ab} *	h _{ab} *
ANE	20,87 ± 3,07*** 16,23 - 27,82	-17,98 ± 6,61*** -27,02 - -8,59	1,13 ± 0,86*** -3,32 - 8,13	15,60 ± 7,01*** 8,77 - 24,70	3,94 ± 7,15*** -3,79 - 24,70
ELE	40,92 ± 4,12*** 33,43 - 48,91	-28,68 ± 10,38*** -46,78 - -16,44	3,26 ± 6,13*** -4,58 - 10,94	29,35 ± 10,77** 16,66 - 47,85	-0,98 ± 5,05*** -6,08 - 6,68
HER	36,6 ± 6,59*** 29,87 - 46,74	-28,01 ± 13,86*** -49,38 - 17,23	3,63 ± 9,41*** -3,4 - 17,54	29,45 ± 15,13*** 17,45 - 52,17	3,32 ± 4,50*** -2,92 - 8,86
TUS	24,19 ± 6,60*** 16,44 - 37,61	0,99 ± 5,49*** -7,37 - 13,32	3,54 ± 4,15*** -4,98 - 13,12	7,32 ± 2,79 ^{ns} 1,32 - 16,13	-0,54 ± 3,75** -17,10 - 1,95
CODa	38,20 ± 2,56 ^{ns} 34,62 - 42,25	-26,74 ± 2,41 ^{ns} -31,23 - -23,09	-5,10 ± 1,32 ^{ns} -7,12 - 2,28	27,07 ± 2,57 ^{ns} 19,23 - 32,03	5,44 ± 1,48** 4,02 - 10,85
CODb	40,18 ± 2,89* 33,02 - 44,17	-26,23 ± 4,3*** -30,38 - -16,22	-3,62 ± 4,10*** -7,51 - 2,74	26,74 ± 4,58*** 16,79 - 31,15	-0,53 ± 7,32*** -13,70 - 5,87
BSS	39,99 ± 5,73*** 33,54 - 50,52	-30,24 ± 1,06*** -50,25 - -18,03	1,49 ± 5,04*** -6,33 - 8,45	31,26 ± 12,65*** 18,29 - 50,68	-3,77 ± 6,34*** -21,04 - 5,01
BRA	21,9 ± 1,43 ^{ns} 19,85 - 24,11	8,26 ± 3,01 ^{ns} 4,67 - 14,07	9,41 ± 1,94*** 6,24 - 12,13	12,45 ± 3,23** 6,07 - 17,26	0,37 ± 0,85 ^{ns} -3,52 - 1,16
SWO	39,76 ± 7,52*** 33,19 - 51,73	-27,17 ± 13,39*** -47,05 - -14,83	4,11 ± 6,47*** -3,52 - 13,37	27,22 ± 14,01*** 15,33 - 48,80	-0,91 ± 5,13*** -7,50 - 6,61
SAL-Sa	20,33 ± 1,65* 17,02 - 24,06	2,30 ± 3,78*** -4,01 - 10,03	3,51 ± 3,09*** -2,45 - 10,63	5,72 ± 3,75*** 0,96 - 14,61	0,36 ± 2,99** -6,28 - 9,17
SAL-Sb	25,17 ± 3,8*** 18,24 - 31,25	-3,25 ± 8,82*** -16,78 - 8,82	9,92 ± 1,47*** 4,6 - 16,86	12,85 ± 5,65*** 5,40 - 21,9	-0,24 ± 3,20 ^{ns} -12,93 - 6,71
SAL-Ma	30,73 ± 8,18*** 18,65 - 41,81	-2,33 ± 12,60*** -20,59 - 14,38	14,79 ± 5,63*** 2,72 - 26,45	18,88 ± 7,25*** 4,77 - 30,10	-0,56 ± 0,74 ^{ns} -2,40 - 0,61
SAL-Mb	27,69 ± 8,89*** 17,97 - 43,54	-11,68 ± 12,30*** -30,9 - 7,58	8,47 ± 7,57*** -0,03 - 21,81	16,48 ± 13,21*** 3,70 - 40,25	8,29 ± 51,12 ^{ns} -7,33 - 278,66
TRSa	22,2 ± 3,52*** 17,93 - 28,45	1,81 ± 8,83 ^{ns} -14,81 - 13,42	11,36 ± 4,04*** 6,25 - 18,47	14,36 ± 4,53*** 6,84 - 21,47	0,02 ± 0,82** -2,84 - 0,97
TR Sb	22,31 ± 3,85*** 17,67 - 30,0	3,55 ± 9,11*** -13,12 - 14,26	12,57 ± 2,78 ^{ns} 6,75 - 16,33	15,33 ± 3,72 ^{ns} 9,25 - 2,41	0,21 ± 0,31** -0,73 - 0,68

Nivel de significación: n.s: no significativo, * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

Debido a la dificultad para evaluar individualmente cada uno de los parámetros de color, se realizó un análisis discriminante considerando como factor, el producto ahumado/marinado y como variables, los parámetros de color L*, a* y b*. A partir de este análisis se obtuvieron tres funciones discriminantes, de las cuales las dos primeras funciones (F1 y F2) explicaron el 97% de la variabilidad de los datos (F1 el 87,26% y F2 el 9,74%) (tabla III.13).

Tabla III.13. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura III.3.

Función	Valor propio	% varianza	Correlación canónica	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado	GL	p
1	7,63182	87,26	0,94029	0,0495414	1298,1369	42	0,0000
2	0,851797	9,74	0,67822	0,427633	366,9800	26	0,0000

La contribución relativa de cada variable a la formación de ambas funciones se muestra a través de los coeficientes estandarizados (tabla III.14). La variable con más peso en la F1 fue la intensidad de amarillo (b*), mientras que para la segunda función (F2) fue la luminosidad (L*).

Tabla III.14. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes.

Coordenadas de color	Función	
	F1 (87,26%)	F2 (9,74%)
L*	-0,87254	1,33817
a*	0,434124	1,18436
b*	1,09915	0,158841

La figura III.3 muestra la representación de las dos funciones discriminantes. La F1 determinó la agrupación de las muestras en tres grupos diferenciados (A, B y C). En el lado negativo del eje se localizaron el arenque, bacalao (a y b), lubina y pez espada (grupo A), mientras que la anchoa, atún y

uno de las marcas de salmón marinado (SAL-Mb) se localizaron a lo largo de la línea vertical que cruza el eje por su origen (grupo C). El resto de muestras (grupo B), donde se agruparon las muestras de palometa, trucha y salmón (ahumados y marinado marca a), se situaron en la zona positiva del eje. Puede observarse cómo la F1 determinó principalmente la separación de los grupos A y B, los que eran, de hecho, visualmente muy diferentes. El grupo A reunió las muestras con coloraciones blanquecinas y amarillentas, mientras que el grupo B consistió en las muestras con tonalidades rojizas. Por otro lado, dentro del grupo C, la F2 permitió diferenciar entre las muestras de anchoa y atún ahumado.

Es destacable la dispersión de los datos correspondientes a las muestras marinadas, principalmente debido a la presencia de especias en la superficie del filete, lo que afectó de manera importante a las medidas de color.

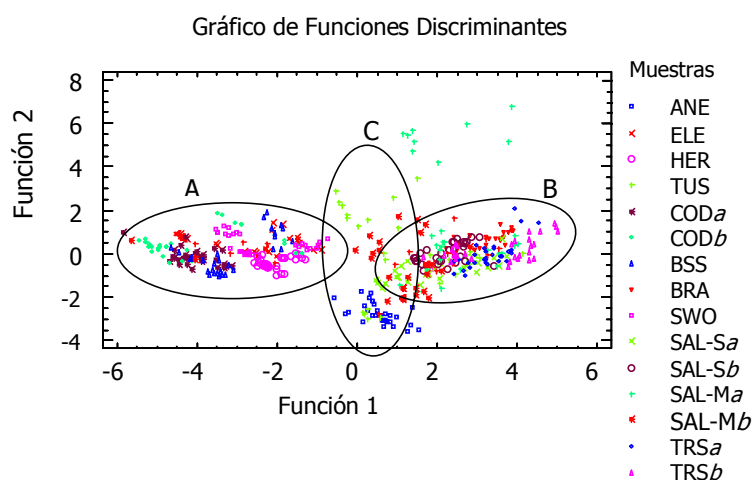


Figura III.3. Representación de las dos funciones discriminantes para las muestras de pescado ahumado y marinado. Códigos de producto mostrados en la tabla III.8.

4.5.2. Efecto del lote de adquisición del producto sobre el color

En el estudio de las coordenadas de color, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros de color entre los diferentes lotes de un mismo producto (tabla III.12). La alta variabilidad observada podría atribuirse a diferentes aspectos; por un lado, los aspectos intrínsecos del producto, como el grosor de las lonchas, el color del fondo del envase, procedencia de la loncha dentro del filete, efecto de la luz durante el almacenamiento, etc., lo que podría provocar variaciones dependiendo de la muestra, e incluso variaciones dentro de una misma loncha. En este sentido, uno de los principales aspectos a considerar es el espesor de la loncha y su disposición dentro del envase, ya que sus características translúcidas permiten percibir parcialmente el color del fondo del envase. Por este motivo, si las lonchas se encontraban unas sobre otras o si éstas estaban dispuestas directamente sobre el material de envasado, el color percibido y, por tanto también el medido sería diferente. Este hecho contribuyó directamente a la gran variabilidad entre lotes, así como entre diferentes puntos dentro de un mismo filete.

El color característico de la carne de cada pescado podría estar también influenciado por otros aspectos, como la madurez sexual y la composición química del músculo (Hatlen *et al.*, 1998). En este sentido, Røra *et al.* (2004), en el estudio de la calidad de salmón ahumado en frío, encontraron importantes diferencias dependiendo de su procedencia, estación del año y empresa de elaboración de ahumados. Por ejemplo, el salmón irlandés era más rojo, más amarillo y oscuro que el salmón noruego y el escocés; las muestras recogidas en primavera fueron las que contenían menos pigmentos, mientras que el salmón recogido en agosto era el que poseía la mayor concentración de éstos. Por otro lado, estos mismos autores encontraron también una correlación significativa entre el contenido lipídico y los valores de los parámetros de color; sin embargo, estas diferencias podrían reducirse por el efecto del proceso de ahumado y marinado sobre las coordenadas de color de la materia prima.

5. CONCLUSIONES

Los productos ahumados y marinados presentes en el mercado español presentan una alta variabilidad respecto a su composición centesimal, así como a otros parámetros (a_w , pH) relacionados con la conservación del pescado.

Las características intrínsecas de las diferentes especies afectan de forma importante a la composición de este tipo de productos.

Las diferencias encontradas en los parámetros directamente relacionados con las condiciones de procesado, como son el contenido en sal, humedad o a_w , entre los diferentes lotes (diferentes fechas de compra) de un mismo producto, señalan la necesidad de estandarizar los parámetros de procesado en función de las características propias de la materia prima.

La variabilidad en el contenido en cloruro sódico y en los valores de a_w afectaría de forma importante a la conservación del producto, modificándose por tanto el periodo de vida útil.

El hecho de estandarizar los parámetros característicos de cada producto permitiría satisfacer las expectativas de los consumidores, quienes esperan que la calidad sensorial del producto se mantenga en compras sucesivas.

IV. DESARROLLO DEL PRODUCTO

IV. DESARROLLO DEL PRODUCTO

IV.1. INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE PIEL EN LA CINÉTICA DE SALADO DE LUBINA (Dicentrarchus labrax L.)

1. INTRODUCCIÓN

El salado es uno de los procesos más antiguos para la conservación del pescado y, aunque su empleo se inició en la antigüedad con el principal objetivo de prolongar la vida útil de los alimentos, su importancia en la actualidad no solo se debe al efecto conservante que la sal ejerce sobre el producto, sino también al sabor y aroma característico de los productos salados. Además, en el caso de algunos alimentos como el pescado, el salado es una etapa previa en procesos como el ahumado, marinado o enlatado.

Durante el salado, se produce simultáneamente en el alimento una pérdida de agua y una ganancia de sal y, como consecuencia de ambos flujos, el producto experimenta una variación de peso. Durante el proceso los solutos difunden desde el agente de salado hacia el producto, mientras que el agua sale del producto, debido a diferencias en la concentración y presión osmótica entre las células y el agente de salado (Barat *et al.*, 2003; Raoult-Wack, 1994; Yao y Le Maguer, 1996).

En el caso del proceso de salado de pescado, las características propias de la materia prima, como son la calidad y composición del músculo o las dimensiones de las piezas de pescado utilizadas, son algunas de las variables que pueden afectar tanto al desarrollo del proceso como a las características del producto final. En este sentido, por ejemplo, las diferentes zonas del pescado presentan un comportamiento distinto frente a la transferencia de componentes durante el salado, en parte debido a los diferentes valores de superficie de contacto y espesor. De igual forma, la presencia de piel en el pescado podría afectar al desarrollo del proceso (Ismail y Wooton, 1982), así por ejemplo, aunque en algunas especies como el bacalao, la piel no supone

una barrera a la transferencia de materia (ni al movimiento de agua ni al de la sal) (Burgess *et al.*, 1967), en otras la piel impide de manera significativa el movimiento de agua y NaCl a través de ella (Gallart-Jornet *et al.*, 2007a).

El proceso de salado ha sido ampliamente estudiado en diferentes especies de pescado, especialmente en salmón, bacalao y arenque entre otros (Andrés *et al.*, 2005a; Barat *et al.*, 2002, 2003, 2006; Gallart-Jornet *et al.*, 2007a,b,c; Wang, *et al.*, 1998, 2000; Zagarramurdi y Lupin, 1980); sin embargo, no existe información relativa al proceso de salado de la lubina.

2. OBJETIVO

El objetivo de este capítulo fue estudiar la influencia de la presencia de piel en los filetes de lubina durante el proceso de salado y evaluar el efecto de la zona de procedencia de la pieza, tamaño (superficie de contacto, espesor y volumen) y peso inicial de la misma, así como el tiempo de salado, en la cinética de salado de la lubina.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima y preparación de la muestra

Se emplearon 21 lubinas (*Dicentrarchus labrax* L.) procedentes de piscifactoría (Andromeda S.A. Farming of Aquatic Organism, Rio Achaia, Grecia), 6 de las cuales fueron utilizadas para determinar la composición inicial media (contenido en humedad (x_0^w), grasa (x_0^f) y cloruro sódico (x_0^{NaCl})) y a_w de la materia prima.

La sal empleada en el proceso de salado fue suministrada por N.C.A. de las Salinas de Torrevieja S.A (Alicante, España). Los datos correspondientes a los análisis físico-químicos de la sal fueron proporcionados por la empresa salinera y se muestran en la tabla IV.1.

Tabla IV.1. Composición fisico-química de la sal empleada en el estudio*.

<i>Análisis</i>	Método	Valores	Límite (R.D.1424/83)
Sodio (%)	calc. matem.	37,488	
Calcio (%)	complexometría	0,149	
Magnesio (%)	complexometría	0,015	
Cloruros (%)	morh	57,924	
Sulfatos (%)	complexometría	0,332	
Residuo insoluble (%)	filt. y dif. de pesada	0,01	0,5
Humedad (%)	pérdida por desecación	4,107	
Sulfato cálcico (%)	calc. matem.	0,470	
Cloruro sódico (%)	calc. matem.	95,350	
Cloruro cálcico (%)	calc. matem.	0,029	
Cloruro magnesio (%)	calc. matem.	0,058	
Cloruro sódico (%) (s.s.s.)	calc. matem.	99,404	Mín. 97
Magnesio (MgO %) (s.s.s.)	calc. matem.	0,026	2
Nitratos y nitritos (ppm N)	espectrofotometría	< 6	20
MICROELEMENTOS			
Mercurio (ppm)	A.A. generador hidruros	< 0,1	0,1 ppm
Plomo (ppm)	Absorción atómica	< 1	2 ppm
Cadmio (ppm)	Absorción atómica	< 0,2	0,5 ppm
Cobre (ppm)	Absorción atómica	< 0,5	2 ppm
Arsénico (ppm)	A.A. generador hidruros	< 0,1	1 ppm

*Análisis realizados por el Colegio Oficial de Farmacéuticos de la provincia de Alicante.

A su llegada al laboratorio, las lubinas fueron medidas (longitud incluyendo la cabeza (L) y anchura (a)) y pesadas (M). A continuación, se lavaron, descabezaron, evisceraron y filetearon, obteniéndose dos filetes a partir de cada pescado. Los filetes se dividieron a su vez, en tres piezas (pieza cercana a la cabeza (P₁), centro (P₂) y cola (P₃)) (figura IV.1). Estas piezas se pesaron (M₀⁰) y midieron, con el fin de determinar la superficie de contacto pescado-sal (A) y el espesor (e). A partir de los valores de superficie y espesor de cada una de las piezas se calculó el volumen (V) de las mismas.

3.2. Procedimiento de salado

El proceso de salado se llevó a cabo en bandejas de dimensiones 26 x 15 x 6 cm, en cuyo fondo se había depositado un lecho de sal, de aproximadamente 2 cm de espesor, sobre el que se colocaron las piezas de lubina. En el estudio del proceso de salado, se seleccionaron 5 intervalos de tiempo diferentes (1, 2, 3, 4 y 6 h), empleándose para cada uno de estos tiempos, los dos filetes que habían sido obtenidos de un mismo pescado, uno de ellos salado apoyando su cara externa o piel (P) sobre el lecho de sal, y el otro por su cara interna o carne (C). Las piezas de lubina se mantuvieron durante todo el proceso en una cámara de refrigeración a 4 °C.

Con el objeto de eliminar los cristales de sal sólida adheridos a la superficie, al finalizar el tiempo de salado, las porciones de pescado fueron cepilladas y lavadas, sumergiéndolas durante 30 s en una salmuera saturada de NaCl ($x^{\text{NaCl}} = 0,26$ p/v), que se encontraba a temperatura ambiente y en constante agitación. A continuación, las piezas se escurrieron, sobre papel absorbente, durante 1 min por cada lado.

Finalmente, las piezas de pescado fueron pesadas (M_t^0) y se determinaron los valores de actividad de agua (a_w) y contenido en humedad (x_t^w) y NaCl (x_t^{NaCl}).

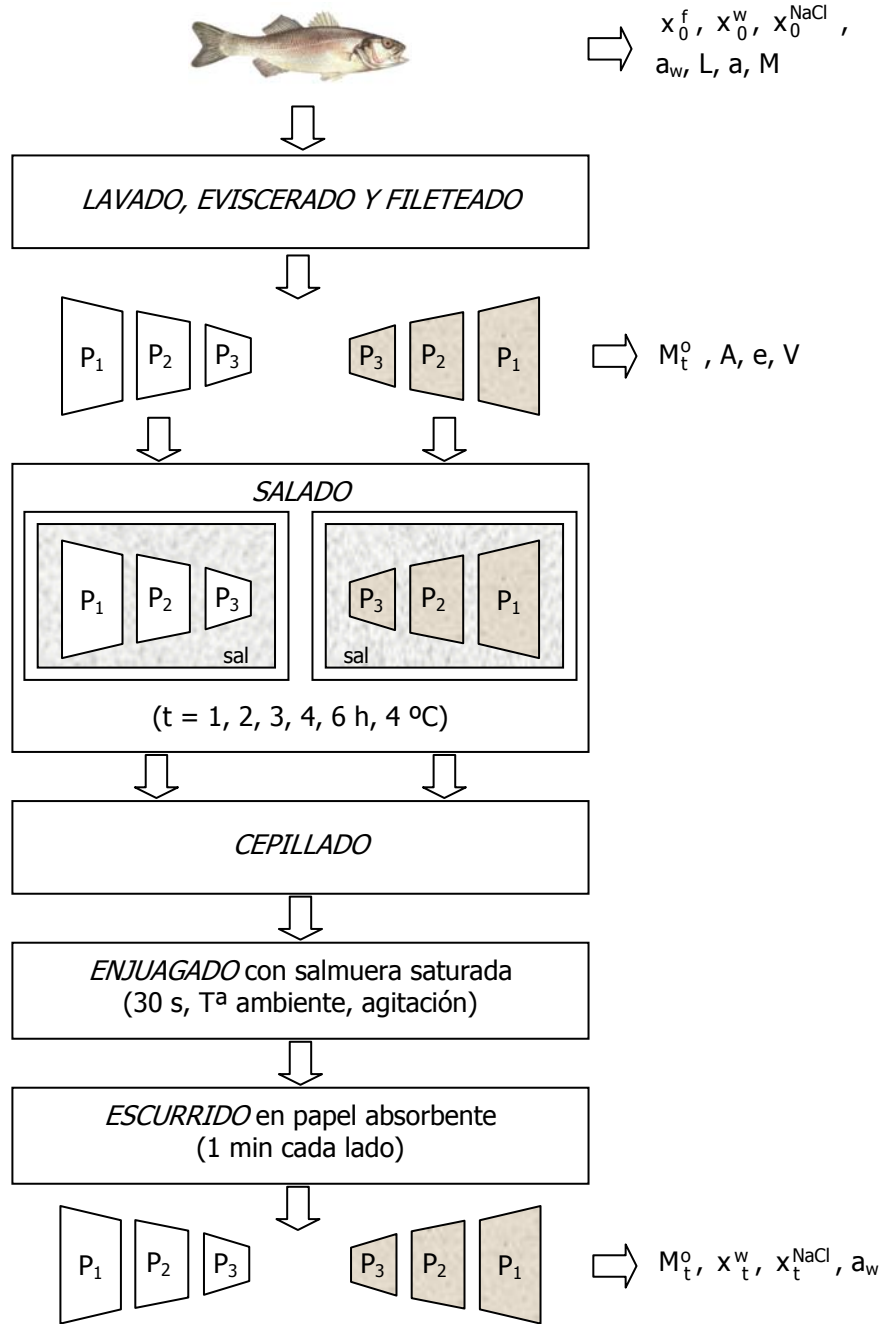


Figura IV.1. Esquema de preparación y proceso de salado de la lubina. Nomenclatura descrita en el anexo B (tabla VIII.2).

3.3. Determinaciones analíticas

3.3.1. Humedad

La determinación del contenido en humedad se realizó siguiendo el método 950.46 descrito por la AOAC (1997) (capítulo III.1, apartado 3.2.1).

3.3.2. Grasa

El contenido lipídico en la carne y en la piel de la lubina, se determinó mediante extracción en Soxhlet empleando éter de petróleo, de acuerdo al procedimiento 991.36 descrito por la AOAC (1997), tal y como ha sido descrito anteriormente (capítulo III.1, apartado 3.2.2).

3.3.3. Cloruro sódico

El contenido en cloruro sódico (x^{NaCl}) se determinó tal y como se ha descrito en el capítulo III.2, apartado 3.2.2.

La concentración de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}), así como la razón másica de NaCl en la misma (χ^{NaCl}) se estimó a partir de los valores de humedad (x^{w}) y contenido en NaCl (x^{NaCl}) según las ecuaciones IV.1 y IV.2.

$$z^{\text{NaCl}} = \frac{x^{\text{NaCl}}}{x^{\text{w}} + x^{\text{NaCl}}} \quad \text{Eq. IV.1}$$

$$\chi^{\text{NaCl}} = \frac{x^{\text{NaCl}}}{1 - x^{\text{w}}} \quad \text{Eq. IV.2}$$

donde:

z^{NaCl} = fracción másica de sal en la fase líquida de la lubina (g NaCl/g fase líquida).

x^{NaCl} = fracción másica de sal (g NaCl/g pescado).

x^{w} = fracción másica de agua (g H₂O/g pescado).

χ^{NaCl} = razón másica de sal (g NaCl/g materia seca).

3.3.4. Actividad de agua (a_w)

En las determinaciones de la actividad de agua (a_w) se empleó un higrómetro de punto de rocío (capítulo III.1, apartado 3.2.7).

3.4. Bases de cálculo

Para estimar las variaciones de masa total, agua y cloruro sódico durante el proceso de salado se emplearon las siguientes bases de cálculo:

Variación de masa total:

$$\Delta M_t^o = \left(\frac{M_t^o - M_0^o}{M_0^o} \right) \quad \text{Eq. IV.3}$$

Variación de masa de agua:

$$\Delta M_t^w = \left(\frac{M_t^o \cdot x_t^w - M_0^o \cdot x_0^w}{M_0^o} \right) \quad \text{Eq. IV.4}$$

Variación de masa de cloruro sódico:

$$\Delta M_t^{\text{NaCl}} = \left(\frac{M_t^o \cdot x_t^{\text{NaCl}} - M_0^o \cdot x_0^{\text{NaCl}}}{M_0^o} \right) \quad \text{Eq. IV.5}$$

donde:

M_t^o = masa de la muestra a tiempo t (g).

M_0^o = masa inicial de la muestra (g).

x_t^w = fracción másica de agua a tiempo t (g H₂O/g pescado).

x_0^w = fracción másica de agua inicial (g H₂O/g pescado).

x_t^{NaCl} = fracción másica de cloruro sódico a tiempo t (g NaCl/g pescado).

x_0^{NaCl} = fracción másica de cloruro sódico inicial (g NaCl/g pescado).

3.5. Estudio de la difusividad de la sal

Para el estudio de la cinética de salado, se calculó la difusividad efectiva (D_e) de la sal durante el proceso para cada las muestras de lubina. Estos valores se calcularon ajustando los resultados experimentales a la ecuación de Fick para tiempos cortos (ecuación IV.6), suponiendo que la geometría de las muestras se asemeja a láminas semi-infinitas (Crank, 1975). Con el objeto de

simplificar el análisis, se aseguró el cumplimiento de las condiciones de entorno en las que la ecuación a aplicar ha sido deducida, es decir, geometría de los filetes igual a una lámina infinita, concentración inicial de sal en la fase líquida del alimento homogénea y concentración constante en la interfase.

$$1 - Y_t^{\text{NaCl}} = \frac{z_0^{\text{NaCl}} - z_t^{\text{NaCl}}}{z_0^{\text{NaCl}} - z_e^{\text{NaCl}}} = 2 \cdot \left(\frac{D_e}{\pi l^2} t \right)^{\frac{1}{2}} + K \quad \text{Eq. IV.6}$$

donde:

Y_t^{NaCl} = fuerza impulsora calculada con la fracción másica de sal en la fase líquida.

z_0^{NaCl} = fracción másica de sal inicial en la fase líquida de la muestra (g NaCl/g fase líquida): 0,028 g/g.

z_e^{NaCl} = fracción másica de sal en la fase líquida de la muestra en equilibrio con el entorno (g NaCl/g fase líquida). Se considera que es el valor correspondiente a una salmuera saturada: 0,26.

z_t^{NaCl} = fracción másica de sal en la fase líquida de la muestra a un tiempo t (g NaCl/g fase líquida).

D_e = difusividad efectiva (m^2/s).

t = tiempo (s).

l = espesor (m) de la muestra de pescado (denominado "e" en el presente estudio).

K = constante relacionada con mecanismos hidrodinámicos al inicio del proceso.

Linealizando la ecuación anterior, se obtiene la expresión que será empleada en el estudio de la cinética de salado de las muestras de lubina (eq. IV.7).

$$1 - Y_t^{\text{NaCl}} = A \cdot \frac{t^{1/2}}{l} + K \quad \text{Eq. IV.7}$$

En esta ecuación se considera que el parámetro A es un parámetro cinético relacionado con el coeficiente de difusividad, el tamaño y la forma de las muestras, mientras que K es una constante adimensional que recoge el desplazamiento del ajuste de la ordenada en el origen; este desplazamiento aparece como consecuencia de que el fenómeno global de transferencia de materia no es simplemente difusional, especialmente al principio del proceso, sino que está también relacionado con el mecanismo hidrodinámico y la capilaridad.

3.6. Análisis estadístico

En el presente estudio se empleó el procedimiento de regresión múltiple por pasos, con el método de selección de variables hacia adelante (*stepwise forward selection*) para la obtención de un modelo para cada una de las variaciones de masa (total (ΔM_t^0), agua (ΔM_t^w) y cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl})), así como para la concentración de NaCl expresada en base seca (X^{NaCl}). Este análisis estadístico permite establecer las relaciones estadísticamente significativas que existen entre las variaciones de masa anteriormente mencionadas y la concentración de sal, con las variables independientes: zona de origen de la pieza (P_1 , P_2 y P_3), tiempo (t), masa inicial (M_0^0), superficie (A), espesor (e) y volumen (V).

La existencia de diferencias significativas entre las piezas de lubina respecto a peso inicial, superficie de contacto y espesor fue evaluada mediante el análisis de la varianza (ANOVA).

Ambos análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa estadístico Statgraphics® Plus v.5.1 (Manugistics, Rockville, M.D. USA).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la materia prima

Tal y como se ha descrito anteriormente, los pescados fueron pesados y medidos, siendo los valores promedio de peso (M), longitud (L) y anchura (a) 399 ± 29 g, 23 ± 6 cm y $8,0 \pm 0,3$ cm, respectivamente. Los valores promedio de masa inicial, superficie de contacto pescado-sal y espesor de las piezas empleadas fueron significativamente diferentes en función de la zona del filete donde se obtuvo la muestra (tabla IV.2).

Tabla IV.2. Masa inicial (M_0^o), superficie de contacto (A) y espesor (e) de las piezas de lubina (cerca a la cabeza (P_1), centro (P_2) y cola (P_3)). Valores promedio \pm SD (n = 30).

	M_0^o (g)	A (cm ²)	e (cm)
P_1	$35,76 \pm 8,39$ a	$36,74 \pm 9,84$ a	$0,81 \pm 0,15$ a
P_2	$42,79 \pm 10,24$ b	$41,77 \pm 10,72$ b	$0,76 \pm 0,09$ a
P_3	$29,47 \pm 9,15$ c	$35,87 \pm 7,66$ a	$0,57 \pm 0,11$ b
α	*	*	*

Letras diferentes dentro de una misma columna indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): * $p < 0,05$

Los valores promedio correspondientes a las fracciones másicas de agua y cloruro sódico (x_0^w y x_0^{NaCl}), así como de actividad de agua (a_w) de la lubina fresca empleada como materia prima fueron $0,73 \pm 0,02$ (p/p), $0,0021 \pm 0,0007$ (p/p) y $0,991 \pm 0,003$, respectivamente. Estos valores son similares a los obtenidos para las muestras de lubina procedente de piscifactoría que fueron analizadas en el estudio comparativo realizado en el capítulo III.1.

4.2. Estudio de las variables del proceso de salado

Tras el proceso de salado, cada una de las piezas de lubina fueron pesadas (M_t^o) y se determinó su contenido en humedad (x^w) y cloruro sódico (x^{NaCl}). A partir de estos valores y considerando los valores iniciales (M_0^o , x_0^w y

x_0^{NaCl}), se calcularon las variaciones de masa total, masa de agua y masa de cloruro sódico, mediante las ecuaciones IV.3-IV.5, mostradas anteriormente.

La variación de masa total (ΔM_t^0) de los dos lotes de muestra (piezas de lubina saladas por la parte interna o carne (C) y piezas saladas por la parte externa o piel (P)), durante el proceso de salado se muestra en la figura IV.2. Tal y como se observa, durante el proceso de salado se produjo una pérdida de peso en ambos lotes de muestra, como consecuencia de la deshidratación osmótica y la desnaturalización proteica en el músculo de pescado, ocasionada por la acción de la sal (Barat *et al.*, 2003; Duerr y Dyer, 1952; Ismail y Wootton, 1982). Las muestras saladas por su cara interna (C) perdieron más peso que las muestras saladas por el lado de la piel (P), lo que indicaría que la piel de la lubina supone un obstáculo a la variación de peso durante el proceso de salado. La variabilidad observada dentro de cada uno de los lotes de muestra, podría atribuirse a las diferencias observadas respecto a los valores de espesor, área de contacto y peso inicial entre las piezas empleadas en el proceso (P_1 , P_2 y P_3) (tabla IV.2), como se ha comentado anteriormente.

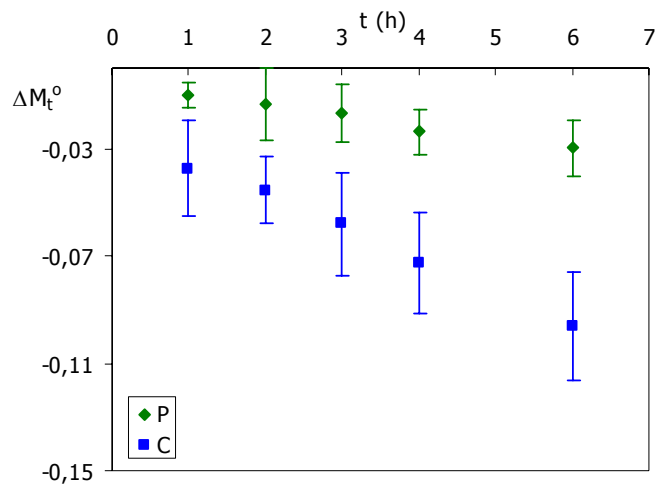


Figura IV.2. Variación de masa total (ΔM_t^0) de las muestras de lubina. Valores promedio de P_1 (junto cabeza), P_2 (centro) y P_3 (cola), durante el proceso de salado (P: piel, C: carne).

Para cada uno de los tiempos de salado, las muestras saladas por su cara interna (C) presentaron una mayor pérdida de humedad y ganancia de sal, que las muestras saladas por la piel (P) (figura IV.3). La pérdida de agua fue, en ambos casos (C y P), mayor que la ganancia de sal, lo que provocó la pérdida de peso de las piezas de lubina tras el proceso de salado, tal y como se ha comentado anteriormente.

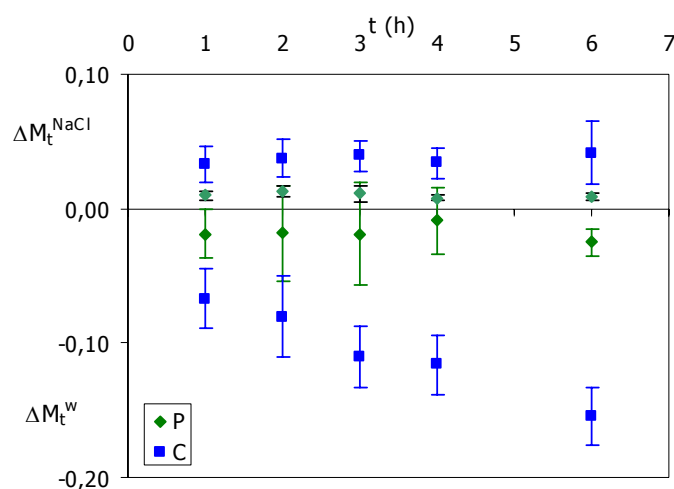


Figura IV.3. Variación de masa de agua (ΔM_t^w) y cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl}) de las muestras de lubina. Valores promedio de P₁ (junto cabeza), P₂ (centro) y P₃ (cola), durante el proceso de salado (P: piel, C: carne).

El hecho de que las piezas de lubina saladas por la parte de la piel presentaran menores valores de pérdida de agua y ganancia de sal, indicaría que la piel de la lubina supone un obstáculo a la transferencia de materia durante el proceso de salado. Este efecto barrera podría ser consecuencia del elevado contenido lipídico encontrado en la piel de la lubina ($14,0 \pm 0,2$ g/100 g) comparado con el del músculo del pescado ($6,6 \pm 0,8$ g/100 g), ya que la grasa supone un factor limitante a la difusión de sal y agua durante los procesos de salado y secado, como consecuencia de su hidrofobicidad (Jason,

1965), lo que dificulta, el transporte de NaCl y agua a través de ella. Sin embargo, en otras especies de pescado como el bacalao, la piel no supone un impedimento a la transferencia de materia (Burguess *et al.*, 1967; Andrés *et al.*, 2005b); en este caso, el bajo contenido lipídico presente en la piel del bacalao (0,3% p/p) comparado con el encontrado en la piel de la lubina empleada en este estudio (14% p/p), permitiría explicar el diferente comportamiento de ambas especies durante el salado.

Mediante el análisis de regresión múltiple se obtuvieron los modelos que permitían relacionar las variaciones de masa (ΔM_t^0 , ΔM_t^w , ΔM_t^{NaCl}) y la concentración de sal (X^{NaCl}) con las variables de proceso, siendo éstas la zona de procedencia de las piezas (P_1 , P_2 y P_3), tiempo de salado (t), peso inicial (M_0^o), espesor (e), superficie de contacto (A), volumen (V) y presencia de piel (P y C). La zona de procedencia de la pieza de lubina dentro del filete y el lado por el que el filete fue salado (piel o carne) fueron procesados como variables *dummy*. En este segundo caso, la variable *dummy* fue igual a 1 cuando las muestras fueron saladas por el lado de la piel e igual a 0 cuando fueron saladas por el lado de la carne. Los resultados obtenidos en este análisis se muestran en la tabla IV.3.

Tabla IV.3. Coeficientes de regresión para cada variable independiente¹ y coeficientes de determinación (R^2) para las variables dependientes², en el estudio del salado de lubina. Cte: constante del modelo.

	ΔM_t^0	ΔM_t^w	ΔM_t^{NaCl}	X^{NaCl}
P ₁	-	-	-	-
P ₂	-	-	-	-
P ₃	0,0822*	-0,0412***	-	-
t	-0,0144***	-0,00598***	0,0636***	0,00235***
M ₀ ^o	0,00113***	0,00158***	-0,00882***	-
e	-	-	-	-
A	-0,00114**	-	-	-
V	0,00131**	-	-	-
P ₁ ·p	-	-	-	-
P ₂ ·p	-	-	-	-
P ₃ ·p	-	0,0371**	-	-
t·p	0,010***	0,00785***	-0,0635**	-0,0492**
M ₀ ^o ·p	-	-0,000641*	-	0,000495**
e·p	0,0556***	-	-0,663***	-0,0409***
A·p	0,00182***	-	-0,0181***	-
V·p	-0,00249***	-	0,0186***	0,00107***
Cte	-0,0503	0,0192	0,721	0,050
R ²	0,868	0,645	0,871	0,863

Nivel de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

¹ P₁: pieza cercana a la cabeza; P₂: medio; P₃: cola; t: tiempo (h); M₀^o: peso inicial (g); e: espesor (cm); A: superficie (cm²); V: volumen (cm³); p: piel

² ΔM_t^0 : variación de masa total; ΔM_t^w : variación de masa de agua; ΔM_t^{NaCl} : variación de masa de NaCl; X^{NaCl} : razón másica de NaCl (g NaCl/g materia seca)

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico muestran cómo el tiempo de salado y el peso inicial de las piezas de lubina fueron los parámetros con mayor efecto sobre las variaciones de masa ($p < 0,001$). En este sentido, destaca como un aumento en el tiempo de salado provocaría mayores pérdidas de peso y humedad, así como un mayor aumento en la concentración de cloruro sódico en el pescado. Sin embargo, un aumento en la masa inicial de las piezas de pescado provocaría el efecto contrario sobre las variaciones de masa, es decir menores pérdidas de humedad y de ganancia de sal, lo que se

traduciría en un menor pérdida de peso. En estos casos, la piel supondría un efecto barrera a la transferencia de materia; tal y como se observa en la tabla anterior, la presencia de piel modifica el efecto de las variables significativas, de manera que cuando la piel aparece acompañando a estas variables, los coeficientes de regresión tienen signo opuesto al que poseen cuando estas variables aparecen solas. Los coeficientes de correlación de los modelos obtenidos oscilaron desde 0,645 para ΔM_t^W hasta 0,871 para ΔM_t^{NaCl} .

Hay que señalar también que el hecho de que el efecto del espesor, la superficie de contacto pescado-sal y el volumen no fueran significativos, podría ser debido al importante efecto de la masa inicial de las piezas sobre las variaciones de masa. Sin embargo, puede considerarse que estas variables presentan un efecto indirecto en la transferencia de materia, debido a su relación con el peso inicial de las piezas, este efecto ha sido confirmado mediante un análisis estadístico por regresión múltiple (considerando variable dependiente la masa inicial e independientes la superficie y el espesor de las piezas), donde el efecto de las variables área y espesor fue significativo ($p < 0,001$) sobre el valor de masa inicial (datos no mostrados).

Debido a las diferencias encontradas entre los dos lotes de muestra (piel (P) y carne (C)) y con el objeto de optimizar el ajuste de los resultados en función del lote de salado, se realizaron los análisis de regresión múltiple por separado, para cada uno de los lotes. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico se muestran en la tabla IV.4, donde se puede observar, de nuevo, cómo las variables con mayor efecto en las ecuaciones de regresión fueron el tiempo de salado y el peso inicial de las piezas. Hay que destacar también los bajos valores de los coeficientes de determinación (R^2) obtenidos para el lote de muestras saladas por la piel, debido principalmente a las pequeñas variaciones de masa, agua y sal en el músculo del pescado durante el salado en este lote.

Tabla IV.4. Coeficientes de regresión (b) para cada variable independiente¹ y de determinación (R²) para las variables dependientes², en el estudio del proceso de salado de lubina a través de la piel (P) y a través de la carne (C). Cte: constante del modelo.

	ΔM_t^o		ΔM_t^w		ΔM_t^{NaCl}		X^{NaCl}	
	C	P	C	P	C	P	C	P
P ₁	-	-	-	-	-	-	-	-
P ₂	-	0,00878**	-0,0436*	-	0,00751*	-	-	-
P ₃	-	0,00982**	-0,0621***	-	-	-	-	-
t	-0,0127***	-0,00343***	-0,012***	-	-	-	-	-
M ₀ ^o	0,000936**	-	-	-0,000753**	0,00893***	0,00012***	-0,00102*	-0,000564***
e	-	0,00360**	-	-	-	-	-	-
A	-	-	-	-	-	-	-	-
V	-	-0,000395*	-	-	-	-	-	-
C	-0,0519	-0,0280	-0,00733	0,0190	0,0650	0,0134	0,141	0,0629
R ²	0,644	0,527	0,720	0,151	0,436	0,262	0,222	0,330

Nivel de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

¹ P₁: pieza cercana a la cabeza; P₂: medio; P₃: cola; t: tiempo (h); M₀^o: peso inicial (g); e: espesor (cm); A: superficie (cm²); V: volumen (cm³)

² ΔM_t^o : variación de masa total; ΔM_t^w : variación de masa de agua; ΔM_t^{NaCl} : variación de masa de NaCl; X^{NaCl} : razón másica de NaCl (g NaCl/g materia seca)

4.3. Estudio de la difusividad de la sal

4.3.1. Ajuste de los valores experimentales

Los valores experimentales de la fracción másica de sal en la fase líquida de la lubina (z_t^{NaCl}) y de la fuerza impulsora (Y_t^{NaCl}) para cada uno de los tiempos de procesado, se emplearon para determinar el coeficiente de difusividad de la sal (D_e) en las muestras de lubina mediante la ecuación de Fick para tiempos cortos y láminas semi-infinitas (ecuación IV.6) (Crank, 1975).

En la figura IV.4 se muestra la representación de los valores de $1 - Y_t^{NaCl}$ frente a $t^{0,5}/l$, para los dos lotes de muestra. Los puntos correspondientes a las muestras de lubina que se salaron apoyando la piel sobre el lecho de sal, se situaron prácticamente a lo largo de una línea horizontal y paralela al eje de

ordenadas, lo que indicaría pequeñas variaciones en el contenido de NaCl respecto a su contenido inicial, durante el proceso de salado. El valor de difusividad de la sal en estas muestras, obtenido a partir del ajuste lineal de esta serie de datos, fue bajo ($D_e = 7,07 \times 10^{-14} \text{ m}^2/\text{s}$), lo que indicaría la gran resistencia de la piel a la penetración de la sal. Sin embargo, las muestras saladas por la cara interna (C) muestran una evolución diferente, siendo el valor de difusividad de la sal ($D_e = 7,54 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$) mucho mayor que el obtenido para las muestras saladas por la piel (P).

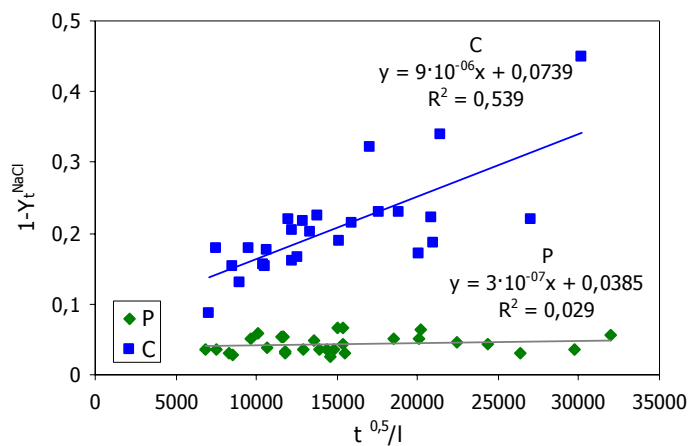


Figura IV.4. Valores de la inversa de la fuerza impulsora ($1 - Y_t^{\text{NaCl}}$) frente a $t^{0,5}/l$ (P: piel, C: carne).

Los valores de difusividad en las muestras de lubina saladas por su cara interna (C) fueron ligeramente inferiores a los dados por otros autores para diferentes especies de pescado, como el bacalao, pez espada, arenque, salmón o atún (Del Valle y Nickerson, 1967; Peters, 1971; Rodger *et al.*, 1984; Sakai y Miki, 1982; Sakai y Suzuki, 1985; Stefanovskaya *et al.*, 1976; Wang *et al.*, 2000). La variabilidad encontrada entre los resultados consultados en bibliografía podría ser atribuida en parte al efecto de diferentes factores como

la especie, orientación del músculo, contenido graso, etc, así como de otros aspectos directamente relacionados con las condiciones de procesado, como son la temperatura a la que se realiza el salado, naturaleza del agente de salado, etc. Por otra parte, las diferencias encontradas respecto a ciertas especies de pescado, como el bacalao, podrían ser atribuidas a diferencias respecto al contenido lipídico de ambas especies, ya que la lubina empleada como materia prima presentó un mayor contenido lipídico, entorno al 6% (p/p), comparado con el 0,5% (p/p) del bacalao (Gallart-Jornet *et al.*, 2007a). Sin embargo, en las especies cuyo contenido lipídico es similar o superior al presente en la lubina, las diferencias podrían estar relacionadas con las condiciones de procesado. En este sentido, el tipo de salado (salado con salmuera o salado en seco), cubrir el pescado completamente con sal o aplicar la sal por uno de los lados, la concentración de la salmuera empleada, el efecto de la presión o de la temperatura, etc., son factores que pueden afectar a los valores de difusividad de la sal. Los menores valores de D_e obtenidos comparando con los consultados en bibliografía podrían ser debidos al hecho de colocar las piezas de lubina sobre la capa de sal en lugar de cubrir completamente los filetes, ya que esto provocaría un contacto menos uniforme entre el pescado y la sal, reduciría la presión que ejerce la sal al situarse sobre el pescado y favorecería que el lixiviado que se forma, debido a la salida de agua del producto, se perdiera a través del lecho de sal y, por tanto, los cristales de cloruro sódico se disolvieran más lentamente, ralentizando la formación de salmuera en la interfase y la penetración de la sal hacia el interior de los filetes de pescado.

4.3.2. Análisis estadístico de la difusividad de la sal

Con el objeto de estudiar el efecto de las variables de procesado sobre los valores de difusión de sal (D_e), se llevo a cabo un análisis estadístico de los resultados obtenidos por el procedimiento de regresión múltiple. Se consideraron como variables independientes la zona de procedencia de la pieza

dentro del filete (P_1 , P_2 y P_3), tiempo (t), masa inicial (M_0^0), espesor (e), área (A) y volumen (V) de las piezas de lubina, los ratios A/M_0^0 y $t^{0,5}/l$, así como la interacción de estas con la variable piel (variable *dummy*, valor 0 zona interna o carne y valor 1 zona externa o piel) (tabla IV.5).

Tabla IV.5. Coeficientes de regresión (b) para las variables independientes¹ y coeficientes de determinación (R^2) para la inversa de la fuerza impulsora reducida ($1 - Y_t^{\text{NaCl}}$).

variable	$1 - Y_t^{\text{NaCl}}$	variable	$1 - Y_t^{\text{NaCl}}$
P_1	-	$P_1 \cdot p$	-
P_2	-	$P_2 \cdot p$	-
P_3	-	$P_3 \cdot p$	-
t	-	$t \cdot p$	-
M_0^0	-	$M_0 \cdot p$	-
e	-	$e \cdot p$	-
A	-0,00313***	$A \cdot p$	0,00234***
V	-	$V \cdot p$	-
A/M_0^0	0,1681**	$A/M_0 \cdot p$	-0,1240***
$t^{0,5}/l$	0,00000724***	$t^{0,5}/l \cdot p$	-0,0000075***
cte	0,0957	R^2	0,891

Nivel de significación: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

¹ P_1 : trozo junto cabeza; P_2 : medio; P_3 : cola; t : tiempo (h); M_0^0 : masa inicial (g); e : espesor (cm); A : superficie (cm²); V : volumen (cm³); p : piel.

La superficie de contacto pescado-sal y los ratios los ratios A/M_0^0 y $t^{0,5}/l$, afectaron de manera significativa a los valores de la fuerza impulsora reducida y, por tanto, a los valores de difusividad de la sal (tabla IV.5). Hay que destacar también que la presencia de la piel redujo el efecto de estas variables sobre el valor de difusividad durante el proceso; así un aumento en los valores de

superficie de contacto entre el pescado y el lecho de sal se traducirían en un aumento en los valores de difusividad; en cambio, cuando los filetes son salados por la parte de la piel este efecto prácticamente se anula. El efecto de la piel se observa también sobre las variables A/M_0^0 y $t^{0,5}/l$ (tabla IV.5).

Los valores de D_e para ambos lotes de muestras pueden deducirse a partir de los coeficientes de regresión de la variable $t^{0,5}/l$. Los valores así obtenidos ($3,78 \times 10^{-11}$ m²/s para las muestras saladas por su cara interna (C), y $1,09 \times 10^{-14}$ m²/s para las muestras saladas por la piel (P)) son del mismo orden que los valores calculados anteriormente, a partir de los resultados obtenidos en las determinaciones experimentales, aplicando la ecuación de Fick ($D_e = 7,54 \times 10^{-11}$ m²/s para las muestras saladas por su cara interna (C) y $7,07 \times 10^{-14}$ m²/s para las muestras saladas por la piel).

5. CONCLUSIONES

La presencia de piel en los filetes de lubina supone una barrera tanto a la penetración de sal como a la salida de agua del producto, lo que provoca la ralentización del proceso de salado, cuando las piezas de lubina son saladas por la piel.

El proceso de salado está afectado también por el peso inicial de las piezas de pescado, de manera que valores mayores de esta variable conducen a menores variaciones de peso, humedad y contenido de sal. El espesor, la superficie de contacto pescado-sal y volumen afectarían al desarrollo del proceso de manera indirecta, debido a la relación de estas variables con la masa inicial de las piezas.

IV.2. CONTROL CINÉTICO Y TERMODINÁMICO DEL PROCESO DE SALADO DE LUBINA (*Dicentrarchus labrax* L.)

1. INTRODUCCIÓN

En los productos de la pesca salados, el contenido final de sal es uno de los aspectos más importantes, ya que no solo afecta a los atributos sensoriales del producto, como son el sabor, aroma y textura, sino que además es determinante para el control del crecimiento microbiano. Sin embargo, es difícil encontrar productos salados con concentraciones de cloruro sódico homogéneas, ya que el contenido de sal varía tanto entre los diferentes pescados de un mismo lote de producto como entre las distintas partes del pescado (Espe *et al.*, 2004). Esta variabilidad conduce a productos con una diferente intensidad en su sabor salado y, lo que es más importante, podría tener implicaciones sobre la seguridad del alimento. Es por ello, que el desarrollo de nuevos procedimientos de salado, que permitan obtener productos con una distribución homogénea del contenido de sal y reproducibles respecto a esta concentración de sal, resultaría especialmente interesante tanto desde el punto de vista industrial como del consumidor.

El proceso de salado es generalmente aceptado como un proceso difusional y, de acuerdo con la ley de Fick, la difusión de agua y sal es controlada por los gradientes de humedad y cloruro sódico, así como por los coeficientes de difusividad (D_e) de agua y sal. Los valores de D_e están directamente relacionados entre otros aspectos con las características del pescado, como son la frescura, pH, estructura y composición, así como las dimensiones de las piezas del pescado. Sin embargo, otros aspectos como las diferentes condiciones de temperatura, presión, concentración de sal en la salmuera utilizada, etc., pueden afectar de manera importante a los valores de difusividad de la sal.

En general, los procesos de salado pueden clasificarse de acuerdo a su mecanismo de control: cinético y termodinámico. En los procesos con control

cinético, el final del proceso se fija a un cierto tiempo, el cual es dependiente del procedimiento de salado empleado (salado en pila seca, salmuera o tipo kench) (Barat *et al.*, 2003), temperatura (Del Valle y Nickerson, 1967), presión (Barat *et al.*, 2004) y las características de la materia prima, como la frescura (Barat *et al.*, 2006), método de almacenamiento (Røra y Einen, 2003), tamaño y forma de las piezas a salar (Zugarramurdi y Lupin, 1976), pH, humedad y contenido graso (Gallart-Jornet *et al.*, 2007a). Los principales inconvenientes de este principio de control son la necesidad de elevadas cantidades de agente de salado y la relativamente alta variabilidad en los valores de actividad de agua, humedad y cloruro sódico en el producto final. Esta variabilidad puede ser crítica en el caso de los productos ligeramente salados y almacenados en refrigeración, debido al importante efecto de estos parámetros sobre la estabilidad y vida útil del producto, como se ha comentado anteriormente.

El control termodinámico, en cambio, podría conducir a productos más homogéneos, solucionando por tanto los principales inconvenientes del control cinético. Con el control termodinámico se persigue que el producto alcance el equilibrio con su entorno; en este caso, la clave del proceso es la definición exacta de la etapa de equilibrio. Entre los procesos de salado basados en este sistema de control se incluyen la inyección de sal (Birkeland *et al.*, 2003), la adición de una cantidad exacta de cloruro sódico con un posterior envasado a vacío del producto en bolsas de plástico (Orr, 1967), depositar una cantidad conocida de sal sobre la superficie del producto permitiendo que la sal se disuelva y penetre hacia el interior del mismo, etc.

2. OBJETIVO

El objetivo de esta fase del trabajo fue estudiar y caracterizar dos procesos diferentes de salado de lubina empleando sal sólida, uno de ellos controlado cinéticamente y el otro controlado termodinámicamente.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima y preparación de la muestra

Para la realización de esta fase del trabajo, se emplearon un total de 69 lubinas (*Dicentrarchus labrax* L.) procedentes de acuicultura (Andromeda S.A.), las cuales fueron adquiridas a un distribuidor local. Treinta y nueve de estos pescados se destinaron al estudio cinético y el resto se emplearon en el estudio termodinámico.

A su llegada al laboratorio, los pescados enteros fueron medidos (longitud (incluyendo cabeza) y anchura) y pesados; a continuación, se evisceraron y filetearon, obteniéndose de esta forma dos filetes por cada pescado. Estos filetes se pesaron y midieron, con el objeto de determinar su superficie y espesor.

La sal empleada en el proceso de salado fue suministrada por N.C.A. de las Salinas de Torrevieja S.A (Alicante, España). La caracterización fisico-química de la sal utilizada ha sido mostrada anteriormente (capítulo IV.1, tabla IV.1).

3.2. Procedimiento de salado

Tal y como se ha comentado anteriormente, los filetes de lubina fueron salados mediante dos procesos diferentes, uno de ellos controlado cinéticamente y el otro controlado termodinámicamente. En ambos estudios, el proceso de salado se realizó a 4 °C.

3.2.1. Control cinético

En el procedimiento de salado controlado cinéticamente, los filetes de lubina, previamente medidos y pesados, se cubrieron por su cara interna (o carne), con una capa uniforme de sal y se pesaron de nuevo. Los filetes se colocaron sobre bandejas de dimensiones 48 x 37 x 1 cm, a razón de 3 filetes por bandeja, apoyados sobre su cara interna o carne. Se consideraron 11 intervalos de muestreo diferentes, oscilando desde 15 a 360 min.

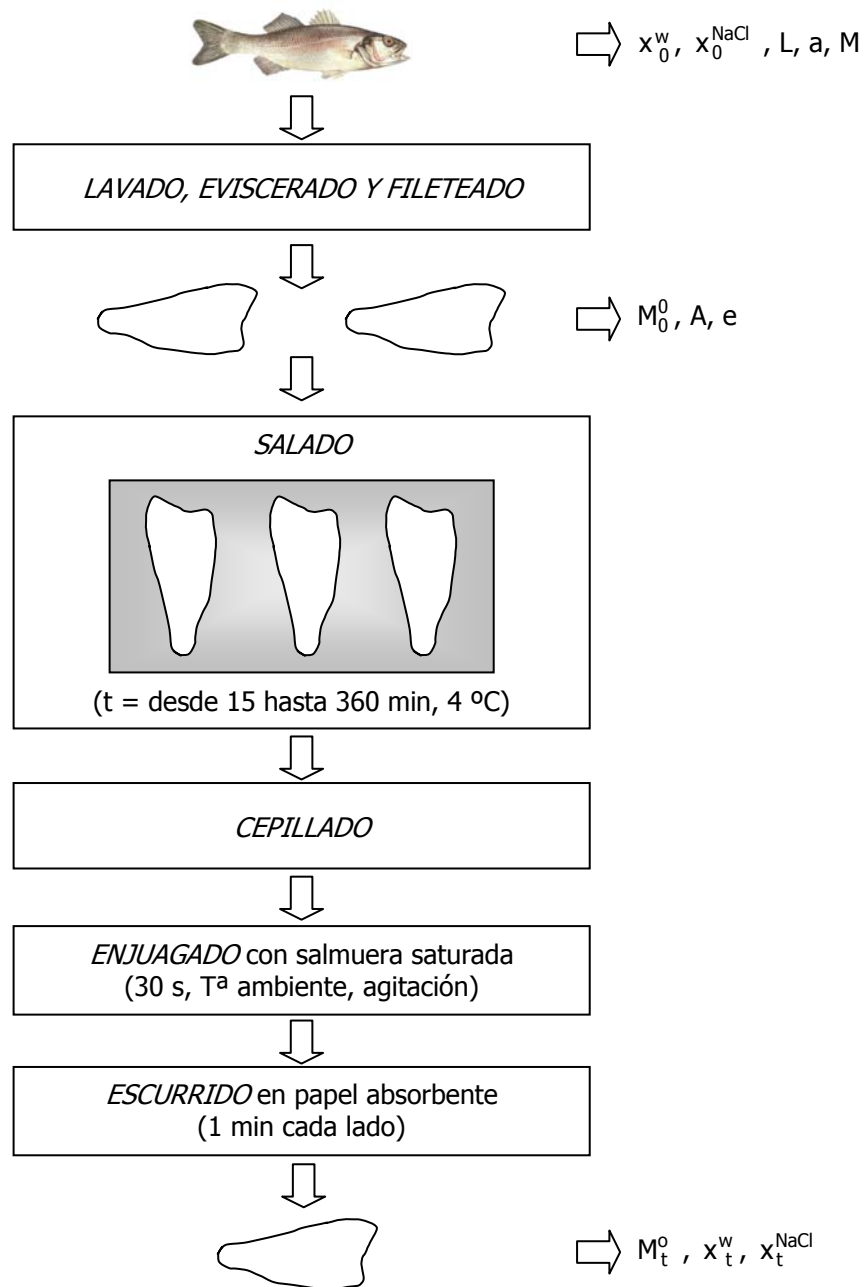


Figura IV.5. Esquema del procedimiento de salado con control cinético. Nomenclatura descrita en el anexo B (tabla VIII.2).

En cada punto de muestreo, los filetes (n=6) fueron cepillados y sumergidos, durante 30 s, en una salmuera saturada ($x^{\text{NaCl}} = 0,26$ p/v), en constante agitación, con el objeto de eliminar los cristales de sal adheridos a la superficie del pescado. Finalmente, el exceso de disolución de la superficie se eliminó, dejando escurrir cada uno de los filetes 1 min por cada lado, sobre papel absorbente (figura IV.5).

3.2.2. Control termodinámico

El procedimiento de salado controlado termodinámicamente se llevó a cabo en bandejas de dimensiones 35 x 23 x 7,5 cm. Con el objeto de impedir el contacto del pescado con el líquido exudado durante el proceso de salado, cada bandeja llevaba incorporada una rejilla de dimensiones 29 x 18,5 cm, sobre la que se dispusieron los filetes de lubina. Las bandejas (con y sin rejilla) fueron pesadas antes y después de depositar el pescado en ellas, así como después del proceso de salado, con el objetivo de registrar la cantidad de líquido exudado tras el periodo de salado. Se tomaron también los pesos de los filetes antes y después de depositar la sal en su superficie, así como el peso de los filetes tras el salado.

Sobre los filetes de lubina (cara interna) se depositó la cantidad exacta de sal necesaria para alcanzar la concentración de sal fijada como objetivo, expresada como razón másica de cloruro sódico ($X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}}$). Los valores de $X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}}$ estudiados fueron: 0,110; 0,130; 0,150; 0,175; 0,200; 0,225; 0,245 y 0,270 g NaCl/g materia seca.

La cantidad de sal empleada en cada caso se calculó a partir del peso de cada uno de los filetes y del contenido en humedad de la lubina fresca, el cual fue determinado en la caracterización previa de la materia prima. La cantidad de sal a dosificar sobre los filetes se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}} = \frac{m_{\text{sal}}}{M_0^o \cdot (1 - x_0^w) + m_{\text{sal}}} \quad \text{Eq. IV.8}$$

donde:

$X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}}$ = razón másica de sal (g sal/g materia seca) fijada como objetivo.

x_0^w = fracción másica de agua inicial en los filetes de lubina (g H₂O/g pescado).

m_{sal} = masa de sal a añadir (g).

M_0^o = masa inicial del filete de lubina (g).

El punto final del salado se determinó de manera experimental, en un estudio previo al salado definitivo, siguiendo las mismas condiciones descritas anteriormente. Se consideró como final del proceso el tiempo necesario para que la máxima cantidad de sal dosificada sobre la superficie del pescado fuera completamente absorbida, estableciéndose de esta forma un tiempo de salado igual a 72 h.

Finalmente los filetes fueron cepillados y sumergidos, durante 30 s, en una salmuera saturada ($x^{\text{NaCl}} = 0,26$ p/v), en constante agitación, con el objeto de eliminar los cristales de sal adheridos a la superficie del pescado. El exceso de disolución de la superficie se eliminó, dejando escurrir cada uno de los filetes 1 min por cada lado sobre papel absorbente (figura IV.6).

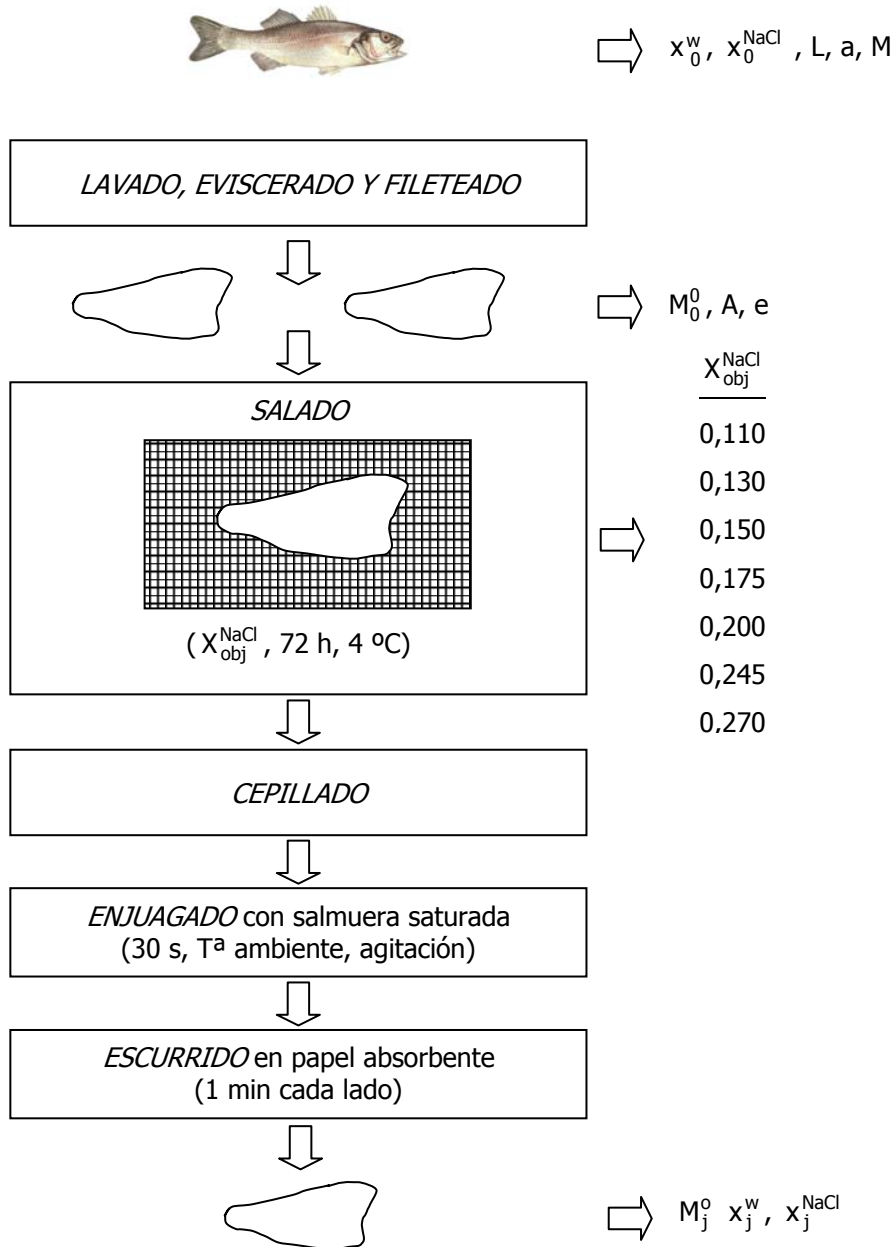


Figura IV.6. Esquema del procedimiento de salado con control termodinámico. Nomenclatura descrita en el anexo B (tabla VIII.2).

3.3. Determinaciones analíticas

Se realizó la caracterización inicial fisico-química de la lubina fresca empleada como materia prima en el proceso de salado, donde se determinaron los contenidos en:

- ✓ Humedad (método descrito en el capítulo III.1, apartado 3.2.1)
- ✓ Actividad de agua (a_w) (capítulo III.1, apartado 3.2.7)
- ✓ Cloruros (capítulo III.2, apartado 3.2.2)

Estas mismas determinaciones se realizaron a los filetes de lubina tras el procesado.

Con los valores obtenidos a partir de estas determinaciones y los pesos de los filetes antes y después del proceso de salado, se calcularon las variaciones de masa total (ΔM_j^o), variación de masa de agua (ΔM_j^w) y variación de masa de cloruro sódico (ΔM_j^{NaCl}). Las ecuaciones empleadas para calcular las variaciones de masa, corresponden a las descritas anteriormente en el apartado 3.4 (capítulo IV.1) donde el subíndice "j" corresponde al tiempo de salado (t) en el caso del salado con control cinético y a la concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}) en el caso del control termodinámico.

En el estudio de salado con control cinético se calculó a su vez el valor de difusividad de la sal, de acuerdo a lo descrito en el capítulo IV.1, apartado 3.5.

3.4. Análisis estadístico

El procedimiento de regresión múltiple por pasos, con el método de selección de variables hacia adelante (*stepwise forward selection*) fue empleado para la obtención de un modelo para cada una de las variaciones de masa. En el caso del control cinético las variaciones de masa total (ΔM_t^o), de agua (ΔM_t^w) y de cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl}), así como la concentración de NaCl (x^{NaCl} , X^{NaCl} y z^{NaCl}) se relacionaron con la variables independientes: tiempo (t), masa

inicial (M_0^o), espesor (e) y superficie (A). En el caso del control termodinámico, las variaciones de masa (ΔM_t^o , ΔM_j^w y ΔM_j^{NaCl}) y concentración de sal, se relacionaron con las siguientes variables independientes: concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}), masa inicial (M_0^o), espesor (e) y superficie (A) (tabla IV.6). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa estadístico Statgraphics® Plus v.5.1.

Tabla IV.6. Variables dependientes e independientes consideradas en el análisis de regresión múltiple para los dos procedimientos de salado: control cinético y control termodinámico.

Variables dependientes		Variables independientes	
C. cinético	C. termodinámico	C. cinético	C. termodinámico
ΔM_t^o	ΔM_j^o	t	X_{obj}^{NaCl}
ΔM_t^w	ΔM_j^w	M_0^o	M_0^o
ΔM_t^{NaCl}	ΔM_j^{NaCl}	e	e
X^{NaCl}	x^{NaCl}	A	A
χ^{NaCl}	χ^{NaCl}		
z^{NaCl}	z^{NaCl}		

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la materia prima

Los valores promedio de longitud (L), anchura (a) y peso (M) de las lubinas empleadas como materia prima fueron 453 ± 68 g, 33 ± 2 cm y $7,7 \pm 0,6$ cm, respectivamente.

En la tabla IV.7 se muestran los valores promedio de los pesos y dimensiones de los filetes empleados en ambos procesos de salado, así como los resultados obtenidos a partir de las determinaciones de humedad, cloruro sódico y actividad de agua a la lubina fresca.

Tabla IV.7. Masa inicial (M_0^o), área (A) y espesor (e) de los filetes empleados en el estudio (n=90), y las concentraciones promedio de humedad (x_0^w) y cloruro sódico (x_0^{NaCl}) y actividad de agua (a_w) de la lubina fresca. Valores promedio \pm SD (n=12).

M_0^o (g)	106 \pm 21
A (cm ²)	98 \pm 16
e (cm)	0,6 \pm 0,1
x_0^w (g/g)	0,70 \pm 0,01
x_0^{NaCl} (g/g)	0,003 \pm 0,001
a_w	0,988 \pm 0,003

4.2. Control cinético del proceso de salado de lubina

La evolución de las variaciones de masa total (ΔM_t^o), agua (ΔM_t^w) y cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl}) de las muestras de lubina durante el proceso de salado se muestra en la figura IV.7.

Las variaciones de humedad y de cloruro sódico presentaron un comportamiento opuesto a lo largo del periodo de salado, y cómo las variaciones de peso experimentadas por los filetes podrían considerarse una combinación de ambas variaciones de masa. Sin embargo, la pérdida de peso observada no sólo se debe a la deshidratación osmótica del producto, sino también a la desnaturalización proteica debida a la acción de la sal, tal y como ha sido demostrado por diferentes autores (Barat *et al.*, 2003; Duerr y Dyer, 1952; Ismail y Wootton, 1982). En este mismo sentido, también hay que destacar que las bruscas variaciones en el contenido de NaCl y agua que se producen al inicio del proceso, aparecen como consecuencia de otros mecanismos diferentes a los difusionales, como son la desnaturalización proteica, las fuerzas capilares en el lecho de sal, etc. (Barat *et al.*, 2003).

Los elevados valores de R^2 para las variaciones de masa total y de NaCl, respectivamente (entre 0,908 y 0,987) indicarían el alto grado de correlación entre el tiempo de salado y la transferencia de materia durante el procesado de

la lubina. Se puede asumir que se produce un transporte pseudo-difusional debido a la fuerte dependencia de las variaciones de masa con la raíz cuadrada del tiempo, tal y como ha sido expuesto por otros autores (Barat *et al.*, 2006; Peppas y Brannon-Peppas, 1994).

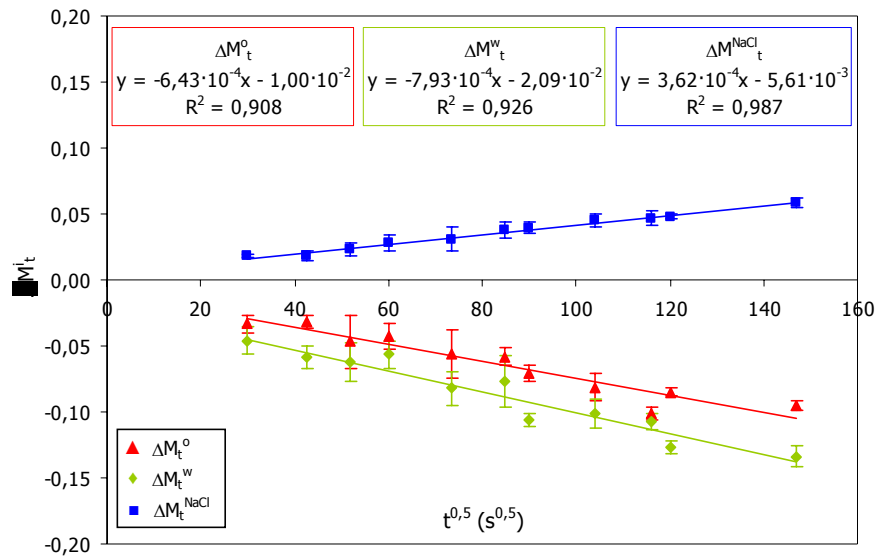


Figura IV.7. Variación de masa total (ΔM_t^o), variación de masa de agua (ΔM_t^w) y variación de masa de cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl}) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ($t^{0,5}$).

La representación de la evolución del contenido de cloruro sódico (x^{NaCl} , X^{NaCl} y Z^{NaCl}) durante el proceso de salado, se muestra en la figura IV.8. Tal y como cabría esperar, el contenido de NaCl de los filetes de lubina aumentó progresivamente con el tiempo de salado, observándose el mayor incremento en el caso de la concentración de sal expresada en base seca (X^{NaCl}), debido a que durante el proceso, además de la incorporación de solutos, en el músculo de pescado se produce una deshidratación osmótica

Los valores de R^2 para las series de x^{NaCl} , X^{NaCl} y z^{NaCl} (entre 0,965 y 0,990) fueron del orden de los obtenidos en el caso de las variaciones de masa.

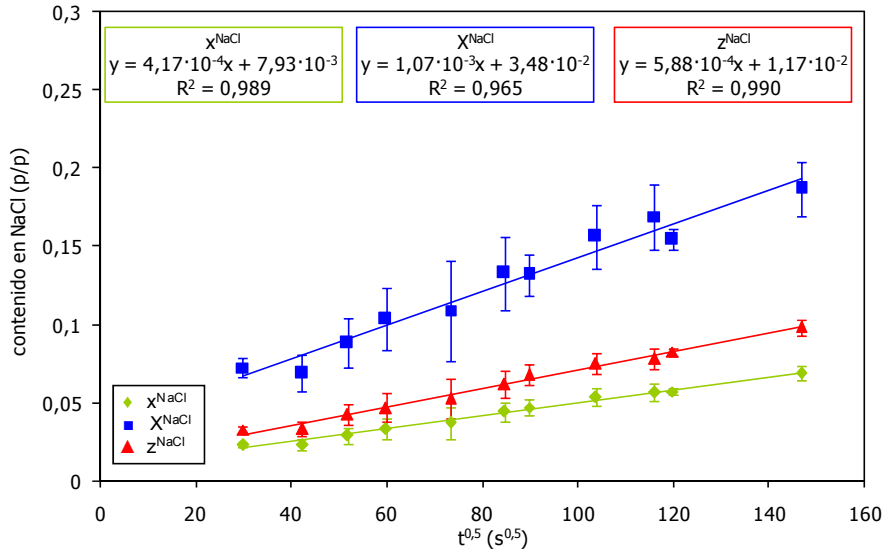


Figura IV.8. Valores de la fracción másica de NaCl (x^{NaCl}), concentración de NaCl en base seca (X^{NaCl}) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}) frente a la raíz cuadrada del tiempo de procesado ($t^{0,5}$).

Con el objeto de estudiar la influencia de las variables de procesado sobre ΔM_t^0 , ΔM_t^w , ΔM_t^{NaCl} , x^{NaCl} , X^{NaCl} y z^{NaCl} durante el proceso de salado, se empleó el procedimiento de regresión múltiple por pasos, con el método de selección de variables hacia adelante, siendo las variables independientes el tiempo de salado, área de contacto pescado-sal, espesor y peso inicial de los filetes. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico se muestran en la tabla IV.8.

Tabla IV.8. Coeficientes de regresión (b) y de correlación parcial (R_{part}^2) para cada variable independiente¹ y coeficientes de determinación (R^2) para las variable dependientes², en el estudio cinético. Cte: constante del modelo.

	ΔM_t^o		ΔM_t^w		ΔM_t^{NaCl}		x^{NaCl}		X^{NaCl}		z^{NaCl}	
	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2
$t^{0,5}$	-0,000554*	0,824	-0,000810***	0,786	0,000360***	0,952	0,00387***	0,945	0,000925***	0,903	0,000578***	0,958
M_0	0,000281**	0,172	-	-	-	-	-0,000868*	0,00213	-0,000561***	0,0967	-	-
e	-	-	0,0715***	0,197	-0,0171***	0,0483	-0,0111*	0,0524	-	-	-0,0254	0,0421
A	0,000355**	0,011	0,000361*	0,017	-	-	-	-	-	-	-	-
Cte	-0,0780	-	-0,0972	-	0,0168	-	0,0268	-	0,107	-	0,0289	-
R^2	0,939		0,848		0,881		0,942		0,909		0,944	

Nivel de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

¹ $t^{0,5}$: raíz cuadrada del tiempo de salado ($\text{min}^{0,5}$), M_0 : masa inicial (g), e: espesor (cm), A: superficie (cm^2)

² ΔM_t^o : variación de masa total; ΔM_t^w : variación de masa de agua; ΔM_t^{NaCl} : variación de masa de NaCl; x^{NaCl} : fracción másica de NaCl (g NaCl/g pescado); X^{NaCl} : razón másica de NaCl (g NaCl/g materia seca); z^{NaCl} : fracción másica de sal en la fase líquida (g NaCl/L fase líquida de la lubina)

El tiempo de salado tuvo un importante efecto tanto sobre las variaciones de masa como sobre las concentraciones de sal, siendo la única variable que aparece en todos los casos y la de mayor contribución en todas las ecuaciones de regresión, especialmente en las variables relacionadas con el contenido en cloruro sódico (ΔM_t^{NaCl} , x^{NaCl} , X^{NaCl} y z^{NaCl}), con valores de los coeficientes de correlación parcial (R_{part}^2) que oscilaron entre 0,903 y 0,958. Además, hay que destacar que el valor absoluto del coeficiente de regresión de la variable $t^{0,5}$, para la variación de masa de agua, fue mayor que el obtenido para la variación de masa de NaCl, lo que indicaría que para un mismo tiempo de salado, la pérdida de agua sería mayor que la ganancia de sal. Este hecho sería debido a que los iones Na^+ y Cl^- tienen una mayor resistencia al transporte que el agua, tal y como puede verse cuando se comparan los valores de difusividad en diferentes procesos de salado (Gou y Comaposada, 2000), provocando la pérdida de peso observada durante el proceso.

El peso inicial, el área de contacto pescado-sal y el espesor tuvieron efecto significativo sobre algunos de los fenómenos de transferencia de materia (tabla IV.8). De estos resultados se podría establecer que los filetes de lubina con menor espesor ganarían más sal y perderían más agua que los filetes más gruesos; de igual forma, a mayor superficie de contacto pescado-sal menores pérdidas de agua y peso.

En otros estudios (Bellagha *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2000; Zugarramurdi y Lupín, 1980) se han desarrollado diferentes modelos para predecir las variaciones de masa (total, agua y cloruro sódico) producidas en el músculo de pescado durante el proceso de salado, considerando la existencia de dos coeficientes teóricos, los cuales estarían relacionados directamente con la concentración de sal y humedad, para cada tiempo de salado, pero sin considerar el efecto de las dimensiones y peso de los filetes. Sin embargo, los modelos obtenidos en este estudio a partir del análisis estadístico de los datos, mostraron que las variables relacionadas con las características de los filetes también afectan, en mayor o menor medida, a la transferencia de materia

durante el proceso de salado (tabla IV.8), por lo que deberían ser consideradas en la modelización del mismo.

Estudio de difusividad de la sal

El valor de difusividad de la sal se calculó a partir de los cambios producidos en los valores de fracción másica de NaCl de la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}) (capítulo IV.1, apartado 3.5). En la figura IV.9 se muestran los valores de $1 - Y_t^{\text{NaCl}}$ frente los valores de $t^{0.5}/l$; a partir de la ecuación de ajuste de estos datos, se obtuvo el valor de difusividad de la sal (D_e), siendo este igual a $1,30 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Este valor es similar a los datos consultados en bibliografía para otras especies de pescado (Del Valle y Nickerson, 1967; Peters, 1971; Rodger *et al.*, 1984; Sakai y Miki, 1982; Sakai y Suzuki, 1985; Stefenovskaya *et al.*, 1976; Wang *et al.*, 2000). Las pequeñas variaciones respecto a estos valores, podrían ser debidas a que los valores de difusividad de la sal están afectados por las características intrínsecas del pescado, el agente de salado y las condiciones de presión y temperatura, entre otros.

El valor de D_e es ligeramente superior al obtenido en la fase anterior de este estudio ($D_e = 7,54 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$) (capítulo IV.1, apartado 4.3.1), debido principalmente a las diferentes condiciones de procesado. En este caso, los filetes fueron cubiertos por una capa de sal, lo que aumentaría el contacto de la sal con la carne del pescado y favorece que el agua que migra desde el interior del músculo hacia el exterior permanezca en la superficie de los filetes, disolviendo la sal depositada sobre ellos, formando así una salmuera que penetra hacia el interior del tejido. Estos factores estarían, por tanto, favoreciendo la difusión de la sal hacia el interior del músculo. En el caso anterior, los filetes se depositaron sobre la capa de sal y, por tanto, el agua que sale desde el músculo se perdería, en forma de exudado, por gravedad a través del lecho de sal.

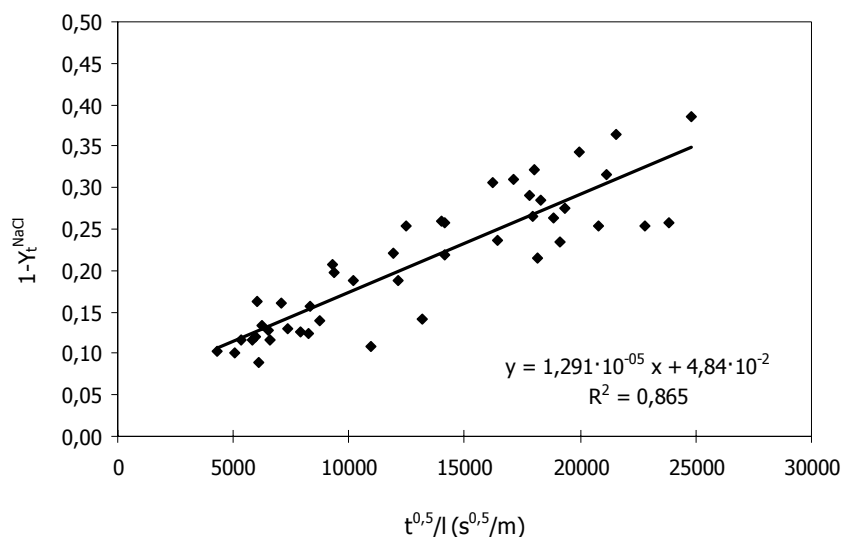


Figura IV.9. Ajuste de los valores de la inversa de la fuerza impulsora reducida ($1 - Y_t^{\text{NaCl}}$) frente a $t^{0,5}/l$ en los filetes de lubina.

4.3. Control termodinámico del proceso de salado de lubina

En el estudio termodinámico del proceso de salado de lubina, se calcularon las variaciones de masa total, agua y cloruro sódico (ΔM_j^o , ΔM_j^w y ΔM_j^{NaCl}). La representación de estos valores frente a la concentración de sal objetivo ($X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}}$) se muestra en la figura IV.10. Tal y como se puede observar en esta figura, el uso de cantidades crecientes de sal provocó mayores pérdidas de agua y peso, así como a una mayor ganancia de NaCl. Los elevados valores de los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos en las tres series de datos, indicarían que los datos obtenidos experimentalmente se ajustan de forma satisfactoria a una ecuación lineal. Se observa cómo en el caso de la variación de masa de agua (ΔM_j^w) existe cierta variabilidad, posiblemente debida a diferencias en los valores de humedad inicial entre los distintos filetes de pescado.

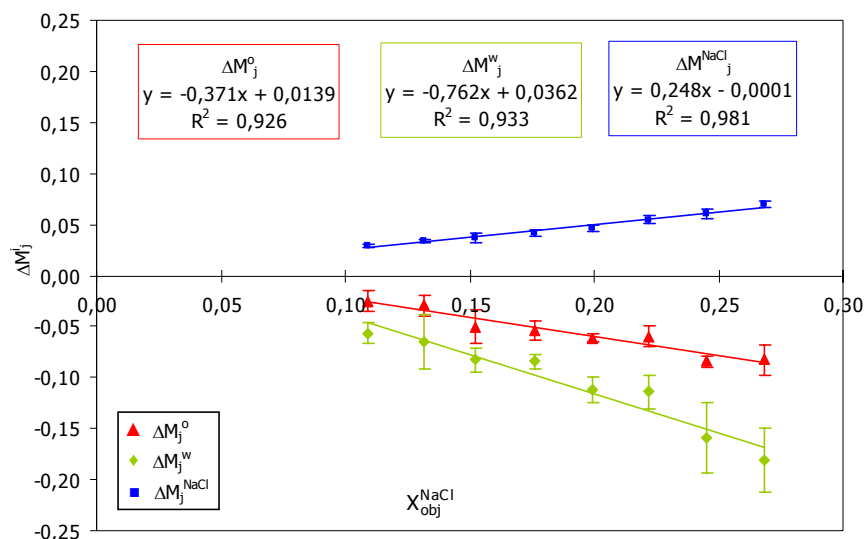


Figura IV.10. Variación de masa total (ΔM_j^0), variación de masa de agua (ΔM_j^w) y variación de masa de cloruro sódico (ΔM_j^{NaCl}) frente a la concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}).

En la figura IV.11 se muestra la evolución de la concentración de NaCl (x^{NaCl} , X^{NaCl} , z^{NaCl}) con el nivel de sal objetivo. Al aumentar la concentración de sal objetivo, los valores experimentales de concentración de cloruro sódico se alejan cada vez más de la diagonal, es decir, la desviación de la concentración de sal teórica es mayor cuanto mayor es el nivel de sal objetivo. Esta desviación de los valores teóricos estaría provocada por la pérdida de sal en forma de exudado.

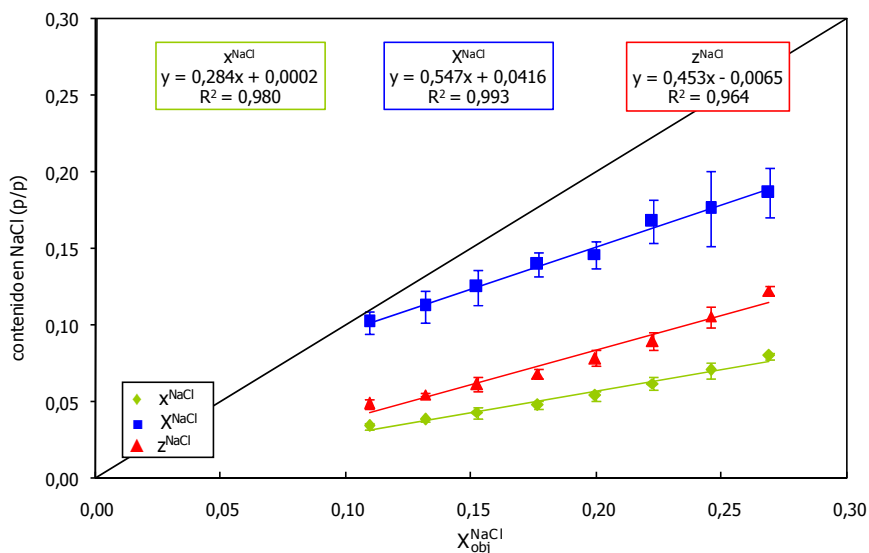


Figura IV.11. Fracción másica de NaCl (x^{NaCl}), concentración de NaCl en base seca (X^{NaCl}) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}) frente a la concentración de sal objetivo ($X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}}$).

Durante el proceso de salado, el agua presente en el músculo del pescado migra hacia la superficie, disolviendo el cloruro sódico presente en la superficie. Como consecuencia de este proceso, se forma una salmuera en la superficie del filete; parte de la sal presente en esta salmuera penetra hacia el interior del músculo, lo que conduce a un incremento en la concentración de NaCl, mientras que otra parte se pierde en forma de exudado. El exudado de cada uno de los filetes se recogió en las bandejas de salado, y fue pesado al finalizar el proceso. A partir de estos datos, se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA simple), considerando como variable la cantidad de exudado y como factor el nivel de sal objetivo. El análisis estadístico mostró que la cantidad de salmuera exudada fue significativamente mayor cuanto mayor era la cantidad de sal añadida (figura IV.12), lo que permitiría explicar la desviación de los valores experimentales de los teóricos.

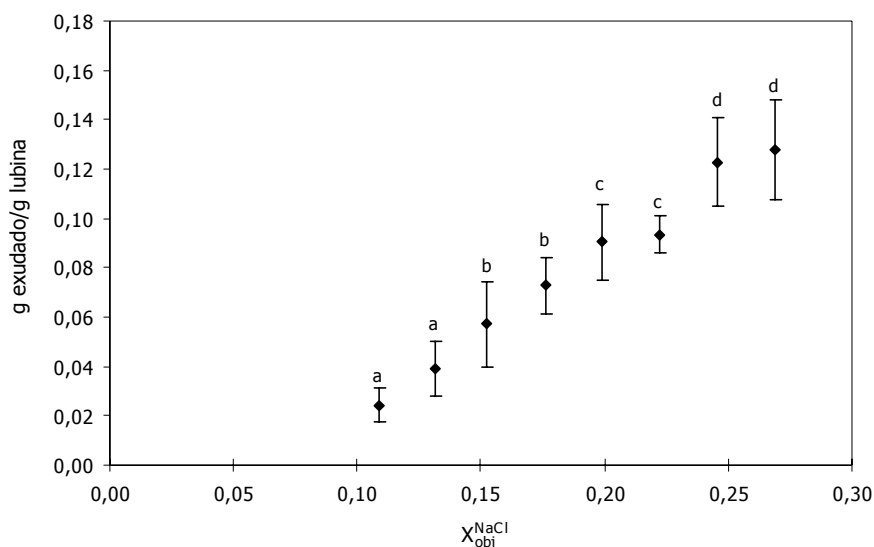


Figura IV.12. Salmuera exudada durante el proceso de salado con control termodinámico (g exudado/g lubina) frente a la concentración de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}). Los puntos experimentales con letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas ($p < 0,05$).

Mediante el procedimiento de regresión múltiple por pasos, con el método de selección de variables hacia adelante, se evaluó el efecto de las variables de procesado sobre las variaciones de masa (ΔM_j^0 , ΔM_j^w y ΔM_j^{NaCl}) y las concentraciones de cloruro sódico (x^{NaCl} , X^{NaCl} , z^{NaCl}). Las variables independientes consideradas fueron, en este caso, el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{NaCl}), masa inicial (M_0^0), espesor (e) y superficie de contacto pescado-sal (A) de los filetes de pescado. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico se muestran en la tabla IV.9.

Tabla IV.9. Coeficientes de regresión (b) y de correlación parcial (R_{part}^2) para cada variable independiente¹ y coeficiente de determinación (R^2) para las variable dependientes², en el estudio termodinámico. Cte: constante del modelo.

	ΔM_j^o		ΔM_j^w		ΔM_j^{NaCl}		x^{NaCl}		χ^{NaCl}		z^{NaCl}	
	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2
X_{obj}^{NaCl}	-0,393***	0,887	-0,729***	0,972	0,241***	1	0,284***	1	0,530***	1	0,459***	1
M_0^o	0,000209**	0,01546	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
e	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A	0,000377*	0,097	0,000528**	0,0277	-	-	-	-	-	-	-	-
Cte	-0,0523	-	-0,0314	-	0,00131	-	-0,000156	-	0,0441	-	-0,00745	-
R^2	0,901		0,844		0,848		0,954		0,841		0,951	

Nivel de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

¹ X_{obj}^{NaCl} : concentración de sal objetivo (g sal/g materia seca); M_0 : masa inicial (g); e: espesor (mm); A: superficie (cm²)

² ΔM_t^o : variación de masa total; ΔM_t^w : variación de masa de agua; ΔM_t^{NaCl} : variación de masa de NaCl; x^{NaCl} : fracción másica de NaCl (g NaCl/g pescado); χ^{NaCl} : razón másica de NaCl (g NaCl/g materia seca); z^{NaCl} : fracción másica de sal en la fase líquida (g NaCl/L fase líquida de la lubina)

El efecto de la variable X_{obj}^{NaCl} fue significativo en todos los casos, siendo ésta la única variable que se repite en todas las ecuaciones. Hay que destacar también que los coeficientes de regresión de esta variable presentaron valores muy próximos a los valores de la pendiente de las ecuaciones obtenidas a partir del ajuste lineal que se muestra en las figuras IV.10 y IV.12.

En las ecuaciones de regresión de las variaciones de masa total (ΔM_j^o) y masa de agua (ΔM_j^w), el efecto de la superficie de contacto del filete con la sal (A) fue significativo, aunque su contribución en la ecuación fue menor que en el caso de la variable X_{obj}^{NaCl} . Los valores de los coeficientes de regresión (b) en ambos casos fueron similares a los obtenidos en el estudio cinético de salado. En este sentido, cuanto mayor es la superficie de los filetes, menores serían las pérdidas de agua y peso durante el proceso; este efecto podría ser atribuido a que una mayor superficie contribuiría a la retención de la salmuera formada, reduciéndose las pérdidas por exudado.

4.4. Comparación entre control cinético y control termodinámico

La actividad de agua (a_w) es uno de los parámetros empleados como criterio para estudiar la estabilidad de los alimentos y su valor depende directamente de la composición y concentración de solutos en el alimento. En los productos salados, el valor de a_w está directamente relacionado con la concentración de NaCl en la fase líquida del producto (z^{NaCl}). Esta relación se puede observar en la figura IV.13, donde aparecen representados los valores z^{NaCl} de las muestras de lubina frente a sus correspondientes valores de a_w para ambos procesos de salado. En esta misma figura se muestran los valores de a_w de una disolución de NaCl a diferentes concentraciones. Hay que destacar en primer lugar que las muestras de pescado mostraron un comportamiento similar a una salmuera, con la misma concentración de NaCl que la de la fase líquida del producto. Los valores de a_w del pescado fueron ligeramente inferiores a los de la salmuera, probablemente debido al efecto de la matriz

proteica, la cual retiene el agua presente en el músculo. La ecuación que se muestra en la figura, corresponde al ajuste de los resultados experimentales independientemente del proceso de salado empleado.

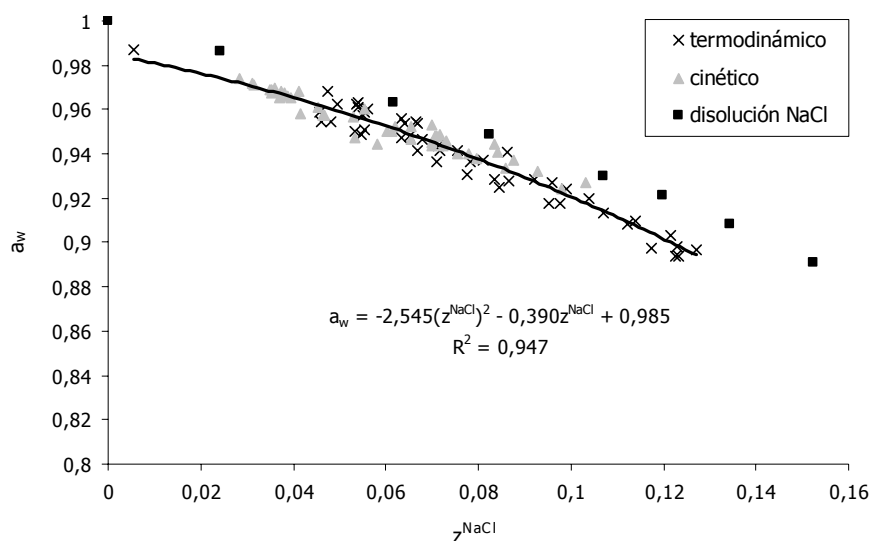


Figura IV.13. Representación de los valores experimentales de z^{NaCl} frente a a_w para el proceso de salado con control cinético y termodinámico, y para una disolución de NaCl.

Suponiendo el valor de a_w y de humedad de la lubina ahumada comercial (los obtenidos en el capítulo III del presente trabajo: $a_w = 0,961 \pm 0,002$; $x^w = 0,70 \pm 0,01$ (p/p)), y a partir de la ecuación que se muestra en la figura IV.13, sería posible estimar el valor de z^{NaCl} en los filetes de lubina tras el proceso de salado, que sería necesario para obtener un producto con dicho valor de a_w . Así, sustituyendo este valor de a_w en dicha ecuación, se dedujo un valor de z^{NaCl} igual a 0,0471 g NaCl/g fase líquida, lo que correspondería a un valor de X^{NaCl} igual a 0,121 g NaCl/g materia seca, para un producto con un 70% (p/p) de humedad.

El valor de X^{NaCl} anteriormente obtenido podría ser sustituido en las ecuaciones de ajuste que aparecen en las figuras IV.8 y IV.12, para los procesos de salado con control cinético y termodinámico, respectivamente. De esta forma, para el salado controlado cinéticamente se estableció que 102 min sería el tiempo necesario para alcanzar la concentración de sal requerida, mientras que para el salado controlado termodinámicamente, se estableció un valor igual a 0,145 g sal/g materia seca como $X_{\text{obj}}^{\text{NaCl}}$.

Con el valor promedio y su desviación estándar obtenidos para las variaciones de masa (ΔM_j^0 , ΔM_j^w y ΔM_j^{NaCl}) y las concentraciones de cloruro sódico (x^{NaCl} , X^{NaCl} , z^{NaCl}), se calcularon los coeficientes de variación para cada uno de los puntos de análisis (es decir, los diferentes periodos de tiempo en el caso del control cinético y los diferentes niveles de sal objetivo en el control termodinámico) y para ambos procesos de salado. Con estos valores se realizó un análisis de la varianza (ANOVA simple) con el objeto de comparar la variabilidad entre ambos procesos (tabla IV.10). No se encontraron diferencias significativas entre los coeficientes de variación para las variaciones de masa total y masa de agua; sin embargo, el ANOVA mostró una mayor variabilidad en los términos relativos al contenido en NaCl para el proceso controlado cinéticamente. En este sentido, considerando que la estabilidad de los productos salados está directamente relacionada con su contenido en cloruro sódico, el control termodinámico resultaría más interesante, ya que permitiría reducir la variabilidad observada en los productos comerciales (capítulo III.2), proporcionando, de este modo, productos con un contenido de sal homogéneo, asegurando una misma intensidad del sabor salado y evitando posibles problemas relacionados con el incorrecto establecimiento de la vida útil del producto.

Tabla IV.10. Coeficientes de la varianza (valor promedio \pm SD) para las variaciones de masa total, agua y NaCl (ΔM_j^o , ΔM_j^w y ΔM_j^{NaCl}), fracción másica de NaCl (x^{NaCl}), fracción másica de NaCl en base seca (X^{NaCl}) y fracción másica de NaCl en la fase líquida de la lubina (z^{NaCl}), para el proceso de salado con control cinético y termodinámico, y resultado del ANOVA. salado con control cinético: $j=t$; control termodinámico: $j=X_{obj}^{NaCl}$.

	Control cinético	Control termodinámico	α
ΔM_j^o	0,16 \pm 0,1 a	0,21 \pm 0,1 a	ns
ΔM_j^w	0,14 \pm 0,08 a	0,18 \pm 0,09 a	ns
ΔM_j^{NaCl}	0,14 \pm 0,07 a	0,06 \pm 0,02 b	*
x^{NaCl}	0,13 \pm 0,07 a	0,06 \pm 0,02 b	**
X^{NaCl}	0,14 \pm 0,07 a	0,08 \pm 0,02 b	*
z^{NaCl}	0,12 \pm 0,06 a	0,05 \pm 0,02 b	*

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): ns: no significativo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Otra de las ventajas del proceso de salado controlado termodinámicamente frente al control cinético sería el uso de una cantidad menor de sal para conseguir reducir el valor de a_w hasta un mismo valor. Para el salado con control termodinámico, las cantidades de sal empleadas oscilaron entre $4,6 \pm 0,4$ y 13 ± 1 g para el mayor y menor valor de X_{obj}^{NaCl} , respectivamente, mientras que para el procedimiento de salado con control cinético se emplearon un promedio de 57 ± 9 g de sal por filete.

El principal inconveniente del proceso de salado con control termodinámico sería el mayor tiempo de salado, por ello sería necesario ajustar el tiempo de procesado en función del nivel de sal objetivo.

Hay que destacar también que la menor influencia del resto de variables en el caso del salado con control termodinámico (tabla IV.9) comparado con el controlado cinéticamente (tabla IV.8), podría ser otra de las ventajas de este

procedimiento, ya que permite reducir la variabilidad provocada por diferencias en la materia prima.

5. CONCLUSIONES

El estudio del salado controlado cinéticamente mostró que, tal y como cabría esperar, los cambios producidos en el músculo de pescado durante el proceso estuvieron afectados principalmente por el tiempo de salado, mientras que para el proceso controlado termodinámicamente, la variable con mayor influencia fue la concentración de sal objetivo. Se observó que las variables relacionadas con las dimensiones de los filetes de pescado (peso inicial, espesor y superficie de contacto) afectaron a la transferencia de materia en menor medida cuando se empleó el proceso de salado con control termodinámico, lo que permite reducir la variabilidad ocasionada por diferencias en las características de la materia prima.

Mediante el control termodinámico es posible obtener productos más homogéneos, especialmente respecto a su contenido en sal, mejorando el control de aquellos aspectos relacionados con la seguridad del producto y atributos sensoriales. Además, la necesidad de una menor cantidad de sal, es otra de las ventajas de este procedimiento de salado.

IV.3. ESTUDIO DEL SALADO DE LUBINA (*Dicentrarchus labrax* L.) CON MEZCLAS DE CLORURO SÓDICO Y CLORURO POTÁSICO

1. INTRODUCCIÓN

Las nuevas tendencias en el consumo de alimentos, hacen que los aspectos relacionados con la salud aparezcan como uno de los criterios más significativos que dirigen las pautas de la alimentación actual. Aproximadamente un 80% de los hogares españoles busca productos sanos y saludables, siendo éste un aspecto clave a la hora de decidir la compra de un determinado tipo de alimento. Esta preocupación por el efecto de la dieta sobre la salud ha favorecido la aparición de nuevas áreas en el desarrollo de alimentos, donde se busca que estos nuevos productos aporten beneficios adicionales a las funciones fisiológicas del organismo humano, especialmente contribuyendo en el tratamiento, control o reducción de riesgos asociados a determinadas enfermedades como el colesterol, la diabetes, la hipertensión o el cáncer. Es precisamente dentro de este campo donde aparecen los alimentos funcionales y los enriquecidos. Las cifras de ventas de los llamados alimentos funcionales y enriquecidos, en sus correspondientes categorías, presentan las mayores cuotas de crecimiento, tanto en valores como en unidades. Es decir, se trata de productos por los que el consumidor está cada vez más interesado y por el que puede estar dispuesto a pagar más.

La innovación industrial en el desarrollo de este tipo de alimentos, permite a los productores diferenciarse del resto de competidores en el mercado, así como obtener productos con cierto valor añadido, lo cual supone un incremento en los márgenes del beneficio empresarial. Estas innovaciones aparecen en todos los sectores de la industria alimentaria, como productos lácteos, cárnicos, vegetales e industria de la pesca. La utilización del pescado, como materia prima en este campo, resulta especialmente interesante, ya que el pescado es uno de los alimentos más importantes en la dieta humana, no sólo por su alto valor nutritivo y su fácil digestibilidad, sino también porque su

grasa contiene un alto contenido en ácidos ω -3, de conocido efecto beneficioso para la salud. Los ácidos grasos ω -3 previenen la aparición de algunos tipos de cáncer, la hipertensión y la hipercolesterolemia, reduciendo el riesgo de infarto y otros accidentes cardiovasculares; así diferentes expertos mantienen que las poblaciones grandes consumidoras de pescado tienen unos índices de enfermedades cardiovasculares bastante más bajos a la media mundial (Krombout *et al.*, 1985).

El pescado es un alimento altamente susceptible al deterioro, por lo que el hombre desde la antigüedad ha utilizado diferentes formas de elaboración con el objetivo de prolongar su vida útil. En este sentido, procesos como el salado, ahumado, marinado, etc., han sido ampliamente utilizados, ya que además de alargar la vida del alimento permiten conservar prácticamente todos los nutrientes del pescado fresco. Sin embargo, desde el punto de vista nutricional, estos productos derivados no son recomendables para un cierto sector de la población, debido a su elevado contenido en sodio. La ingesta de sodio en los países desarrollados excede las recomendaciones nutricionales, relacionándose este exceso directamente con enfermedades como la hipertensión. La elevada presión sanguínea incrementa el riesgo de infarto y muerte prematura por enfermedades cardiovasculares (Ruusunen y Poulanne, 2005). La incidencia de esta enfermedad puede prevenirse mediante un descenso en la ingesta de sodio y, en particular, en la relación sodio-potasio en la dieta. La reducción del consumo de sal común o su sustitución por otras sales minerales con bajo contenido en sodio y enriquecidas con potasio, magnesio o lisina, supone una de las tendencias actuales, en la elaboración industrial de productos alimenticios y en los hogares (Karppanena, 2002).

En el sector cárnico se han llevado a cabo diferentes estudios con el objetivo de evaluar la viabilidad de la reducción en el contenido en sodio de diferentes productos cárnicos (Frye *et al.*, 1986; Gelabert *et al.*, 2003; Gimeno *et al.*, 1999, 2001; Hand *et al.*, 1982; Matlock *et al.*, 1984; Muguerza *et al.*, 2004; Ibáñez *et al.*, 1996; Ibáñez *et al.*, 1997; Quintanilla *et al.*, 1996;

Ruusunen *et al.*, 2001, 2005; Ruusunen y Poulanne, 2005). Sin embargo, el desarrollo de productos de la pesca con bajo contenido en sodio es escaso, reduciéndose casi exclusivamente al bacalao salado (Martínez-Álvarez *et al.*, 2005; Martínez-Álvarez y Gómez-Guillén, 2005, 2006; Rodrigues *et al.*, 2005). Por todo lo expuesto anteriormente, el desarrollo de nuevos productos de la pesca con bajo contenido en sodio es un área de gran interés en la investigación industrial.

La importancia del cloruro sódico en la elaboración de los productos de la pesca, radica no solo en su acción conservante sino en que además contribuye a la generación de un aroma, sabor y textura característicos para este tipo de productos. Durante el proceso de salado, la deshidratación e incorporación de sal en el músculo del pescado, se produce un aumento en la concentración de sal en su fase líquida, provocando la reducción en los valores de a_w , lo que favorece a la estabilidad del producto, tanto microbiológica como bioquímica. Las modificaciones en la composición del producto, tanto cualitativa como cuantitativamente, afectan a los valores finales de a_w y, por tanto, a su estabilidad durante el almacenamiento. Todos los solutos no poseen la misma capacidad de depresión de la a_w ; es por ello que el empleo de diferentes sales modificaría el valor de a_w del producto respecto a los pescados salados tradicionales. En este sentido, estudiar el efecto de la reducción o de la sustitución total o parcial del cloruro sódico por otras mezclas alternativas de sales sobre los valores de a_w , sería determinante para establecer el periodo de vida útil y los estándares de calidad de estos nuevos productos.

2. OBJETIVO

El objetivo de este capítulo fue evaluar el efecto de la sustitución de sodio sobre los fenómenos de transferencia de materia durante el proceso de salado, así como sobre algunas propiedades fisico-químicas del producto final.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima y preparación de la muestra

Se emplearon 42 lubinas (*Dicentrarchus labrax* L.) procedentes de acuicultura (Andromeda S.A), de calibre 400-500 g y que fueron adquiridas a un distribuidor local.

A su llegada al laboratorio, las lubinas fueron pesadas, lavadas, evisceradas y finalmente fileteadas, obteniendo dos filetes de cada pescado. Finalmente, antes de ser salados, los filetes se pesaron y midieron (figura IV.14).

En el proceso de salado se emplearon diferentes formulaciones de sales elaboradas a partir de cloruro sódico (NaCl) y cloruro potásico (KCl) (QP, Esparreguera, Barcelona). En estas mezclas fue introducido carbonato magnésico (MgCO₃) (Panreac, Barcelona, España), con el objeto de evitar el apelmazamiento de las sales como consecuencia de la incorporación de KCl en la mezcla. Se estudiaron cuatro formulaciones que contenían proporciones diferentes de NaCl y KCl. La composición de estas formulaciones así como la designación que se utilizará a lo largo del trabajo se muestra en la tabla IV.11.

Tabla IV.11. Composición de cada una de las formulaciones empleadas en el estudio de salado de lubina. x^{NaCl} , x^{KCl} y x^{MgCO_3} corresponden a las fracciones másicas de NaCl, KCl y MgCO₃, de cada una de las formulaciones (g/g mezcla).

Formulación	x^{NaCl}	x^{KCl}	x^{MgCO_3}
100% NaCl	1	-	-
75% NaCl - 25% KCl	0,74	0,25	0,01
50% NaCl - 50% KCl	0,49	0,50	0,01
25% NaCl - 75% KCl	0,24	0,75	0,01

3.2. Procedimiento de salado

Los filetes de lubina previamente medidos y pesados se sometieron a un proceso de salado controlado termodinámicamente (figura IV.14). Se seleccionó este tipo de salado basándonos en los resultados obtenidos en la fase anterior del estudio, ya que, como se ha comentado anteriormente, este procedimiento permite la obtención de productos con un contenido de sal más homogéneo, asegurando un mejor control de los aspectos relacionados con la seguridad del producto, así como de sus atributos sensoriales. Adicionalmente, el uso de una menor cantidad de sal, así como la menor influencia de otras variables de proceso serían otros de los motivos por lo que este procedimiento de salado fue seleccionado.

El salado de los filetes se realizó depositando, sobre su cara interna (carne), la cantidad de sal necesaria para alcanzar la concentración de sólidos solubles (ss) fijada como objetivo (razón másica de sólidos solubles (X_{obj}^{ss})) para siendo estos valores teóricos 0,110; 0,150; 0,200; 0,225 y 0,270 g sal/g lubina.

La cantidad de sal empleada en cada caso se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$X_{obj}^{ss} = \frac{m_{sal}}{M_0^o \cdot (1 - x_0^w) + m_{sal}} \quad \text{Eq. IV.9}$$

donde:

X_{obj}^{ss} = razón másica de sal objetivo (g sal/g materia seca) fijada como objetivo.

x_0^w = fracción másica de agua inicial en los filetes de lubina (g H₂O/g pescado).

m_{sal} = masa de sal a añadir (g).

M_0^o = masa inicial del filete (g).

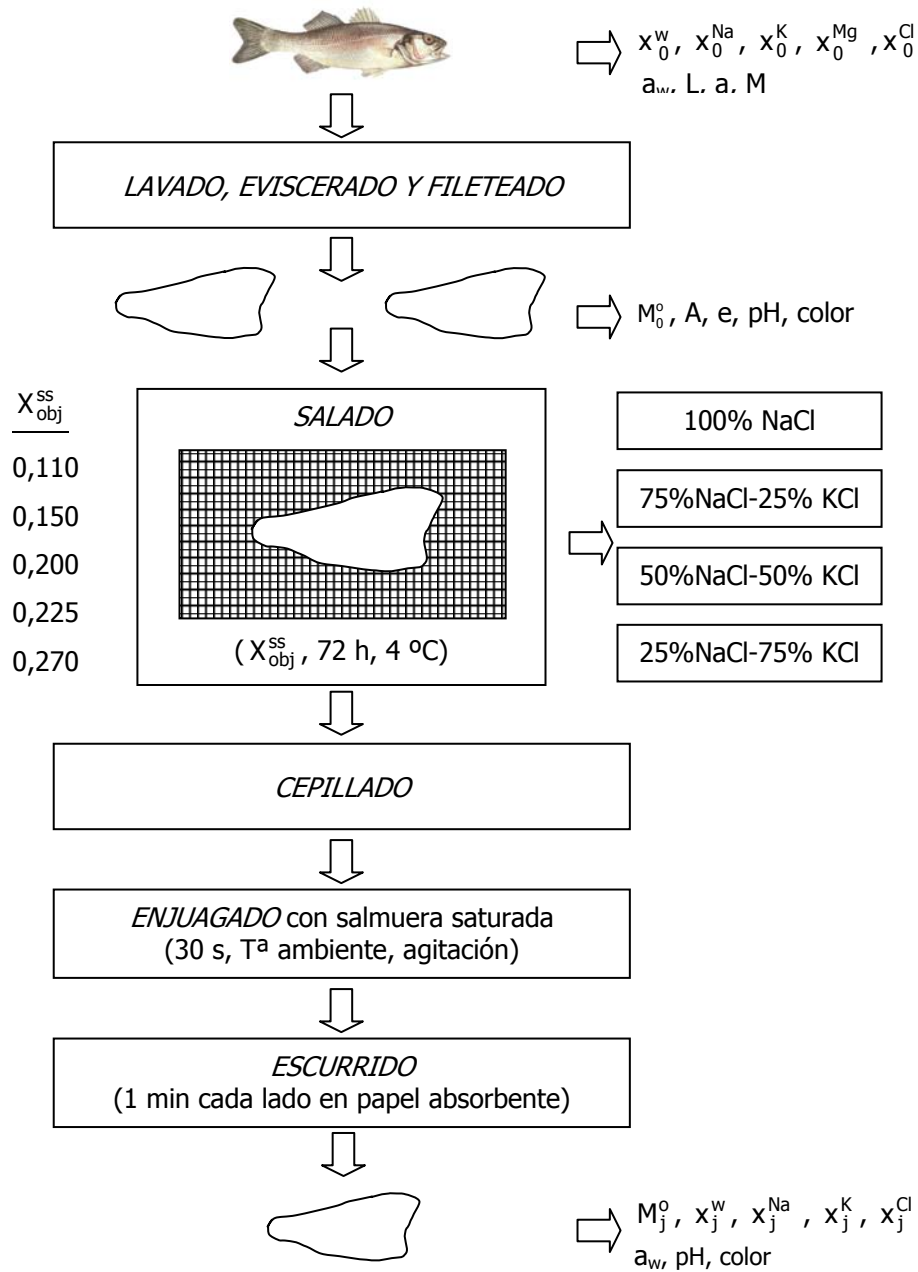


Figura IV.14. Esquema del proceso de salado de los filetes de lubina. Nomenclatura en anexo B (tabla VIII.2).

El punto final del salado se determinó de manera experimental, previamente al salado definitivo, siguiendo las mismas condiciones descritas anteriormente. Se consideró como final del proceso el tiempo necesario para que toda la sal fuera completamente absorbida por el pescado, estableciéndose de esta forma un tiempo de salado igual a 72 h.

Tras el proceso de salado, los filetes fueron cepillados y sumergidos, durante 30 s, en una salmuera saturada ($x^{\text{NaCl}}=0,26$ p/v), en constante agitación, con el objeto de eliminar los cristales de sal adheridos a la superficie del pescado. El exceso de disolución de la superficie se eliminó, dejando escurrir cada uno de los filetes 1 min por cada lado sobre papel absorbente.

3.3. Determinaciones analíticas

Se realizó una caracterización fisico-química de la lubina fresca empleada como materia prima. Para ello se determinó el contenido en:

- ✓ Humedad (método descrito en el capítulo III.1, apartado 3.2.1)
- ✓ Cenizas (capítulo III.1, apartado 3.2.4)
- ✓ Contenido en minerales: sodio, potasio y magnesio (capítulo III.1, apartado 3.2.5)
- ✓ Cloruros (capítulo III.2, apartado 3.2.2)
- ✓ Actividad de agua (a_w) (capítulo III.1, apartado 3.2.7)
- ✓ pH
- ✓ Color

Una vez finalizado el proceso de salado, los filetes de lubina se pesaron y se determinaron los contenidos en humedad, sodio, potasio, magnesio y cloruro, así como los valores de actividad de agua, pH y color.

3.3.1. pH

El pH de las muestras de lubina se midió directamente sobre los filetes empleando un pH-metro Crison micropH 2001 (Crison Instruments S.A., Alella,

Barcelona, España) con electrodo de punción acoplado. De cada filete se tomaron 6 lecturas en puntos diferentes del mismo, a partir de las cuales se calculó el valor de pH promedio

3.3.2. Color

Las determinaciones de color se realizaron a cada uno de los filetes de lubina antes y después de ser sometidos al proceso de salado con el objeto de evaluar el efecto de las diferentes mezclas de sales sobre el color de la lubina. Para estas determinaciones se empleó un espectrofotómetro Minolta CM 3600-d (Minolta, Osaka, Japón), con observador 10° e iluminante D65. Este equipo permite una medida objetiva del color, a través de la cuantificación de la luz reflejada por la muestra. Previamente se procedió a una calibración del blanco y del negro, y se seleccionó el sistema de referencia deseado.

La determinación, expresión e interpretación del color se efectuó utilizando las tres coordenadas colorimétricas L* (claridad o luminosidad), a* (desviación hacia el rojo y el verde) y b* (desviación hacia el amarillo y el azul) del sistema CIE L*a*b* (CIE, 1976). A partir de estas coordenadas, el equipo proporciona directamente las magnitudes psicofísicas croma (C*) y tono (h*). A su vez, se calcularon los valores correspondientes a las diferencias de color global (ΔE) (Eq. IV.10), producidas durante el proceso de salado, con el objeto de evaluar el efecto global del salado sobre el color de los filetes de lubina, así como el efecto de cada una de las mezclas de sales.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2} \quad \text{Eq. IV.10}$$

donde:

$$\Delta a^* = a_{\text{fresca}}^* - a_{\text{salada}}^*$$

$$\Delta b^* = b_{\text{fresca}}^* - b_{\text{salada}}^*$$

$$\Delta L^* = L_{\text{fresca}}^* - L_{\text{salada}}^*$$

3.4. Bases de cálculo

Con el objeto de cuantificar la cantidad de sólidos solubles (solutos) ganados por el músculo de pescado durante el proceso de salado, se emplearon las concentraciones de sodio, potasio, magnesio y cloruros, obtenidas en las determinaciones analíticas. A partir de la suma de estas concentraciones se obtuvieron los valores experimentales de concentración en sólidos solubles (x^{ss}) para cada una de las muestras analizadas.

Con los pesos de cada uno de los filetes, antes y después del proceso de salado, y con los valores obtenidos en las determinaciones de humedad y sólidos solubles, se calcularon los valores de variación de masa total (ΔM_j^o), variación de masa de agua (ΔM_j^w) y variación de masa de sólidos solubles (ΔM_j^{ss}), mediante las ecuaciones IV.11 a IV.13.

Variación de masa total:

$$\Delta M_j^o = \left(\frac{M_j^o - M_0^o}{M_0^o} \right) \quad \text{Eq. IV.11}$$

Variación de masa de agua:

$$\Delta M_j^w = \left(\frac{M_j^o \cdot x_j^w - M_0^o \cdot x_0^w}{M_0^o} \right) \quad \text{Eq. IV.12}$$

Variación de masa de sólidos solubles:

$$\Delta M_j^{ss} = \left(\frac{M_j^o \cdot x_j^{ss} - M_0^o \cdot x_0^{ss}}{M_0^o} \right) \quad \text{Eq. IV.13}$$

donde:

M_j^o = masa del filete para cada X_{obj}^{ss} (g).

M_0^o = masa inicial del filete (g).

x_j^w = fracción másica de agua para cada X_{obj}^{ss} (g H₂O/g pescado).

x_0^w = fracción másica de agua inicial (g H₂O/g pescado).

x_j^{ss} = fracción másica de sólidos solubles para cada $X_{objetivo}^{ss}$ (g ss/g pescado).

x_0^{ss} = fracción másica de sólidos solubles inicial (g ss/g pescado).

3.5. Análisis estadístico

Se empleó un análisis de la varianza (ANOVA) multifactor, para estudiar la existencia de diferencias significativas en los valores de humedad, concentración de sólidos solubles (x^{ss} y z^{ss}), así como de pH y a_w en función del tipo de sal empleada y del nivel de sal objetivo.

El procedimiento de regresión múltiple por pasos, con el método de selección de variables hacia adelante (*stepwise forward selection*) fue empleado para la obtención de un modelo para cada una de las variaciones de masa y las concentraciones de sólidos solubles. Se consideraron como variables dependientes las variaciones de masa total (ΔM_j^0), agua (ΔM_j^W) y sólidos solubles (ΔM_j^{SS}), fracción y razón másica de sólidos solubles (x^{ss} y X^{ss}) y fracción másica de sólidos solubles en fase líquida de la lubina (z^{ss}); como variables independientes se tomaron el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{ss}), fracción másica de cloruro sódico en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y masa inicial (M_0^0), espesor (e) y superficie (A) de los filetes de lubina. El uso de la variable x^{NaCl} se consideró adecuada para explicar el comportamiento de las muestras de lubina, a medida que aumenta la proporción de sodio que ha sido sustituida en la mezcla, permitiendo así diferenciar entre los distintos tipos de sal empleados en este estudio.

Ambos procedimientos estadísticos fueron realizados con el programa Statgraphics® Plus v5.1.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la materia prima

El peso promedio de las lubinas empleadas como materia prima en el presente estudio fue 417 ± 85 g ($n=42$). Tal y como se ha descrito anteriormente, antes de ser sometidos al proceso de salado, los filetes de lubina se midieron y pesaron. Los valores promedio de peso, espesor y

superficie de los filetes de lubina fueron 124 ± 15 g, $0,7 \pm 0,1$ cm y 109 ± 12 cm², respectivamente. Los valores obtenidos en la caracterización de la materia prima utilizada en el presente estudio se muestran en la tabla IV.12.

Tabla IV.12. Fracciones másicas de agua (x_0^w), cloruro (x_0^{Cl}), sodio (x_0^{Na}), potasio (x_0^K) y magnesio (x_0^{Mg}), así como los valores de actividad de agua (a_w) y pH de la lubina fresca. Valores promedio \pm SD (n=12).

x_0^w (g/g)	$0,72 \pm 0,02$
x_0^{Cl} (g/g)	$1,25 \cdot 10^{-3} \pm 0,2 \cdot 10^{-3}$
x_0^{Na} (g/g)	$6,05 \cdot 10^{-4} \pm 0,5 \cdot 10^{-4}$
x_0^K (g/g)	$3,74 \cdot 10^{-3} \pm 0,6 \cdot 10^{-4}$
x_0^{Mg} (g/g)	$2,23 \cdot 10^{-4} \pm 0,6 \cdot 10^{-4}$
a_w	$0,988 \pm 0,003$
pH	$6,10 \pm 0,10$

4.2. Estudio del proceso de salado de lubina con diferentes mezclas de sales

A partir de los valores de concentración de sólidos solubles (x^{ss}) y de los sus correspondientes valores de humedad (x^w), se calculó la razón másica de sólidos solubles (concentración de sólidos solubles expresados en base seca) para las diferentes mezclas de sales, a cada una de las concentraciones objetivo, mediante la ecuación IV.14:

$$X^{ss} = \frac{x^{ss}}{1 - x^w} \quad \text{Eq. IV.14}$$

En la figura IV.5 se muestran los valores promedio de concentración de sólidos solubles (expresados en base seca) obtenidos experimentalmente (X^{ss}) frente a los niveles de sólidos solubles objetivo (X_{obj}^{ss}). La diagonal que aparece en cada una de las gráficas correspondería a los casos donde los valores experimentales igualan a los valores objetivo; de esta forma, los puntos

situados por debajo de la diagonal implicarían valores de concentración de sal inferiores a los teóricos, mientras que los situados por encima corresponderían a valores mayores que los objetivo. Se observa como para los niveles de sal objetivo más bajos, los valores de concentración de sólidos solubles fueron muy próximos a los valores objetivo; sin embargo, a medida que aumentaba la cantidad de sal añadida, estos valores se alejaban cada vez más de la diagonal, es decir, los valores teóricos se alejaban más de los experimentales.

Se observan también pequeñas diferencias en las líneas de tendencia en función del tipo de sal empleada, de forma que al aumentar la proporción de cloruro sódico sustituido en la mezcla, la pendiente de la recta de regresión se acerca más a la unidad, por tanto, se podría establecer que para un mismo valor de X_{obj}^{SS} , a medida que aumenta la cantidad de potasio en la mezcla la concentración de sólidos solubles real se acerca más al valor objetivo.

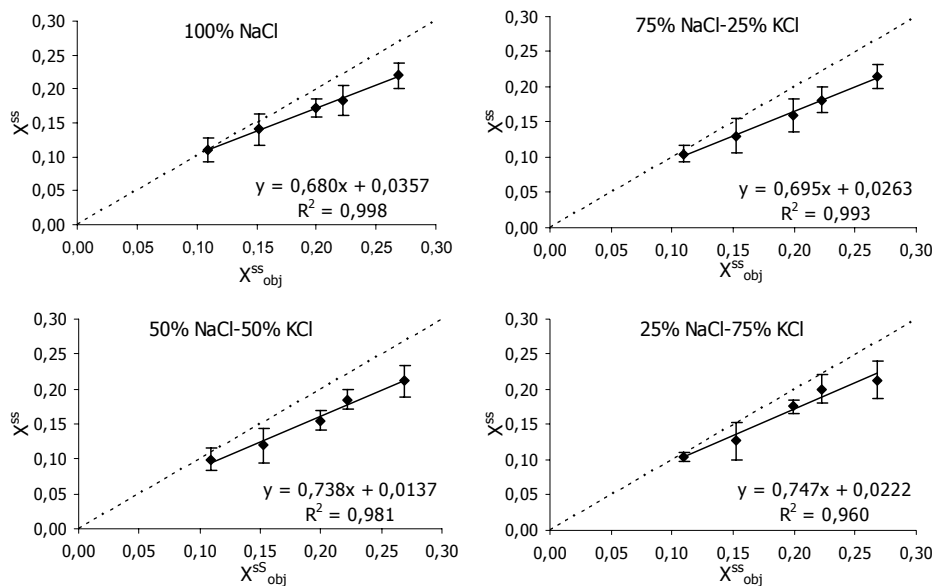


Figura IV.15. Representación de los valores promedio de razón másica de sólidos solubles experimentales (X^{SS}) frente a los valores objetivo (X_{obj}^{SS}), para cada una de las mezclas de sales.

A partir de los valores obtenidos en las determinaciones experimentales se calcularon las variaciones de masa total (ΔM_j^o), de masa de agua (ΔM_j^w) y de sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) producidas durante el proceso de salado, para cada una de las mezclas de sales. En las figuras IV.16 a IV.19 se muestran los valores promedio obtenidos para cada una de estas variaciones de masa frente a los valores de la concentración de sal objetivo, para cada una de las cuatro formulaciones de sales empleadas.

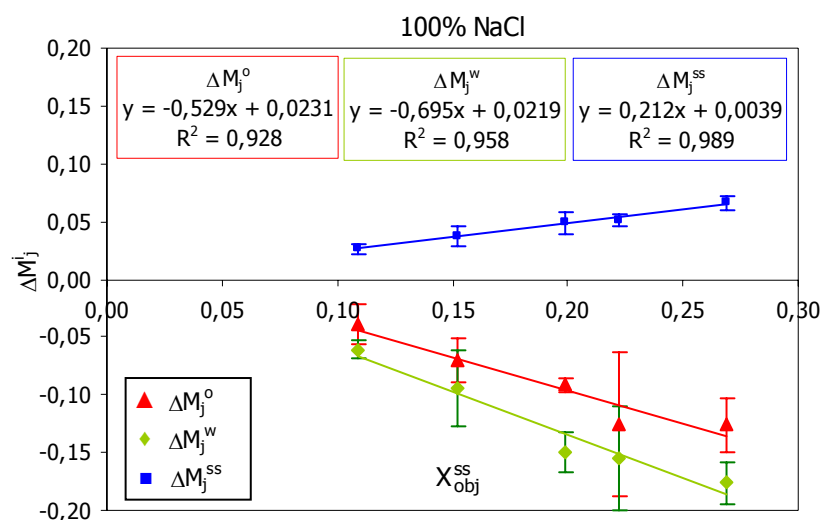


Figura IV.16. Variación de masa total (ΔM_j^o), agua (ΔM_j^w) y sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) en muestras de lubina saladas con 100% NaCl.

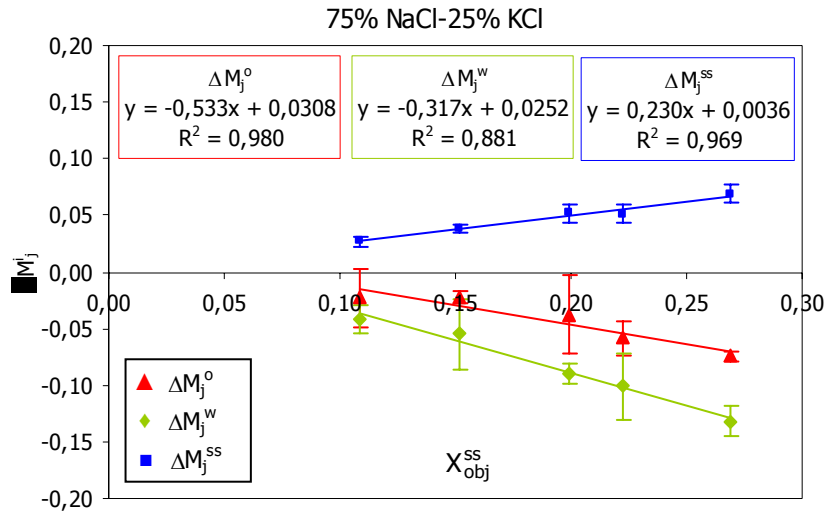


Figura IV.17. Variación de masa total (ΔM_j^o), agua (ΔM_j^w) y sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) en muestras de lubina saladas con la mezcla 75% NaCl-25% KCl.

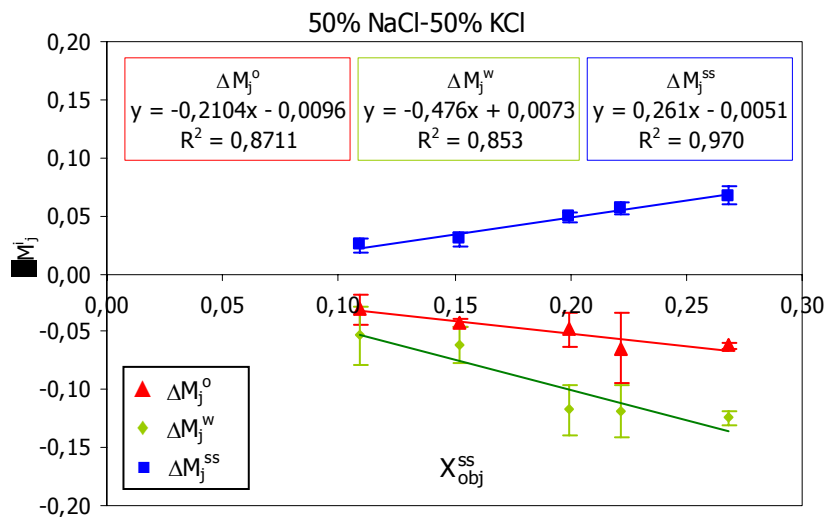


Figura IV.18. Variación de masa total (ΔM_j^o), agua (ΔM_j^w) y de sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) en muestras de lubina saladas con la mezcla 50% NaCl-50% KCl.

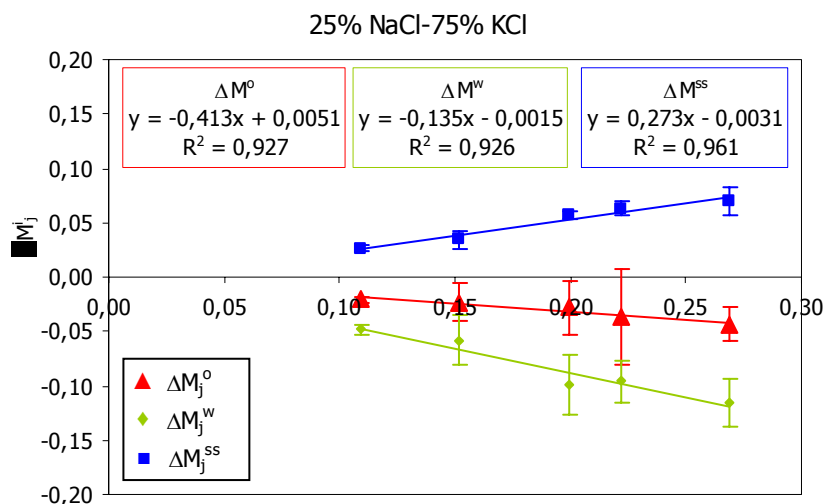


Figura IV.19. Variación de masa total (ΔM_j^o), agua (ΔM_j^w) y sólidos solubles (ΔM_j^{ss}) frente a la razón másica de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) en muestras de lubina saladas con la mezcla 25% NaCl-75% KCl.

En el proceso de salado, al aumentar la concentración de sal fijada como objetivo, las muestras de lubina perdieron más peso y humedad, y ganaron una mayor cantidad de sólidos solubles. La incorporación de sal al músculo se produce como consecuencia de la competición con las moléculas de agua en las proteínas, produciéndose un desnaturalización y agregación proteica, este fenómeno conocido como "salting out" provoca la deshidratación del músculo (Martínez-Álvarez y Gómez-Guillén, 2006).

En general, los valores promedio de estas variaciones se ajustan satisfactoriamente a una recta, con valores de R^2 que oscilaron entre 0,989 y 0,853. Al igual que ha sido observado en el capítulo anterior (capítulo IV.2, apartado 4.3), las mayores desviaciones estándar correspondieron a las variaciones de humedad, lo que podría ser atribuido a diferencias en los

contenidos de humedad entre los diferentes pescados empleados como materia prima.

Hay que destacar también que los mejores ajustes correspondieron a la variación de sólidos solubles (R^2 entre 0,989 y 0,960). Este hecho nos indicaría que la cantidad de sal añadida en cada caso pasa al músculo del pescado en una proporción casi constante, en función del valor de X^{ss} objetivo y del tipo de formulación empleada, lo que nos permitiría controlar con exactitud la cantidad de sal que gana el pescado, consiguiendo, de esta forma, una alta reproducibilidad en los valores finales de concentración de la sal en el producto.

Los valores obtenidos para la fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}) y fracción másica de sólidos solubles en la fase líquida (z^{ss}), se sometieron a un análisis estadístico, con el objeto de estudiar la existencia de diferencias significativas en función del nivel de sal fijado como objetivo (X_{obj}^{ss}) y el tipo de sal empleada (x^{NaCl}). Para ello se realizó un ANOVA multifactor para cada una de las variables x^w , x^{ss} y z^{ss} , considerando como factores el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) y la proporción de NaCl sustituida en la mezcla de sales (x^{NaCl}), así como la interacción de ambos factores. Los resultados de los ANOVAS (tabla IV.13) indicaron un efecto significativo del nivel de sal objetivo en todas las variables estudiadas; sin embargo el efecto del tipo de formulación solo fue significativo para la humedad ($p < 0,001$) y fracción másica de sólidos solubles en la fase líquida ($p < 0,05$). En ninguno de los casos la interacción entre los factores fue significativa, lo que indicaría que ambos factores influyen en las variables estudiadas de forma totalmente independiente.

Tabla IV.13. Resultados del ANOVA multifactor realizado para las variables fracción másica de agua (x^w), fracción másica de sólidos solubles (x^{ss}) y fracción másica de sólidos solubles en la fase líquida (z^{ss}), y los factores proporción de NaCl en la mezcla (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (x_{obj}^{ss}).

	x^{Na}		x_{obj}^{ss}		$x^{NaCl} \cdot x_{obj}^{ss}$	
	F-ratio	α	F-ratio	α	F-ratio	α
x^w	6,75	***	79,21	***	1,30	ns
x^{ss}	2,31	ns	255,15	***	1,41	ns
z^{ss}	2,81	*	280,93	***	1,62	ns

Nivel de significación (α): ns: no significativo; * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$

4.3. Estudio del efecto de las variables de proceso sobre el salado de lubina con diferentes mezclas de sales

Con el objeto de evaluar la influencia de las variables de procesado sobre las variaciones de masa y concentración de sólidos solubles, se realizaron regresiones múltiples considerando como variables dependientes las variaciones de masa total (ΔM_j^0), agua (ΔM_j^w) y sólidos solubles (ΔM_j^{ss}), fracción y razón másica de sólidos solubles (x^{ss} y X^{ss}) y fracción másica de sólidos solubles en fase líquida de la lubina (z^{ss}); como variables independientes se tomó la masa inicial (M_0^0), espesor (e) y superficie (A) de los filetes de lubina, así como el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) y fracción másica de cloruro sódico en la mezcla de sal empleada en cada caso (x^{NaCl}). Los resultados obtenidos en este análisis se muestran en la tabla IV.14.

Tabla IV.14. Coeficientes de regresión (b) y de correlación parcial (R_{part}^2) para cada variable independiente¹ y coeficiente de determinación (R^2) para cada variable dependiente², en el estudio termodinámico. Cte: constante del modelo.

	ΔM_j^o		ΔM_j^w		ΔM_j^{ss}		x^{ss}		X^{ss}		z^{ss}	
	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2	b	R_{part}^2
x^{Na}	-0,0641***	0,547	-0,0481***	0,851	-0,00527*	0,010						
X_{ob}^{ss}	-0,311***	0,452	-0,577***	0,149	0,269***	0,996	0,306***	0,994	0,702***	0,995	0,437***	0,996
M_0^o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
e	-	-	-	-	-0,00104*	0,004	-0,00133*	0,0056	-0,00302*	0,0052	-0,00170*	0,0044
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cte	0,0454***		0,0424***		0,00117**	-	0,0129**		0,639***		00151**	
R^2	0,564		0,633		0,823		0,848		0,807		0,857	

Nivel de significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

¹ x^{NaCl} : fracción másica de cloruro sódico en la mezcla de sales; X_{obj}^{NaCl} : concentración de sólidos solubles objetivo (g ss/g materia seca), M_0 : masa inicial (g), e: espesor (mm), A: área de contacto (cm²)

² ΔM_j^o : variación de masa total; ΔM_j^w : variación de masa de agua; ΔM_j^{ss} : variación de masa de sólidos solubles; x^{ss} : fracción másica de sólidos solubles (g ss/g lubina); X^{ss} : razón másica de sólidos solubles (g ss/g materia seca); z^{ss} : fracción másica de sólidos solubles en la fase líquida (g NaCl/L fase líquida de la lubina)

En todos los modelos, el efecto de la variable X_{obj}^{ss} fue significativo ($p < 0,001$), presentando el mayor efecto sobre las variables que corresponden a las diferentes expresiones de la concentración de sólidos solubles (ΔM_j^{ss} , x^{ss} , X^{ss} y z^{ss}). Hay que destacar que en estos casos, el tipo de sal empleada no fue significativo, excepto para la variación de masa de sólidos solubles ($p < 0,05$) aunque su contribución fue mucho menor que la de la variable X_{obj}^{ss} ($R_{part}^2 = 0,01$). Para estas variables (ΔM_j^{ss} , x^{ss} , X^{ss} y z^{ss}), el espesor de los filetes también fue significativo ($p < 0,05$), aunque su contribución fue prácticamente despreciable, tal y como demuestran los bajos valores de R_{part}^2 (entre 0,004 y 0,005).

Para las variaciones de masa total (ΔM_j^o) y de agua (ΔM_j^w), la variable con mayor contribución al modelo obtenido fue la fracción másica de NaCl en la mezcla, especialmente para ΔM_j^w .

A partir de los coeficientes de regresión (b) de los modelos estadísticos, se podría predecir el comportamiento de las variaciones de peso, humedad y solutos, así como las concentraciones finales en sólidos solubles de las muestras tras el proceso de salado de lubina, en función de las variables de procesado. A partir de los valores de estos coeficientes cabría esperar que al aumentar la concentración de sal objetivo, el pescado presentara una mayor pérdida de agua y peso, a la vez que una mayor ganancia en solutos, mientras que al aumentar la proporción de cloruro sódico sustituida en la mezcla por cloruro potásico, se producirían menores pérdidas de peso y humedad y mayor ganancia de sólidos solubles, aunque el efecto de esta variable mucho menor comparado con el efecto de ejerce el nivel de sal objetivo. Este hecho podría estar provocado en mayor medida por la fuerte capacidad deshidratante del NaCl, que por su facilidad para penetrar en el músculo, es decir, que una mayor proporción de cloruro sódico en la mezcla estaría provocando una mayor migración de agua desde el músculo a la interfase pescado-sal. El agua, que

sale desde el músculo, disuelve la sal depositada sobre el filete, formando una salmuera, parte de la cual penetra hacia el interior del pescado, mientras que otra parte se pierde en forma de exudado contribuyendo así a esta menor ganancia de sólidos.

El efecto de la composición de la sal ha sido estudiado por Martínez-Álvarez *et al.* (2004) para el proceso de salado de bacalao empleando salmueras con diferentes composiciones, donde se observó que la sustitución de hasta un 50% del NaCl de la mezcla por KCl no afectó al proceso de salado, ni a los parámetros físico-químicos estudiados en ese trabajo; por el contrario, la sustitución de más de la mitad de cloruro sódico por cloruro potásico, dificultó la ganancia de cloruros por el músculo. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que a mayor proporción de NaCl en la mezcla, menor ganancia de sólidos solubles, como se ha comentado anteriormente (Figuras IV.16 a IV.19 y tabla IV.14). Las diferencias entre ambos estudios podrían deberse principalmente a que los procedimientos de salado (empleando salmuera o sal sólida) estarían afectando de forma distinta al comportamiento de las muestras de pescado.

Los pesos del exudado formado durante el proceso de salado se muestran en la tabla IV.15. Se observa como la cantidad de exudado aumentó de forma importante con el nivel de sal objetivo y en menor medida con la proporción de NaCl en la mezcla. Con el exudado se pierde parte de la sal dosificada sobre la superficie de los filetes de lubina, lo que explicaría la desviación de los valores de X^{ss} experimentales de los valores objetivo, tal y como se ha observado anteriormente (figura IV.15).

Tabla IV.15. Cantidad de exudado recogido (g exudado/100 g lubina) tras el proceso de salado. Valores promedio \pm SD (n=3).

X_{obj}^{ss}	x^{NaCl}			
	1	0,75	0,5	0,25
0,110	1,7 \pm 0,6	0,88 \pm 0,04	1,01 \pm 0,08	0,17 \pm 0,06
0,150	3,8 \pm 1,1	2,2 \pm 0,7	3,6 \pm 1,09	1,5 \pm 0,7
0,200	3,9 \pm 1,6	5,6 \pm 1,0	5,0 \pm 1,9	2,8 \pm 1,0
0,225	7,6 \pm 1,8	6,3 \pm 1,0	4,8 \pm 0,3	3,3 \pm 0,2
0,270	13 \pm 2	11,3 \pm 0,7	6,5 \pm 2,8	5,9 \pm 2,3

Para explicar la influencia que tiene el tipo de sal y el nivel de sal objetivo sobre la cantidad de líquido exudado durante el proceso de salado, se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) multifactor con los factores x^{NaCl} y X_{obj}^{ss} (tabla IV.16).

Tabla IV.16. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable cantidad de exudado (g exudado/g pescado) y los factores proporción de NaCl en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{ss}).

x^{NaCl}		X_{obj}^{ss}		$x^{NaCl} \cdot X_{obj}^{ss}$	
F-ratio	α	F-ratio	α	F-ratio	α
55,68	***	230,28	***	10,96	***

Nivel de significación (α): *** $p < 0,001$

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico mostraron que la proporción de NaCl en la mezcla, el nivel de sal objetivo, y la interacción de ambos tuvieron un efecto significativo ($p < 0,001$) sobre la cantidad de exudado, siendo el efecto más importante para X_{obj}^{ss} , con un valor de F-ratio muy superior al resto. El hecho de que la interacción sea significativa nos indicaría que el nivel de sal tuvo un efecto diferente sobre la pérdida de exudado dependiendo de la mezcla de sales utilizada.

4.4. Influencia del nivel de sal objetivo y de la mezcla de sales sobre los valores de a_w

Los valores de actividad de agua de las muestras de lubina tras el proceso de salado se muestran en la tabla IV.17.

Tabla IV.17. Valores de a_w de los filetes de lubina salados. Valores promedio \pm SD ($n=3$).

X_{obj}^{ss}	x^{NaCl}			
	1	0,75	0,5	0,25
0,110	0,959 \pm 0,003	0,962 \pm 0,004	0,963 \pm 0,003	0,964 \pm 0,006
0,150	0,946 \pm 0,007	0,950 \pm 0,006	0,956 \pm 0,003	0,958 \pm 0,004
0,200	0,937 \pm 0,004	0,939 \pm 0,003	0,942 \pm 0,006	0,936 \pm 0,007
0,225	0,920 \pm 0,009	0,934 \pm 0,009	0,930 \pm 0,003	0,926 \pm 0,003
0,270	0,905 \pm 0,008	0,912 \pm 0,003	0,918 \pm 0,004	0,919 \pm 0,004

Tal y como cabría esperar, el proceso de salado redujo de forma significativa los valores de a_w del pescado fresco, desde 0,988 (a_w de la materia prima) (tabla IV.12), hasta valores que oscilaron entre 0,964 hasta 0,905, dependiendo del nivel de sal objetivo y de la mezcla de sales empleada.

Para cada uno de los niveles de sal objetivo, los valores de a_w fueron ligeramente más bajos en las muestras saladas con 100% NaCl. Este mayor efecto depresor de la a_w del cloruro sódico comparado con las diferentes mezclas que incluían cloruro potásico fue observado anteriormente en el estudio del salado de bacalao (Dimitopoulou *et al.*, 2002). Como cabría esperar, para cada una de las mezclas de sales, los valores de a_w más bajos los presentaron las muestras que fueron saladas con la mayor cantidad de sal, debido a que presentaron una mayor concentración de solutos.

Con los valores correspondientes a las determinaciones de a_w de las muestras de lubina, se realizó un ANOVA multifactor, considerando como factores el tipo de sal y el nivel de sal objetivo. Los valores obtenidos en el análisis estadístico se muestran en la tabla IV.18. Se puede observar el

importante efecto del nivel de sal objetivo (F-ratio = 453,219) sobre los valores de a_w , El tipo de sal utilizada afectó también de manera significativa a los valores de a_w , sin embargo, fue mucho menor que el observado para x_{obj}^{ss} (F-ratio = 21,80).

Tabla IV.18. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable a_w y los factores proporción de NaCl en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (x_{obj}^{ss}).

x^{NaCl}		x_{obj}^{ss}		x^{NaCl}, x_{obj}^{ss}	
F-ratio	α	F-ratio	α	F-ratio	α
21,80	***	453,21	***	3,77	***

Nivel de significación (α): *** $p < 0,001$

4.5. Influencia del nivel de sal objetivo y de la mezcla de sales sobre los valores de pH

Tras el proceso de salado se tomaron lecturas de los valores de pH directamente sobre los filetes de lubina (tabla IV.19). Los filetes de lubina salados con 100% NaCl presentaron valores de pH ligeramente inferiores al resto y a los obtenidos para la lubina utilizada como materia prima (tabla IV.12). Este descenso de pH coincide con lo observado por otros autores que establecieron que el salado provocaba una reducción en los valores de pH del pescado fresco en especies como caballa (Goulas y Kontominas, 2005), merluza (Pastoriza *et al.*, 1998) y anchoa (Hernández-Herrero *et al.* 1999). La reducción en los valores del pH en el músculo del pescado debido a la adición de sal estaría relacionada con el incremento en la fuerza iónica de la disolución intracelular (Leroi y Joffraud, 2000). Este hecho permitiría explicar por que al aumentar el nivel de sal objetivo, el pH de las muestras de lubina tras el salado alcanzó valores más bajos. Por otro lado, se observa cómo para un mismo nivel

de sal objetivo, al aumentar la proporción de NaCl en la mezcla de sales el pH de las muestras fue menor.

Tabla IV.19. Valores de pH de los filetes de lubina salados. Valores promedio \pm SD (n=3).

X_{obj}^{ss}	x^{NaCl}			
	1	0,75	0,5	0,25
0,110	6,14 \pm 0,08	6,25 \pm 0,09	6,28 \pm 0,13	6,32 \pm 0,12
0,150	5,95 \pm 0,09	6,11 \pm 0,06	6,41 \pm 0,05	6,42 \pm 0,06
0,200	6,01 \pm 0,07	6,14 \pm 0,05	6,25 \pm 0,09	6,30 \pm 0,08
0,225	5,99 \pm 0,07	6,18 \pm 0,06	6,16 \pm 0,07	6,23 \pm 0,06
0,270	5,93 \pm 0,07	6,06 \pm 0,03	6,18 \pm 0,11	6,27 \pm 0,08

Con el objeto de cuantificar el efecto del tipo de sal y la concentración de sal objetivo sobre los valores de pH, se realizó un ANOVA multifactor, considerando como variable el pH de las muestras de lubina saladas y como factores el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{ss}) y el tipo de sal empleada (x^{NaCl}). Los resultados obtenidos en el análisis estadístico se muestran en la tabla IV.20. Tanto el tipo de sal como la concentración objetivo y la interacción entre ambos factores afectaron, de manera significativa al pH del músculo, siendo el efecto más importante el registrado para el tipo de sal empleada.

Tabla IV.20. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable pH y los factores proporción de NaCl en la mezcla de sales (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo (X_{obj}^{ss}).

x^{NaCl}		X_{obj}^{ss}		$x^{NaCl} \cdot X_{obj}^{ss}$	
F-ratio	α	F-ratio	α	F-ratio	α
108,59	***	16,64	***	4,95	***

Nivel de significación (α): *** $p < 0,001$

4.6. Evaluación del color

Se realizaron determinaciones colorimétricas a los filetes de lubina fresca. Con el objeto de estudiar la posible variabilidad en el color de la materia prima, los valores obtenidos para las coordenadas L*, a* y b* se sometieron a un análisis de la varianza (ANOVA) simple (tabla IV.21).

Tabla IV.21. Coordenadas L*, a* y b* de los filetes de lubina fresca. Valores promedio \pm SD (n=180).

		α
L*	59 \pm 4	***
a*	-1 \pm 2	***
b*	8 \pm 3	***

Nivel de significación (α): *** $p < 0,001$

Con el objetivo de comprobar si éstas diferencias de color se mantenían después del salado o si por el contrario, el proceso de salado conseguía atenuar estas diferencias iniciales en el color de las muestras de partida, se realizó un ANOVA multifactor considerando como variables las coordenadas L*, a* y b*, y como factores, el nivel de sal objetivo y el tipo de sal empleada. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico (tabla IV.22) indicaron que los distintos niveles de sal y distintas combinaciones de sal, así como que la interacción entre ambos factores tenían un efecto significativo sobre el color. Estos resultados solamente indicarán que el proceso de salado no consiguió uniformizar el color de las muestras, ya que las diferencias encontradas en el análisis multifactor, entre las distintas muestras saladas, podrían deberse, como se ha comentado anteriormente, a las propias diferencias de color encontradas en la materia prima.

Tabla IV.22. Resultados del ANOVA multifactor realizado para las variables L*, a* y b*, y los factores proporción de NaCl en la mezcla (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo ($x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$).

	x^{Na}		$x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$		$x^{\text{NaCl}} \cdot x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$	
	F-ratio	α	F-ratio	α	F-ratio	α
L*	12,60	***	6,19	***	5,54	***
a*	4,73	**	9,35	***	6,78	***
b*	5,54	**	3,70	**	4,12	***

Nivel de significación (α): ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

A partir de los valores de las coordenadas de color de los filetes antes y después del proceso de salado se calcularon los valores de diferencia de color (ΔE) para cada uno de los filetes (tabla IV.23). A partir de estos resultados no pudo establecerse ningún tipo de correlación entre el tipo y concentración de sal fijada, sobre las diferencias de color.

Tabla IV.23. Valores de diferencia de color (ΔE) en los filetes de lubina. Valores promedio \pm SD (n=3).

$x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$	x^{NaCl}			
	1	0,75	0,5	0,25
0,110	5,64 \pm 0,6	3,53 \pm 0,04	3,61 \pm 2,2	7,4 \pm 0,86
0,150	13,04 \pm 1,2	9,59 \pm 0,29	5,48 \pm 3,4	4,18 \pm 1,67
0,200	7,34 \pm 0,48	5,13 \pm 1,5	7,75 \pm 0,48	12,9 \pm 6,8
0,225	8,12 \pm 3,5	4,42 \pm 0,13	7,75 \pm 0,48	11,06 \pm 3,99
0,270	7,74 \pm 3,4	4,95 \pm 2,4	5,34 \pm 2,4	4,03 \pm 1,38

Con los datos obtenidos para la diferencia de color (ΔE) en las muestras de lubina, se realizó un ANOVA multifactor, tomando como factores el nivel de sal objetivo y el tipo de sal empleada. El análisis estadístico (tabla IV.24) mostró que tanto los dos factores (nivel y tipo de sal) como la interacción entre ambos, tuvieron un efecto significativo sobre los valores de ΔE , a un nivel de significación del 95%, lo que demostraría que el color de los filetes se vería

afectado significativamente por la cantidad de sal que fue añadida, siendo este efecto diferente en función de la mezcla de sal empleada.

Tabla IV.24. Resultados del ANOVA multifactor realizado para la variable diferencia de color (ΔE) y los factores proporción de NaCl en la mezcla (x^{NaCl}) y el nivel de sal objetivo ($x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$).

x^{NaCl}		$x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$		$x^{\text{NaCl}}, x_{\text{obj}}^{\text{ss}}$	
F-ratio	α	F-ratio	α	F-ratio	α
9,97	***	9,44	***	8,01	***

Nivel de significación (α): *** $p < 0,001$

Aunque los análisis estadísticos no mostraron ningún tipo de correlación entre las diferencias de color con el tipo y la cantidad de sal empleada, se estimó oportuno realizar por último, un ANOVA simple para cada uno de los parámetros de color por separado (L^* , a^* y b^*), con el objeto de estudiar la existencia de diferencias significativas en estos parámetros debido al propio proceso de salado. Los valores promedio de las coordenadas L^* , a^* y b^* para las muestras de lubina antes y después de ser sometidas al proceso de salado, así como los resultados de los ANOVAs realizados, se muestran en la tabla IV.25. El análisis estadístico mostró que el salado de los filetes de lubina provocó una reducción significativa en los valores de luminosidad y de la coordenada b^* , mientras que entre los valores de a^* antes y después de salado no se observaron diferencias significativas.

Tabla IV.25. Coordenadas L^* , a^* y b^* para los filetes de lubina antes y después del salado y resultado del ANOVA. Valor promedio \pm SD (n=180).

	L^*	a^*	b^*
Lubina fresca	59 \pm 4 a	-1 \pm 2 a	8 \pm 3 a
Lubina salada	54 \pm 3 b	-2 \pm 2 a	4 \pm 3 b
α	***	ns	***

Nivel de significación (α): ns: no significativo; *** $p < 0,001$

Letras iguales dentro de una misma columna indican la pertenencia a grupos homogéneos, mientras que letras diferentes indican la existencia de diferencias significativas

La reducción en los valores de luminosidad de los filetes de lubina tras el salado, estaría provocada por la pérdida de humedad asociada al salado, así como por la agregación de proteínas debida a la desnaturalización de las mismas por acción de la sal, lo que se traduce en una mayor opacidad de las muestras y, por tanto en una menor luminosidad, tal y como ha sido observado en otros estudios de pescado (Cardinal *et al.*, 2001). También se observó una reducción en los valores del parámetro b^* , lo que indicaría la pérdida de las tonalidades amarillas durante el salado, tal y como se pudo apreciar visualmente en los filetes de lubina salados.

5. CONCLUSIONES

La sustitución de cloruro sódico por cloruro potásico en la mezcla de sales, implicó menores pérdidas de peso y humedad, así como un ligero aumento en la concentración de sólidos solubles. El estudio de la evolución de los parámetros de transferencia de materia permitió la modelización de las variaciones de masa en función del tipo de sal empleada y del nivel de sal fijado como objetivo.

El salado de lubina produjo una reducción de pH y a_w , respecto a los valores de la materia prima empleada, siendo esto valores menores en el caso de las muestras saladas con 100% NaCl. Esta reducción de pH y a_w podría contribuir a prolongar la vida útil de este tipo de productos en refrigeración.

El empleo de diferentes sales de distinta composición no afectó al color de las muestras, ya que las diferencias observadas fueron consecuencia de la heterogeneidad de color en la materia prima.

IV.4. ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES DE SALADO, AHUMADO Y SECADO DE LUBINA (*Dicentrarchus labrax* L.) CON BAJO CONTENIDO EN SODIO

1. INTRODUCCIÓN

En los productos ahumados, las condiciones de procesado determinan en gran medida la calidad sensorial y la vida útil del producto final. Así por ejemplo, el retraso del crecimiento microbiano y el efecto letal del ahumado sobre la flora bacteriana patógena en el pescado ahumado, dependen del contenido de sal en la fase líquida del producto, temperatura, humedad y densidad del humo, duración del ahumado, concentración de los componente activos en las preparaciones del humo, así como del tiempo y temperatura durante el almacenamiento (Kolodziejaska *et al.*, 2002).

En la actualidad, debido a que el proceso de ahumado se utiliza en los productos de la pesca más por el sabor, aroma y textura que imparte al producto, que con fines de conservación, es necesario establecer las condiciones óptimas para cada una de las etapas que integran el proceso completo, con el fin de hacer llegar al consumidor un producto con una alta calidad sensorial, pero sin que su consumo suponga un riesgo, como consecuencia de una posible proliferación de microorganismos patógenos.

La importancia del correcto establecimiento de las condiciones de procesado está avalada por el elevado número de estudios realizados al respecto. En este sentido, se han realizado diferentes trabajos sobre la optimización de los procesos de salado, secado y ahumado (Andrés *et al.*, 2005a, Barat *et al.*, 2003, Dodds *et al.*, 1992), sobre la calidad de la materia prima (Aursand *et al.*, 1994; Barat *et al.*, 2007), así como, el efecto del proceso sobre las características del producto ahumado (Indrasena *et al.*, 2000; Røra *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2000). Sin embargo, la elección de los parámetros exactos de procesado, tales como el tipo de salado empleado, la concentración de la salmuera utilizada, la duración, temperatura y/o higrometría del

tratamiento, viene finalmente marcada por las características propias de la materia prima utilizada.

En la elección de las condiciones óptimas en cada caso, se deberán evaluar, además de las características de la materia prima (tamaño, frescura, contenido en grasa) y las del producto final (características sensoriales, color, textura, contenido en sal, etc.), otros aspectos como son el rendimiento del proceso, el control de la producción, etc. (Sigurgisladottir *et al.*, 1997).

2. OBJETIVO

El objetivo de esta fase del trabajo fue establecer el nivel óptimo de sodio a sustituir en el producto final, así como las condiciones de salado, ahumado y secado del proceso.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Consideraciones previas

Con el objeto de establecer las condiciones más adecuadas de salado, secado y ahumado para la obtención de un producto de lubina ahumada con bajo contenido en sodio, se realizaron una serie de consideraciones.

En primer lugar, se consideró que las características propias de este tipo de producto debían ser similares a las de los pescados ahumados que se encuentran actualmente en el mercado (capítulo III.2). El principal parámetro que define a este tipo de productos, es su valor de actividad de agua, el cual viene determinado por el contenido en humedad y concentración de sal del producto final, aunque también está afectado por otros aspectos, como son las características propias de la materia prima. Se estimó oportuno, que los valores de a_w , humedad y contenido de sal para el nuevo producto de lubina ahumada deberían ser los mismos que los de su homólogo en el mercado; sin embargo, la composición del músculo de las lubinas de piscifactoría, empleadas como

materia prima en este estudio, provocó que se tuviera que considerar otros valores para estos parámetros.

Debido al mayor contenido lipídico de las lubinas utilizadas como materia prima, estas presentaron un valor promedio de humedad inferior al del producto ahumado comercial; por ello, se consideró que el valor objetivo de humedad para el nuevo producto debería situarse cercano a los valores de humedad de los productos ahumados con un contenido lipídico similar al de la materia prima utilizada, ya que existe una relación directa entre el contenido lipídico y el contenido en humedad existente en los pescados. El contenido lipídico de la lubina fresca (4,38% p/p) se encontraba entre los valores promedio dados para el atún ahumado (2,6% p/p) y la trucha ahumada (10,0% p/p) (tabla IV.26), sin embargo, el contenido en grasa de la lubina expresado en base seca (0,18 g grasa/g materia seca) se situó más próximo al de la trucha (0,25 g/g) que al del atún (0,06 g/g), esta consideración se estimó oportuna ya que el pescado fresco iba a ser sometido a un proceso de deshidratación. Finalmente se fijó que el valor de a_w adecuado para el producto a desarrollar sería el mismo que el de este producto comercial (0,956); siguiendo este criterio se estableció que la lubina ahumada tras el procesado tendría una humedad próxima al 65%.

Tabla IV.26. Contenido en humedad, lípidos y cloruro sódico y los valores de actividad de agua para lubina, atún y trucha ahumada obtenidos en el capítulo III.2. Valores promedio \pm SD de los tres lotes, y valores extremos (n=9).

	Humedad (%)	Lípidos (%)	NaCl (%)	a_w
Lubina	75,9 \pm 2,2	0,5 \pm 0,2	3,50 \pm 1,82	0,963 \pm 0,018
	72,8-78,2	0,3-0,9	1,95-5,96	0,938-0,976
Atún	62,6 \pm 3,0	2,6 \pm 0,9	2,91 \pm 1,31	0,938 \pm 0,015
	58,6-66,2	1,4-3,8	1,48-4,60	0,922-0,958
Trucha	61,3 \pm 1,0	10,0 \pm 3,2	2,90 \pm 1,12	0,956 \pm 0,014
	59,2-62,7	5,7-14,1	1,69-4,63	0,936-0,968

3.2. Predicción de los valores de actividad de agua

Para la predicción del parámetro de actividad de agua en las muestras de lubina tras el proceso de ahumado, se aplicó la expresión desarrollada por Bromley (1973) al considerar la lubina salada como una disolución no ideal de electrolitos. El fundamento de esta ecuación se basa en aceptar que existen pocas interacciones entre solutos y, por tanto, sus contribuciones al potencial químico son adicionales. Por consiguiente, para obtener el valor de actividad de agua de la fase acuosa del alimento se multiplicarían las contribuciones individuales de los solutos. Debido al elevado peso molecular de las proteínas y carbohidratos, su contribución a la actividad de agua puede considerarse como despreciable, es por ello que la actividad de agua vendría principalmente determinada por la contribución de las sales.

La ecuación de Bromley se empleó para determinar los coeficientes osmóticos (Eq. IV.15) de cada uno de los electrolitos, los cuales fueron utilizados para calcular, mediante la ecuación de Pitzer (Eq. IV.16), la contribución de la actividad de agua de cada electrolito. Finalmente, la actividad de agua se computó como la contribución individual de cada electrolito la cual se determinó en la lubina ahumada aplicando la expresión de Ross (1975) (Eq. IV.17).

$$\phi = 1 + 2.303 \left[-|Z_+Z_-|A_\gamma \frac{I^{1/2}}{3} \sigma + (0.06 + 0.6B)|Z_+Z_-| \frac{I}{2} \psi + B \frac{I}{2} \right] \quad \text{Eq. IV.15}$$

$$a_w = \exp(-0.018m\nu\phi) \quad \text{Eq. IV.16}$$

$$a_w = \prod_i a_{w_i} \quad \text{Eq. IV.17}$$

donde:

ϕ = coeficiente osmótico.

$|Z_+Z_-|$ = valor absoluto del producto de las cargas iónicas.

A_γ = coeficiente $(0,511 \text{ Kg mol})^{1/2}$ a 25 °C.

I = fuerza iónica de la disolución $I = \frac{1}{2} \sum_i m_i Z_i^2$

$$\sigma = \frac{3}{\left(\rho I^{1/2}\right)^3} \left[1 + \rho I^{1/2} - \frac{1}{1 + \rho I^{1/2}} - 2 \ln\left(1 + \rho I^{1/2}\right) \right]$$

$$\rho = 1.$$

B = parámetro característico para cada electrolito (NaCl: 0,0574 Kg·mol⁻¹, KCl: 0,0240 Kg·mol⁻¹, MgCO₃: 0,0089 Kg·mol⁻¹).

$$\psi = \frac{2}{aI} \left[\frac{1 + 2aI}{(1 + aI)^2} - \frac{\ln(1 + aI)}{aI} \right]$$

$$a = \frac{1,5}{|Z_+ Z_-|}$$

v = número de especies iónicas.

m = molalidad de cada electrolito (moles electrolito/Kg fase líquida).

3.3. Procesado de la muestra

Se emplearon 24 lubinas (*Dicentrarchus labrax* L.) procedentes de acuicultura (Andromeda S.A), de calibre 400-500 g que fueron adquiridas a un distribuidor local. A su llegada al laboratorio, los pescados fueron fileteados, obteniendo dos filetes de cada lubina. Los filetes obtenidos se dividieron en cuatro lotes, cada uno de estos lotes sería salado con una de las mezclas de sales sometidas a estudio. Cada filete fue pesado con el objeto de establecer la cantidad de sal a dosificar en cada caso, y el procedimiento de salado empleado fue el mismo que ha sido descrito anteriormente en el capítulo IV.3, apartado 3.1 (figura IV.14), empleando las mismas formulaciones de sales utilizadas en el estudio anterior (capítulo IV.3, apartado 3.1, tabla IV.11). El nivel de sólidos solubles objetivo, considerado para cada una de estas formulaciones, se estableció a partir de los resultados obtenidos mediante las ecuaciones de predicción descritas anteriormente (apartado 3.2 del presente capítulo).

Tras la etapa de salado, los filetes fueron ahumados mediante pulverización con una disolución de humo líquido HARDWOOD AFS 10 (Amcan Ingredient Int'l, Le Chesnay, Francia) diluida previamente al 40% (v/v)

empleando un spray pulverizador "jet-pak" (Fungilab S.A., Barcelona, España). Las condiciones de dilución y aplicación del humo líquido se realizaron siguiendo las recomendaciones facilitadas por el fabricante.

Finalmente, los filetes ahumados se colocaron en una cámara de secado (Ibercex A.S.L., Madrid, España) a una temperatura de 35 °C y humedad relativa del 65%. Los filetes de lubina fueron pesados cada 30 min con el objeto de registrar la pérdida de peso producida durante la etapa de secado. El punto final de secado se estableció como el punto donde la muestra alcanzó el valor de humedad deseado, ya que la variación de peso registrada coincidiría con la pérdida de humedad del producto.

3.4. Análisis sensorial

Se realizó un análisis sensorial de lubina ahumada, salada con las cuatro mezclas de sales. El objeto de esta evaluación fue seleccionar la mezcla de sales que permitiera una mayor reducción del contenido de NaCl, sin que se vieran afectadas las características sensoriales de las muestras.

El análisis sensorial de las muestras de lubina ahumada se llevó a cabo con un panel formado por 50 catadores inexpertos, no entrenados pero consumidores habituales de productos ahumados. Se realizaron pruebas escalares utilizando escalas hedónicas estructuradas de 5 puntos, donde cada catador evaluó cuatro muestras diferentes, las cuales habían sido saladas con:

- Muestra 1: 100% NaCl
- Muestra 2: 74% NaCl-25% KCl-1% MgCO₃
- Muestra 3: 49% NaCl-50% KCl-1% MgCO₃
- Muestra 4: 24% NaCl-75% KCl-1% MgCO₃

Las cuatro muestras fueron presentadas a los catadores a temperatura ambiente y codificadas con números aleatorios de tres dígitos.

Cada catador respondió a las preguntas del cuestionario que se muestra en la figura IV.20.

Catador _____ Fecha: _____

Tipo de muestra: **Lubina ahumada**

INSTRUCCIONES:

- Antes de probar cada muestra enjuáguese la boca una vez con agua.
- Para evaluar cada uno de los parámetros, la puntuación será del 1 al 5 según la siguiente escala:

1. Muy desagradable
2. Desagradable
3. Aceptable
4. Agradable
5. Muy agradable

Código	OLOR	ASPECTO	COLOR	SABOR	APRECIACIÓN GLOBAL

Observaciones:

Figura IV.20. Cuestionario para el análisis sensorial de las muestras de lubina ahumada.

3.5. Análisis estadístico

El procedimiento de regresión simple fue empleado con el objeto de comprobar si los valores de a_w calculados mediante las ecuaciones de predicción se ajustaban satisfactoriamente a los valores obtenidos en las determinaciones analíticas.

Con los datos obtenidos en la evaluación sensorial se realizó un ANOVA simple, considerando como variables los atributos evaluados (olor, aspecto, color, sabor y apreciación global), y como factor el tipo de sal, con la finalidad de establecer si el panel de catadores encontraba diferencias en dichos atributos en función del tipo de sal empleada.

Ambos procedimientos estadísticos fueron realizados con el programa Statgraphics® Plus v5.1.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Selección del nivel de sal en el producto final

A partir de los resultados obtenidos en las determinaciones analíticas de cloruro (Cl^-), sodio (Na^+), potasio (K^+) y Magnesio (Mg^{2+}), realizadas en el capítulo anterior se calcularon para cada uno estos elementos la molalidad (m) de estos en la fracción líquida del pescado. A partir de estos valores y aplicando la ecuación de Bromley (Eq. IV.15) se establecieron los valores del coeficiente osmótico (Φ) de cada elemento, para cada una de las mezclas de sales y cada uno de los niveles objetivo. A continuación, mediante la ecuación de Pitzer (Eq.IV.16) y con los valores obtenidos para el coeficiente osmótico (Φ) y para la molalidad (m) de cada elemento analizado se obtuvieron los valores correspondientes a la contribución de cada uno de estos electrolitos al valor final de a_w del producto, el cual fue calculado mediante el sumatorio de cada una de estas contribuciones particulares aplicando la expresión de Ross (Eq. IV.17), tal y como se ha comentado anteriormente.

La utilización de los valores de a_w predichos nos permitiría correlacionar estos valores teóricos con los resultados obtenidos de forma experimental. Con el objeto de comprobar si los valores de a_w predichos se ajustaban a los valores experimentales se realizó un análisis de regresión simple. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico mostraron la existencia de una relación estadísticamente significativa entre ambos valores de a_w ($r=0,900$, $p<0,001$), lo cual nos indicaría que los valores obtenidos mediante las ecuaciones de predicción se ajustaron satisfactoriamente a los valores experimentales. La utilización de estos valores teóricos nos permitiría establecer ecuaciones que correlacionen el nivel de sólidos solubles presentes en el músculo de pescado cuando éste presenta unos valores de a_w y humedad determinados. Del mismo modo podemos obtener modelos que permitan establecer el nivel de sólidos solubles objetivo necesario para alcanzar el valor de a_w deseado. En la figura IV.21 se muestra la representación de los valores de a_w predichos frente a los valores experimentales de concentración de sólidos solubles en el músculo (datos dados en el capítulo IV.3, apartado 4.2).

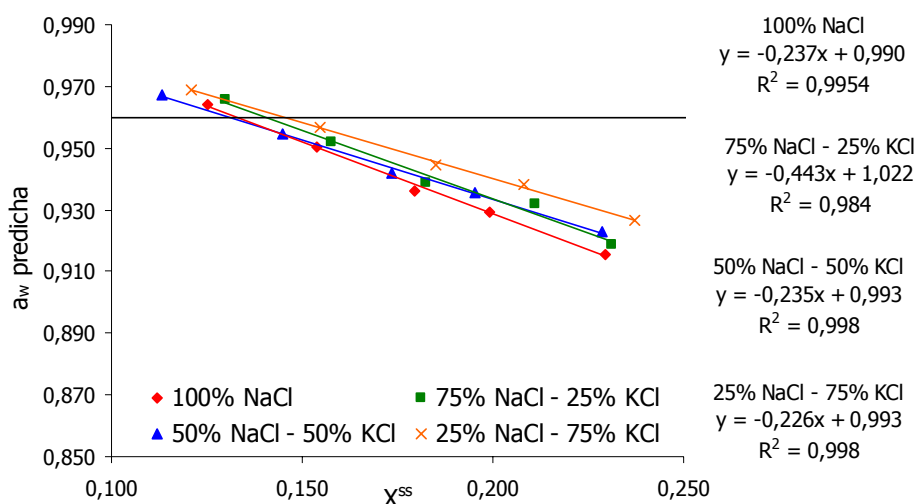


Figura IV.21. Representación de los valores de a_w predicha frente a los valores promedio de razón másica de sólidos solubles experimentales (X^{ss}), para cada una de las mezclas de sales.

A partir de las ecuaciones de regresión obtenidas en el ajuste de las series de datos mostradas en la figura IV.21 y conociendo la relación que existe entre los valores experimentales y teóricos correspondientes a la razón másica de sólidos solubles en el músculo de pescado, se podría establecer cuál debería ser el nivel de sólidos solubles necesario para que la lubina, una vez finalizado su procesamiento alcanzara el valor de a_w deseado (0,956). Una vez concluida la etapa de salado, se considera que los valores de concentración de sólidos solubles expresados en base seca (g ss/g materia seca) permanecen inalterados, ya que las posteriores etapas de ahumado y secado, tan solo afectarían a los valores de humedad de las muestras, es por ello que se decidió fijar los niveles de sal objetivo como razón de sólidos solubles.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, se calcularon los valores X_{obj}^{ss} , siendo estos valores:

- 100% NaCl: 0,093 g ss/g materia seca
- 75% NaCl-25% KCl: 0,128 g ss/g materia seca
- 50% NaCl-50% KCl: 0,137 g ss/g materia seca
- 25% NaCl-75% KCl: 0,132 g ss/g materia seca

4.2. Selección de las condiciones de secado

Una vez establecidos los niveles de sólidos solubles objetivo, para cada una de las mezclas de sales, se seleccionaron las condiciones de secado de los filetes de lubina una vez salados y ahumados. Las condiciones de temperatura y humedad relativa para esta etapa de secado se seleccionaron a partir de las condiciones dadas en otros estudios consultados en bibliografía (Cardinal *et al.*, 2001; Cardinal *et al.*, 2006; Dondero *et al.*, 2004; Goulas y Kontominas, 2005; Hattula *et al.*, 2001).

El tiempo de secado se estableció considerando que durante esta etapa del proceso, la única variación de masa que se producía en el músculo del pescado era la pérdida de humedad, por lo que la variación de peso de los filetes de lubina era debida exclusivamente a la deshidratación de los mismos

($\Delta M_t^0 = \Delta M_t^w$). Por ello, con el objeto de seleccionar el tiempo necesario para el secado de las muestras se consideró que el valor de humedad inicial (x_0^w) (humedad de las muestras al final de la etapa de salado) correspondía al valor promedio obtenido en la fase anterior del estudio (capítulo IV.3 apartado 4.2) y que la humedad final, tras el secado de las muestras, correspondía a un valor objetivo del 65%, tal y como se ha comentado anteriormente ($x_t^w = 0,65$). Teniendo en cuenta estas consideraciones y conocido el peso de cada uno de los filetes antes de ser introducidos en la cámara de secado (M_0^0), fue posible establecer cuál sería el peso de cada filete al final de esta etapa (M_t^0). El punto final de secado se calculó mediante las siguientes expresiones:

$$\Delta M_t^0 = \Delta M_t^w \quad \text{Eq. IV.18}$$

$$\frac{M_t^0 - M_0^0}{M_0^0} = \frac{M_t^0 \cdot x_t^w - M_0^0 \cdot x_0^w}{M_0^0 \cdot x_0^w} \quad \text{Eq. IV.19}$$

Los filetes de lubina salados y ahumados fueron introducidos en la cámara de secado y se registraron sus pesos a intervalos de 30 min. El estudio de la evolución de la pérdida de peso de los filetes salados con las cuatro formulaciones, durante el proceso de secado (figura IV.22), permitió establecer el tiempo necesario para que los filetes alcanzaran el valor de humedad fijado como objetivo (x_t^w), y que correspondía con el valor de M_t^0 calculado mediante la eq. IV.19. A partir de estos datos, se fijó que 180 min era el tiempo necesario para que, bajo las condiciones de temperatura y humedad relativa anteriormente dadas (35 °C/65% HR), los filetes de lubina alcanzaran el valor de humedad fijado.

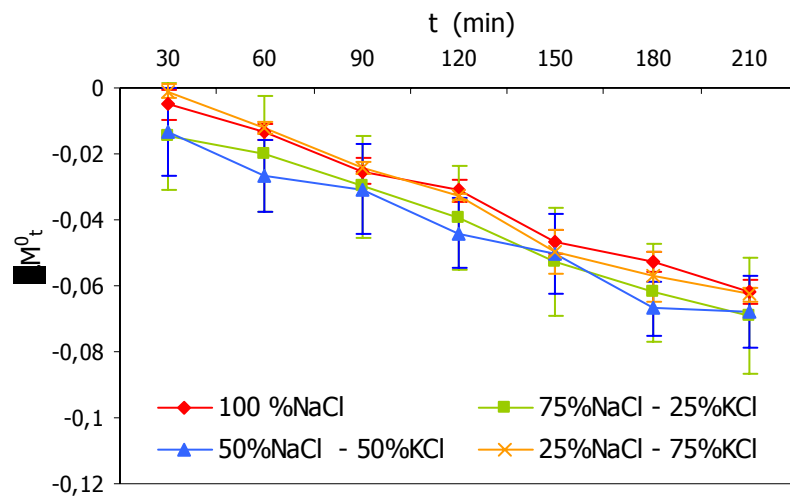


Figura IV.22. Variación de masa total (ΔM_t^0) en los filetes de lubina durante la etapa de secado.

4.3. Selección de la mezcla de sales

Con el objeto de seleccionar la mezcla de sales óptima para el desarrollo del estudio completo, se llevó a cabo un análisis sensorial, mediante el cual se evaluaron los atributos de olor, aspecto, color, sabor y apreciación global para los cuatro tipos de muestras de lubina ahumada. Las muestras de lubina que fueron presentadas a los catadores habían sido saladas empleando las cuatro formulaciones de sales diferentes (100% NaCl, 75% NaCl-25% KCl, 50% NaCl-50% KCl y 25% NaCl-75% KCl), posteriormente ahumadas y secadas.

El ANOVA realizado a partir de los resultados obtenidos en el análisis sensorial mostró que no había diferencias significativas entre las cuatro sales estudiadas para los atributos de olor, aspecto y color; sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas cuando se evaluaron el sabor y apreciación global (figura IV.23 y anexo C, tabla VIII.3). En este sentido, las puntuaciones de los atributos de sabor y apreciación global de las muestras de lubina ahumada, salada con la mezcla del 25% NaCl-75% KCl fueron

significativamente inferiores a las obtenidas por las muestras saladas con 100% de NaCl y 75% NaCl-25% KCl. La puntuación de la mezcla 50% NaCl-50% KCl se situó para ambos atributos entre estos dos grupos de muestras, no siendo significativas las diferencias encontradas entre las muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl y las saladas con las mezclas que contenían una mayor proporción de NaCl.

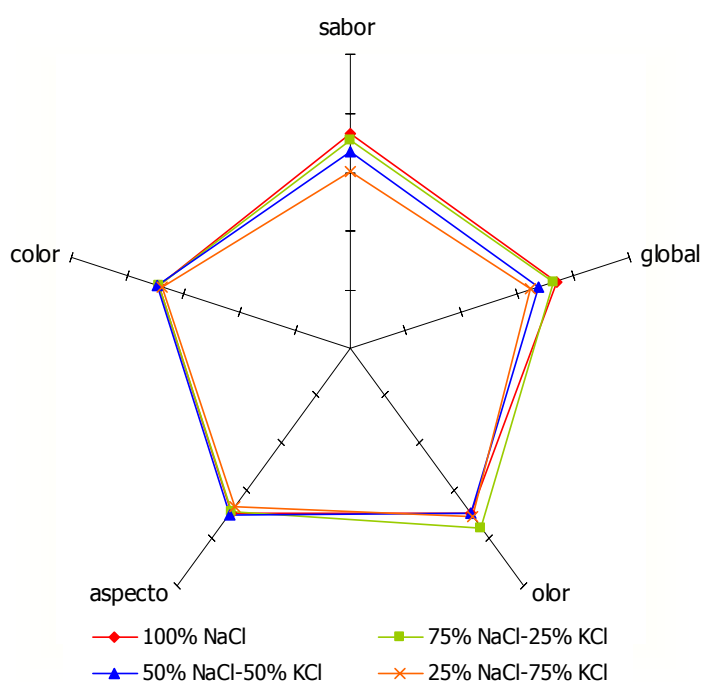


Figura IV.23. Representación de las puntuaciones promedio dadas por los catadores, para los distintos atributos de olor, aspecto, color, sabor, apreciación global (global), en muestras de lubina ahumada salada con las 4 mezclas de sales.

Considerando los resultados obtenidos en la evaluación sensorial del producto, se seleccionó la mezcla compuesta por 50% NaCl-50% KCl, ya que esta composición permitía la reducción del 50% del sodio del producto y recibió

una puntuación satisfactoria en el análisis sensorial, aunque ligeramente inferior a las mezclas con mayor porcentaje de NaCl en la formulación, no siendo estas diferencias significativas. Por tanto, el estudio completo se realizó con las muestras de lubina ahumada, saladas con la mezcla de sal seleccionada (50% NaCl-50% KCl) y con 100% NaCl, considerando estas últimas como muestras control respecto a las muestras con bajo contenido en sodio.

5. CONCLUSIONES

En esta fase del estudio se fijaron los valores de humedad y actividad de agua del producto final (65% p/p y 0,956, respectivamente) y se establecieron los niveles de sal objetivo para cada una de las mezclas de sales.

El estudio de la evolución del peso de los filetes durante la etapa de secado permitió fijar un tiempo de secado igual a 180 min, independientemente del tipo de sal empleada.

Finalmente, el análisis sensorial de los filetes de lubina, salados con las cuatro mezclas de sales y posteriormente ahumados, permitió establecer que era posible la sustitución de una proporción de NaCl por KCl hasta del 50% sin que se vieran afectadas las características sensoriales del producto.

***V. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DURANTE EL
ALMACENAMIENTO***

V. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO

1. INTRODUCCIÓN

En la elaboración de algunos productos de la pesca, como son los pescados seco-salados, ahumados, marinados o en las conservas de pescado, el tipo y calidad de la sal empleada pueden afectar en mayor o menor medida tanto al proceso como a las características del producto final. Así por ejemplo, en el salado de pescado, la presencia cloruro de calcio o de magnesio, dificultan la penetración de solutos al interior del músculo (Moody *et al.*, 2000), sin embargo pequeñas cantidades de estas sales pueden ser beneficiosas para blanquear el pescado e inhibir los procesos enzimáticos responsables del deterioro del producto.

En el procesado de los productos de la pesca, el papel del cloruro sódico es determinante, ya que contribuye a la capacidad de retención de agua y fijación de la grasa, además de ser el responsable de los valores de actividad de agua y pH del producto elaborado. Es por ello que la sustitución total o parcial del NaCl en este tipo de productos podría tener importantes implicaciones sobre estos parámetros, así como sobre otros y otros parámetros.

El cloruro sódico es también el responsable de proporcionar el color, sabor, aroma y textura típicos de estos alimentos, por lo que cualquier modificación en este sentido afectaría en mayor o menor medida a la calidad sensorial del producto final. Este aspecto es sin duda alguna uno de los más importantes, ya que aunque una de las principales líneas de innovación industrial dentro del sector alimentario es la reducción del contenido de sodio, hay que considerar que la viabilidad de estos nuevos productos en el mercado siempre está sujeta a la respuesta del consumidor, siendo una parte importante del éxito de las industrias de alimentación la capacidad para producir alimentos que pueden satisfacer el gusto de los consumidores. En este sentido, son las

propiedades sensoriales del producto las que determinan finalmente la aceptación o no de un determinado producto en el mercado.

Una de las principales alternativas al cloruro sódico en los alimentos es el cloruro potásico (Gillete *et al.*, 1985); sin embargo diferentes estudios realizados sobre las propiedades sensoriales de diferentes productos cárnicos mostraron que la presencia de más del 50% de cloruro potásico puede reducir el sabor salado y puede provocar la aparición de sabor amargo (Hand *et al.*, 1982*a, b, c*). Es por ello que el estudio de la proporción de sodio que es posible reemplazar en cada tipo de producto debe estudiarse de forma particular, así como las implicaciones que tiene esta reducción en la conservación de este tipo de alimentos.

2. OBJETIVO

El objetivo de este capítulo fue estudiar el efecto de la sustitución parcial de cloruro sódico en lubina ahumada, así como del tipo de atmósfera de envasado sobre diferentes parámetros fisico-químicos y sobre la calidad microbiológica y sensorial del producto durante su almacenamiento en refrigeración.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima y materiales auxiliares

3.1.1. Lubina

Para la realización de esta fase del trabajo, se emplearon un total de 206 lubinas (*Dicentrarchus labrax* L.) procedentes de acuicultura (Andromeda, S.A), con tamaño y peso similar (300-400 g). Las lubinas se adquirieron a un distribuidor local y su transporte al laboratorio se efectuó bajo condiciones de refrigeración, en bolsas higiénicas.

3.1.2. Sales

En el presente estudio se emplearon dos formulaciones de sales:

- ✓ 100% NaCl (Panreac Quimica SA, Barcelona, España)
- ✓ 49% NaCl-50% KCl-1% MgCO₃ (Panreac Quimica SA). Esta formulación se denominará a lo largo del presente capítulo 50% NaCl-50% KCl, ya que el carbonato de magnesio se introdujo tan sólo como antiapelmazante.

3.1.3. Humo líquido

Para el proceso de ahumado se empleó humo líquido HARDWOOD AFS 10 (Amcan Ingredient Int'l), constituido por una disolución acuosa de aroma natural de humo procedente de la pirólisis de nogal, arce y otras maderas nobles.

3.1.4. Gases de envasado

Para el envasado en atmósfera modificada se empleó una mezcla de gases compuesta por 30% CO₂/70% N₂ (Carbueros Metálicos, SA).

3.1.5. Envases

Los filetes de lubina ahumada se envasaron en bolsas de PET-met/PE (15 μm/65μm) de dimensiones 25 x 40 cm.

3.2. Proceso de salado-ahumado-secado

Las lubinas fueron evisceradas y fileteadas, obteniendo dos filetes libres de espinas de cada pescado. Los filetes, una vez lavados, se salaron, ahumaron y finalmente se secaron, tal y como se describe a continuación y se detalla en la figura V.1.

Se realizó un salado controlado de los filetes de lubina, para el cual se utilizó el valor de concentración de sólidos solubles objetivo (X_{obj}^{ss} (g sólidos solubles/g materia seca)) establecido en la fase anterior del presente trabajo (capítulo IV.4, apartado 4.1) Este valor fue igual a 0,093 (g ss/g materia seca)

para 100% NaCl y 0,137 (g ss/g materia seca) para la mezcla 50% NaCl-50% KCl. Tal y como se ha comentado en el capítulo anterior, los valores objetivo fueron diferentes debido a la diferente capacidad depresora de la a_w de ambas sales.

Con el objeto de calcular la cantidad de sal que debía ser dosificada sobre cada filete, se tomaron los pesos de cada uno de ellos por separado. A partir de la masa inicial de cada filete, se calculó la cantidad exacta de sal a añadir, para cada una de las sales, empleando la ecuación IV.9 (capítulo IV.3, apartado 3.2). La sal fue dosificada sobre la superficie de cada uno de los filetes, de manera que éstos estuvieran recubiertos por una capa de sal lo más uniforme posible. Los filetes se colocaron sobre rejillas de dimensiones 50 x 50 cm, con el fin de evitar el contacto con la salmuera exudada durante el procesado. Las rejillas donde se introdujeron en una cámara de refrigeración (K 2000, Misa S.p.A., Pomezia, Italia) a 4 °C durante 18 h, siendo éste el tiempo establecido como necesario para que toda la sal dosificada sobre los filetes fuera completamente absorbida por el pescado.

Tras el periodo de salado, se procedió al ahumado de los filetes mediante pulverización con una disolución de humo líquido diluida con agua destilada previamente al 40% (v/v) empleando un spray pulverizador "jet-pak" (Fungilab, S.A., Barcelona, España). La dilución y aplicación del humo líquido se realizó siguiendo las recomendaciones facilitadas por el fabricante.

A continuación, los filetes se colocaron en una cámara de secado (IBERCEX, A.S.L., Madrid, España) a 35 °C y 65% de humedad relativa, durante 3 h. Tras el secado, los filetes se introdujeron asépticamente en bolsas (3 filetes/bolsa) y se dividieron aleatoriamente en tres lotes diferentes. Un grupo fue envasado en aire, otro se envasó a vacío y el tercero en atmósfera modificada (30% CO₂-70% N₂). Para ello se empleó una envasadora Multivac D8941 (Bury, Lancs., Reino Unido).

Las muestras se almacenaron en refrigeración (4 °C) durante 42 días. Se realizaron análisis periódicos a intervalos de 7 días.

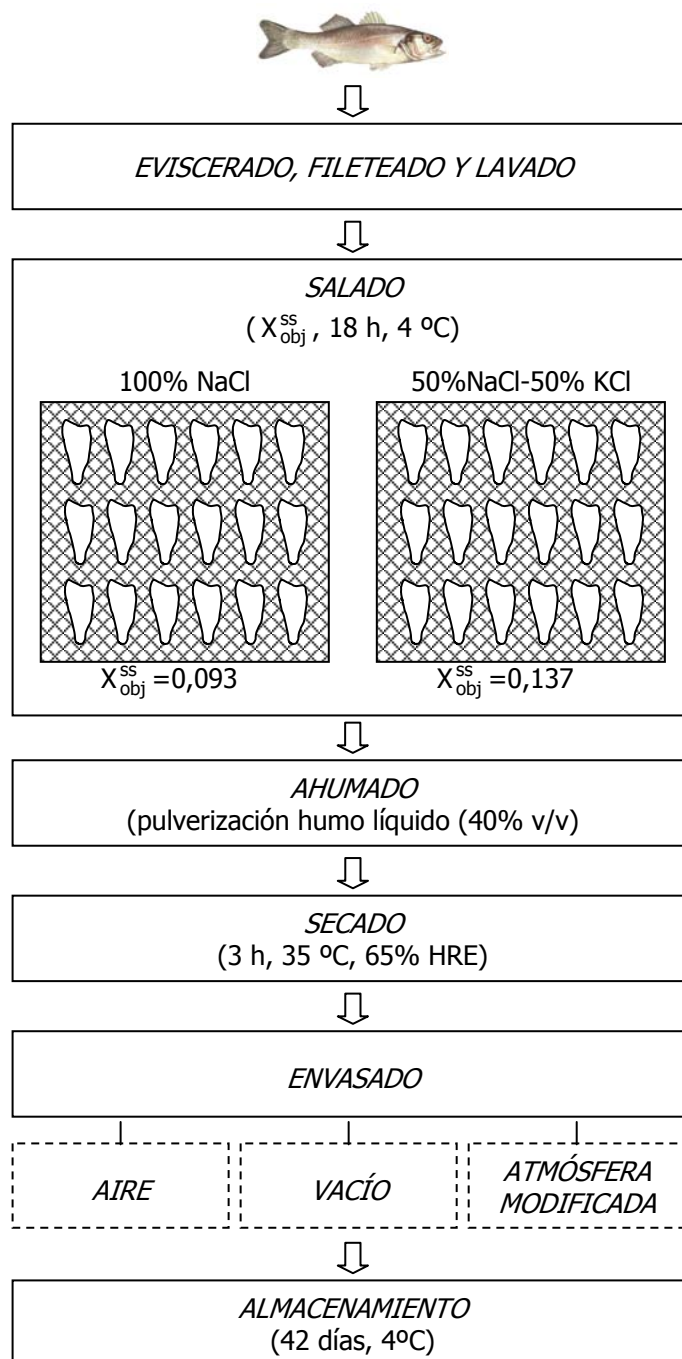


Figura V.1. Esquema del procesado de lubina. Nomenclatura en anexo B (tabla VIII.2)..

3.3. Determinaciones físico-químicas e indicadores del deterioro

Se realizó una caracterización físico-química inicial de los filetes de lubina fresca así como de las muestras de lubina inmediatamente después de ser sometidas al proceso de ahumado (día 0 de almacenamiento). Para ello se realizaron las siguientes determinaciones:

- ✓ Humedad (método descrito en el capítulo III.1, apartado 3.2.1)
- ✓ Cenizas (capítulo III.1, apartado 3.2.4)
- ✓ Minerales: sodio, potasio y magnesio (capítulo III.1, apartado 3.2.5)
- ✓ Cloruros (capítulo III.2, apartado 3.2.2)
- ✓ pH (capítulo IV.3, apartado 3.3.1)
- ✓ Actividad de agua (a_w) (capítulo III.1, apartado 3.2.7)
- ✓ Capacidad de retención de agua (CRA) (capítulo III.1, apartado 3.2.8)
- ✓ Nitrógeno básico volátil total (N-BVT)
- ✓ Nitrógeno de trimetilamina (N-TMA)
- ✓ Test del ácido tiobarbitúrico (TBA)
- ✓ Aminas biógenas
- ✓ Color
- ✓ Propiedades mecánicas

Durante el estudio de almacenamiento se realizaron periódicamente estas mismas determinaciones a los 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días, excepto las determinaciones del contenido en cenizas y minerales, que tan sólo se realizaron en la caracterización inicial, ya que se considera que estos valores permanecen constantes durante el almacenamiento.

3.3.1. Nitrógeno básico volátil total (N-BVT) y nitrógeno de trimetilamina (N-TMA)

Los contenidos en nitrógeno básico volátil total (N-BVT) y en nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) se determinaron según los procedimientos descritos por Malle y Tao (1987).

El procedimiento empleado para la determinación del contenido en N-BVT ha sido detallado previamente en el capítulo III.1, apartado 3.2.9.

El contenido en nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) se determinó mediante el mismo procedimiento experimental descrito para el análisis de N-BVT, siendo la única diferencia entre ambos métodos la adición de 20 mL de una disolución de formaldehído al 35% (v/v) en el tubo de destilación, con el objeto de bloquear las aminas primarias y secundarias, quedando las aminas terciarias libres para poder reaccionar.

En ambas determinaciones se realizó un blanco, el cual se preparó de igual forma que las muestras, pero donde los 25 mL del extracto de la muestra se sustituyeron por 25 mL de ácido tricloroacético.

La cantidad de N-VBT y N-TMA en la muestra de lubina se calculó a partir del volumen de ácido sulfúrico (H_2SO_4 0,01 N) empleado en la valoración del destilado recogido, tal y como ha sido descrito anteriormente (capítulo III.1, apartado 3.2.9, Eq. III.6).

3.3.2. Test del ácido tiobarbitúrico (TBA)

Con el objeto de evaluar la oxidación lipídica se realizó la determinación del índice del TBA, según el procedimiento descrito por Vyncke (1970). Este análisis se basa en la reacción del ácido tiobarbitúrico con los compuestos secundarios procedentes de la oxidación de la grasa (aldehídos y cetonas) y la posterior medida de la absorbancia del cromógeno formado.

En esta determinación analítica se emplearon los siguientes reactivos:

- ✓ Disolución alcohólica de galato de propilo 5 % (p/v).

- ✓ Disolución A: 18,75 g de ácido tricloroacético + 0,25 g de EDTA + 5 mL de solución alcohólica de galato de propilo, aforada con agua destilada a 250 mL.
- ✓ Disolución de TBA: 0,14415 g de TBA en 50 mL de agua destilada.
- ✓ Disolución B: 0,110155 g de TEP (1,1,3,3-tetraetoxipropano o malonaldehído; densidad=0,917) = 0,12 mL de TEP aforado a 50 mL con solución A.
- ✓ Disolución C: 0,1 mL de solución B aforada a 100 mL con solución A.

Para esta determinación se pesaron 15 g de muestra previamente triturada y se homogeneizaron en Ultra-Turrax (IKA-Labortechnik) durante 2 min con 30 mL de disolución A. El homogeneizado obtenido se filtró a través de papel de filtro y el filtrado así obtenido se centrifugó durante 5 min a 3000 rpm.

En un tubo de ensayo se introdujeron 3 mL del sobrenadante, 2 mL de disolución A y 5 mL de la disolución de TBA. En la preparación del blanco se emplearon 5 mL de solución A y 5 mL de solución de TBA.

Paralelamente a la preparación de las muestras, se preparó una serie de patrones de malonaldehído:

- ✓ Patrón 1: 0,1 mL de disolución C + 4,9 mL de disolución A + 5 mL de disolución de TBA. (equivale a 0,0014 μmol de malonaldehído).
- ✓ Patrón 2: 0,25 mL de disolución C + 4,75 mL de disolución A + 5 mL de disolución de TBA. (equivale a 0,0033 μmol de malonaldehído).
- ✓ Patrón 3: 0,5 mL de disolución C + 4,5 mL de disolución A + 5 mL de disolución de TBA. (equivale a 0,0067 μmol de malonaldehído).
- ✓ Patrón 4: 1 mL de disolución C + 4 mL de disolución A + 5 mL de disolución de TBA. (equivale a 0,013 μmol de malonaldehído).
- ✓ Patrón 5: 2 mL de disolución C + 3 mL de disolución A + 5 mL de disolución de TBA. (equivale a 0,027 μmol de malonaldehído).
- ✓ Patrón 6: 3 mL de disolución C + 2 mL de disolución A + 5 mL de disolución de TBA. (equivale a 0,040 μmol de malonaldehído).

Todos los tubos se introdujeron en un baño con ebullición suave durante 40 min. A continuación, se enfriaron hasta temperatura ambiente y finalmente se midió la absorbancia a 530 nm.

Las concentraciones de malonaldehído en los extractos de las muestras se calcularon sustituyendo los valores obtenidos en las lecturas de absorbancia en la ecuación de la recta de calibrado, obtenida a partir de la representación de los valores de absorbancia frente a la concentración de malonaldehído en los patrones.

Finalmente, el valor del índice del TBA, expresado en mg malonaldehído por kg de muestra, se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{mg malonaldehído / Kg lubina} = \frac{72 \cdot C \cdot (30 + m \cdot H)}{V \cdot m} \quad \text{Eq. V.1}$$

donde:

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

72 = peso molecular del malonaldehído.

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

m = masa de la muestra (g).

H = contenido en humedad de la muestra de lubina (g H₂O / g de lubina).

3.3.3. Determinación de aminas biógenas

La determinación del contenido en aminas biógenas en las muestras de lubina se realizó por cromatografía líquida de alta resolución con derivatización precolumna.

La preparación de las muestras para el análisis se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Venciana-Nogués *et al.* (1995). Para ello, se homogeneizaron 5 g de lubina, previamente triturada, con 15 mL de ácido perclórico 0,6 N, con ayuda de un agitador magnético durante 10 minutos. A continuación, la mezcla se centrifugó a 3000 rpm y 4 °C durante 10 min. Tras la centrifugación, se separó el sobrenadante del residuo sólido, manteniéndose en refrigeración, mientras que el residuo sólido fue homogeneizado de nuevo

con 10 mL de la disolución de ácido perclórico durante 10 min y centrifugado (3000 rpm/10 min/4 °C).

El sobrenadante obtenido tras la segunda centrifugación se combinó con el extracto obtenido en la primera y se enrasó a 25 mL con HClO₄ 0,6 N. Este extracto se filtró a través de un filtro de nylon de 0,45 μm, antes de su derivatización.

Para la derivatización de las muestras se empleó 6-aminoquinolil-N-hidrisuccimidil carbamato (AQC), obtenido a partir de un kit derivatizante, AccQ-Fluor™, suministrado por Waters (Milford, MA, USA). La derivatización de las muestras se realizó a partir de un volumen de 10 μL del extracto de la muestra con 20 μL del reactivo AQC, de acuerdo a las instrucciones facilitadas en el kit derivatizante.

Las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Waters modelo 2695 con detector de fluorescencia modelo 2475. Las separaciones cromatográficas se realizaron con una columna Waters XBridge™ C18 5μm de 4,5 x 150 mm. Las condiciones cromatográficas empleadas en el presente estudio fueron las siguientes:

- ✓ Volumen de inyección: 10 μL
- ✓ Fases móviles :
 - Fase móvil A: Metanol (calidad HPLC).
 - Fase móvil B: Acetato sódico 20 mM en agua ultrapura.
- ✓ Flujo de la fase móvil: 1 mL/min.
- ✓ Temperatura de la columna: 55 ± 1 °C
- ✓ Detector de fluorescencia, λ excitación = 250 nm y λ emisión = 395 nm.
- ✓ Programa de elución en gradiente: se detalla en la tabla V.1.

Tabla V.1. Programación del gradiente de elución empleado en el análisis de aminas biógenas.

Tiempo (min)	Fase móvil	
	A %	B %
0	25	75
2	25	75
17	70	30
18	100	0
20	100	0
22	25	75
25	25	75

Para la identificación de los analitos estudiados en la muestra, se inyectaron en el equipo disoluciones de los patrones de cada una de las aminas biógenas estudiadas: histamina, tiramina, putrescina, cadaverina, espermidina, espermina y triptamina (Sigma Aldrich, MO, USA). La identificación de estos compuestos se llevó a cabo comparando los tiempos de retención (t_R) correspondientes a los picos de los patrones con los t_R de los picos obtenidos en el cromatograma de las muestras y se confirmó con el método de adición de patrón.

La cuantificación de las aminas biógenas se realizó mediante el método del estándar externo. Para ello se prepararon disoluciones de cada uno de los patrones a diferentes concentraciones, se inyectaron en el equipo cromatográfico y a partir de los cromatogramas registrados se tomaron las áreas correspondientes a cada analito para cada concentración. Con estos datos, se construyeron las rectas de calibrado para cada uno de los compuestos, representando el área del pico frente a la concentración de patrón. De los cromatogramas de las muestras, se obtuvieron las áreas de cada

compuesto y haciendo uso de las ecuaciones de las rectas de calibrado, se calcularon las concentraciones de cada analito en el extracto de la muestra.

3.3.4. Determinación de las coordenadas de color

Las determinaciones de color se realizaron mediante un espectrofotómetro Minolta CM 3600-d, con observador 10° e iluminante D65. Este equipo permite una medida objetiva del color, a través de la cuantificación de la luz reflejada por la muestra. Previamente se procedió a una calibración del blanco y del negro y se seleccionó el sistema de referencia deseado.

Para las medidas de color se tomaron, con la ayuda de un sacabocados, muestras siempre de la misma zona del filete entero, obteniéndose porciones circulares de 3 cm de diámetro, tal y como se muestra en la figura V.2. En el momento de la medición la muestra fue cubierta con un vidrio óptico de baja reflectancia CR-A5/1829-572 para evitar el deterioro de la esfera integradora.

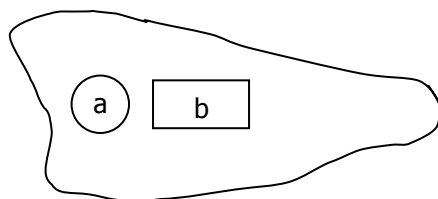


Figura V.2. Porciones del filete de lubina empleada para los análisis de color (a) y textura (b).

La determinación, expresión e interpretación del color se efectuó utilizando las tres coordenadas colorimétricas L^* (claridad o luminosidad), a^* (desviación hacia el rojo y el verde) y b^* (desviación hacia el amarillo y el azul) del sistema CIEL*a*b* (CIE, 1976). A partir de estas coordenadas, el equipo proporciona directamente las magnitudes psicofísicas de tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*).

A su vez, se calcularon los valores correspondientes a las diferencias de color global (ΔE), provocadas por el almacenamiento y las provocadas por el

procesado de las muestras. Para ello se utilizó la ecuación IV.10 (capítulo IV.3, apartado 3.3.2), considerando en el primer caso, como valor inicial, los valores correspondientes a la lubina ahumada a día 0 de almacenamiento salada con 100% NaCl o con la mezcla 50% NaCl-50% KCl, según corresponda. Se calcularon también las diferencias de color provocadas por el propio procesado de las muestras, considerando en este caso como valores iniciales las coordenadas de color de la lubina fresca empleada como materia prima y como valor finales los correspondientes a la lubina ahumada a día 0 de almacenamiento salada con 100% NaCl o con la mezcla 50% NaCl-50% KCl, respectivamente.

3.3.5. Propiedades mecánicas

Para el estudio de las propiedades mecánicas de los filetes de lubina ahumada se realizó un ensayo de doble compresión o TPA (*Texture Profile Analysis*) y un ensayo de corte. Con el objeto de obtener muestras lo más homogéneas posible durante todo el estudio, la selección de las muestras se realizó siempre sobre la misma zona del filete, a partir del cual se tomaron porciones rectangulares de la zona central de dimensiones 4 x 3 cm (figura V.2). En las muestras destinadas a las pruebas de corte, se retiró la piel de las mismas.

Para la realización de los ensayos de textura se utilizó una prensa universal Texture Analyzer- XR2 (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK), con una célula de carga de 250 N.

Análisis de doble compresión o TPA

En el ensayo de doble compresión se utilizó un émbolo (P/75, ANAME) plano y circular de 7,5 cm de diámetro que comprimió dos veces consecutivas la muestra hasta alcanzar un 50% de su altura, a una velocidad de 0,8 mm/s, simulando así el movimiento de la mandíbula durante la masticación (Bourne, 1982).

El análisis de las curvas fuerza-desplazamiento dadas por este equipo permitió obtener los parámetros de dureza, elasticidad, cohesividad, adhesividad y masticabilidad.

Ensayo de corte

Para la realización de este ensayo se empleó una célula de corte tipo Warner Bratzler (HDP/BS, ANAME), a una velocidad de penetración de 100 mm/min. La muestra se colocó en la prensa de tal forma que las fibras musculares del pescado estuvieran transversales a la cuchilla.

Las curvas fuerza-distancia obtenidas en este ensayo permitieron obtener el valor correspondiente a la fuerza máxima de corte (F_{\max}).

3.4. Determinaciones microbiológicas

Las determinaciones microbiológicas se realizaron por duplicado en las muestras de lubina ahumada a los 0, 7, 14, 21, 28, 35 y 42 días de almacenamiento en refrigeración. Asimismo, se llevaron a cabo los análisis microbiológicos de las muestras de lubina fresca y también de las bolsas que serían empleadas para envasar las muestras procesadas.

Para llevar a cabo los análisis microbiológicos, se tomaron muestras de los filetes de lubina, a partir de las cuales se prepararon diluciones decimales, tal y como se describe en la Norma UNE EN-ISO 6887-3 (AENOR, 2004). Así, se pesaban 10 g de pescado en una bolsa de stomacher a la que se añadían 90 mL de agua de peptona tamponada estéril (Sharlau, Barcelona, España) y se homogeneizaban durante 1 min en el stomacher, correspondiendo el contenido de la bolsa a la dilución 10^{-1} . De ésta dilución se pipeteaba 1 mL, que se llevaba a un tubo de ensayo estéril que contenía 9 mL de agua de peptona tamponada, se agitaban en el agitador de tubos durante 10 s, obteniendo de esta forma la dilución 10^{-2} . Para obtener la dilución 10^{-3} se pasaba 1 mL de la dilución 10^{-2} con 9 mL de agua y se agitaban durante 10 s. Así sucesivamente se preparaban las diluciones correspondientes.

3.4.1. Aerobios mesófilos

El método empleado fue el indicado por Norma UNE-EN ISO 4883 (AENOR, 2003). Se realizaron siembras en superficie de 0,1 mL de cada una de las diluciones, en placas Petri que contenían agar Plate Count (Scharlau). Todas las siembras se realizaron por duplicado y las placas se incubaron a 30 ± 1 °C durante 72 h. El recuento se realizó a partir de las placas que contenían entre 30 y 300 unidades formadoras de colonias (ufc). El resultado expresado en ufc/g se obtuvo multiplicando el número de colonias contado en la placa por el factor de dilución y por 10.

3.4.2. Mohos y levaduras

El método de recuento de mohos y levaduras empleado fue el descrito por Harrigan y McCance (1979). Se realizó una siembra en superficie de 0,1 mL de cada una de las diluciones, utilizándose como medio de cultivo agar Patata Dextrosa (Scharlau) y las placas se incubaron a 25 ± 1 °C durante 5 días. Los resultados se expresaron de la misma forma que en el caso anterior.

3.4.3. Enterobacterias

El procedimiento empleado para el recuento de enterobacterias fue el indicado por Pascual y Calderón (2000). A partir de cada una de las series de diluciones decimales, se realizaron siembras en doble capa por duplicado. En placas petri se sembraron 0,1 mL de cada una de las diluciones, y sobre éste se vertió el medio de cultivo, agar Violeta Rojo Bilis Glucosa (VRBG, Scharlau) atemperado a 45-47 °C. Tras la solidificación del medio, se volvió a verter sobre cada placa 3-4 mL del mismo medio, para evitar crecimiento en superficie, la extensión de las colonias y promover la anaerobiosis. Las placas se incubaron a 37 ± 1 °C durante 18-24 h. Se contaron las colonias rojo-violeta rodeadas de un precipitado también violeta. Los resultados se expresaron como en los casos anteriores.

3.4.4. *Staphylococcus aureus*

En el recuento de *Staphylococcus aureus* se empleó la técnica del Número Más Probable (NMP) (Pascual y Calderón, 2000).

Se sembró 1 mL de la dilución madre (10^{-1}) en una serie de tres tubos que contenían 10 mL del caldo de enriquecimiento Gioletti Cantoni (Scharlau). Este medio contiene cloruro de litio que inhibe el crecimiento de los microorganismos Gram⁻, telurito potásico que inhibe el de los Gram⁺, mientras que la glicina, piruvato sódico y manitol favorecen el crecimiento de *Staphylococcus aureus* que reducen el telurito a telurio con la consiguiente coloración negra. De la dilución 10^{-2} se sembró 1 mL en cada tubo una segunda serie de tres tubos con 10 mL del mismo medio y finalmente, de la dilución 10^{-3} se sembró 1 mL en cada tubo de otra serie de tres. A continuación cada tubo se cubrió con una capa de parafina estéril y tras su solidificación se incubaron a 37 ± 1 °C durante 48 h. Se consideraron positivos los tubos que presentaron ennegrecimiento.

Se realizó la lectura de los tubos positivos y los resultados se leyeron en la tabla del NMP. En el caso de que algún tubo presentara ennegrecimiento, se sembraría por triple estría en el medio Baird Parker, selectivo y diferencial para *St. aureus*, incubándose a 37 ± 1 °C durante 48 h con lectura a las 24 h.

El aspecto típico de este microorganismo es el de colonias negras, brillantes, convexas y rodeadas por un aclaramiento ya que el *St. aureus* sintetiza una enzima que hidroliza la lecitina de la yema de huevo que previamente se adiciona al medio Baird Parker.

3.4.5. *Clostridium* sulfito-reductores

El método de recuento empleado fue el descrito por Pascual y Calderón (2000). El medio de cultivo utilizado fue agar Sulfito-Polimixina-Sulfadiazina (SPS, Scharlau). El método utilizado es selectivo para gérmenes sulfito-reductores. El sulfito sódico, por la acción sulfito-reductora de la mayor parte de los *Clostridium*, se reduce a sulfuro. El sulfuro, al reaccionar con el citrato de

hierro, da lugar a sulfuro de hierro, que se manifiesta formando un precipitado negro alrededor de las colonias.

El SPS licuado y regenerado, se enfrió a 47-50 °C. A partir de la serie de diluciones decimales y se sembró, por duplicado, 1 mL de cada disolución, con pipeta estéril, en los tubos con el medio previamente acondicionado. La siembra de cada una de las diluciones se hizo introduciendo la pipeta con el inóculo hasta el fondo de cada tubo y posteriormente, se sellaron los tubos con una capa de aproximadamente medio centímetro de parafina estéril, para evitar la entrada de aire. Una vez solidificado el medio en posición vertical, se llevaron los tubos a la estufa a 46 ± 1 °C durante 24-28 h. Se contaron el número de colonias negras crecidas y se multiplicó por el factor de dilución del tubo, para obtener un recuento total de colonias de formas vegetativas y esporas de *Clostridium* sulfito-reductores, conjuntamente. Los resultados se expresaron como ha sido descrito en el apartado 3.4.1.

3.4.6. *Salmonella* spp

La determinación de *Salmonella* spp. se realizó según el procedimiento descrito por Pascual y Calderón (2000). Se pesaron 25 g de lubina en una bolsa de stomacher a los que se añadieron 225 mL de agua de peptona tamponada estéril y se agitó durante 1 min en stomacher. A partir de esta disolución, se realizó un preenriquecimiento a 37 ± 1 °C durante 18-24 h. Tras este periodo, se realizó un enriquecimiento con dos caldos diferentes, Selenito-Cistina y Rappaport-Vassiliadis. Del primer caldo, se emplearon 100 mL a los que se añadieron 10 mL del preenriquecimiento, mientras que en el caso del Rapapport-Vassiliadis se emplearon 10 mL del caldo y 0,1 mL del preenriquecimiento. A continuación, el caldo elaborado con Selenito-Cistina se incubó a 37 ± 1 °C, mientras que el elaborado a partir de Rapapport-Vassiliadis se incubó a 42 ± 1 °C, ambos durante 18-24 h.

Cada uno de los caldos de enriquecimiento se sembraron por duplicado y en triple estría, en dos medios de cultivo diferentes, agar Hektoen (HE,

Scharlau) y agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD, Scharlau). De esta manera por cada muestra inicial se obtuvieron un total de 8 siembras, 4 en placas con HE y 4 en placas con XLD.

- ✓ Selenito-cistina: Dos placas HE
Dos placas XLD
- ✓ Rapaport-Vassiliadis: Dos placas HE
Dos placas XLD

Todas las placas se incubaron a 37 ± 1 °C durante 24-48 h. Tras la incubación, las colonias sospechosas de ser *Salmonella* aparecerían de color verde o verde-azulado en HE, y rojas con centro negro en XLD. Finalmente, la confirmación de las colonias sospechosas se realizó en tubo de agar inclinado con agar Hierro Triple Azúcar (TSI, Scharlau), mediante una siembra en estría en la superficie inclinada y en la parte profunda por picadura. Los tubos se incubaron a 37 ± 1 °C durante 24 h. Los cultivos típicos de *Salmonella* en TSI se caracterizan por presentar color rojo en la parte inclinada del tubo y color amarillo en la parte profunda, con o sin producción de H₂S (ennegrecimiento o no del medio).

3.4.7. *Streptococcus faecalis*

El recuento de *Streptococcus faecalis* empleado fue el descrito por Pascual y Calderón (2000). En primer lugar, se realizó una prueba presuntiva, donde en uno de los tubos de una serie de 3 con 10 mL de caldo presuntivo Kanamicida esculina Azida (KAA, Scharlau) se sembró 1 mL de la suspensión madre. De igual forma se procedió con las diluciones 10^{-2} y 10^{-3} . Los tubos se incubaron en estufa a 37 ± 1 °C durante 24 h, periodo tras el cual se consideraron como tubos positivos aquellos que presentaban ennegrecimiento como consecuencia de la hidrólisis de la esculina.

La prueba confirmativa consistía en la siembra de 0,1 mL de cada tubo positivo en placas de agar confirmativo KAA (Scharlau), que se incubaban a 37 ± 1 °C durante 24 h. Las colonias positivas eran aquellas que presentaban halo

negro, debido nuevamente a la hidrólisis de la esculina. Los resultados se expresaron de la misma forma que ha sido descrito en el apartado 3.4.1.

3.4.8. Bacterias productoras de sulfhídrico

El método empleado para el recuento de bacterias productoras de H₂S fue el descrito por Sivertsvik *et al.* (2003). A partir de las sucesivas diluciones decimales realizadas en agua de peptona, se sembraron, por duplicado, 0.1 mL en el medio selectivo agar hierro (AI, Scharlau) suplementado con L-cisteína (Scharlau), las placas se incubaron a 20 ± 1 °C durante 3 días. Las colonias positivas eran aquellas que presentaban ennegrecimiento por la producción de gas sulfhídrico. Los resultados se expresaron como ha sido descrito en el apartado 3.4.1.

3.5. Análisis sensorial

Para la realización del análisis sensorial de las muestras de lubina, durante el almacenamiento, se procedió en primer lugar a la selección y entrenamiento del panel de catadores que realizaría las pruebas. El panel consistió en 5 catadores (3 mujeres y 2 hombres) que se sometieron a 3 sesiones de entrenamiento conjuntas, tal y como describe la UNE 87 024-1 (AENOR, 1995).

Las sesiones de entrenamiento tuvieron como objetivo definir los atributos que determinan la calidad sensorial de la lubina ahumada y unificar los criterios de evaluación. Para el entrenamiento se emplearon muestras de lubina ahumada 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 ahumada, salada con 100% NaCl y con la mezcla de sales, durante su almacenamiento en refrigeración. Para este análisis

solamente se emplearon las muestras de lubina envasadas a vacío, realizando las pruebas a los 0, 14 y 28 días de almacenamiento en refrigeración.

El análisis sensorial consistió en una prueba escalar empleando escalas semi-estructuradas de 8 cm de longitud. Las muestras fueron presentadas a los catadores envueltas individualmente en papel de aluminio y codificadas con números de tres dígitos. Los atributos a evaluar en cada una de las muestras fueron: apariencia, olor típico de pescado, olor a humo, sabor, textura al tacto, textura en boca y aceptación global.

En cada sesión los catadores debían evaluar cuatro muestras, dos muestras recién ahumadas, correspondientes a los dos tipos de sales (100% NaCl a día 0 y 50%NaCl-50% KCl a día 0) y dos muestras almacenadas (una muestra de 100% NaCl y otra 50% NaCl-50% KCl a día 14 de almacenamiento en una sesión, y las mismas muestras almacenadas durante 28 días en otra sesión). Los catadores realizaron la evaluación de las muestras por duplicado en cada sesión. Los cuestionarios utilizados en las sesiones de evaluación se muestran en la figura V.3.

Continuación de la figura V.3.

4.- SABOR:

Intensidad sabor salado

Poco intenso Muy intenso

Sabor residual

Poco intenso Muy intenso

Aceptación

Muy desagradable Muy agradable

5.- TEXTURA AL TACTO: Evalúe la textura al tacto:

Muy desagradable Muy agradable

6.- TEXTURA EN BOCA: Evalúe la textura en boca:

Gomoso Firme

Muy desagradable Muy agradable

7.- APRECIACIÓN GLOBAL:

Muy desagradable Muy agradable

3.6. Análisis estadístico

El tratamiento estadístico se realizó mediante el programa Statgraphics Plus v.5.1. Con el objetivo de comprobar la existencia de diferencias significativas entre los diferentes tipos de muestras para cada uno de los parámetros evaluados se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA). Se utilizó el procedimiento LSD (*least significant difference*) para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%. Así, se realizaron diferentes ANOVAs simples para cada uno de los parámetros físico-químicos, microbiológicos y sensoriales estudiados, considerando como factores el tipo de envasado, el tipo de sal y el tiempo de almacenamiento, excepto en el caso de la evaluación sensorial donde se incluyeron las muestras envasadas en atmósfera modificada.

Así mismo, con el fin de evaluar el efecto global de dichos factores sobre la calidad microbiológica de las muestras, se realizó un análisis discriminante tomando como variables los valores obtenidos en los recuentos de los microorganismos objeto del presente estudio, y como factores el tipo de envasado y el tiempo de almacenamiento.

En el estudio de la evolución calidad sensorial de la lubina ahumada y envasada a vacío, con y sin sustitución parcial de NaCl por KCl, se realizó también un análisis discriminante donde se consideraron como variables los atributos considerados en la evaluación sensorial y como factor el tipo de sal.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de la materia prima. Efecto del procesado.

4.1.1. Caracterización fisico-química de la materia prima y de la lubina recién ahumada

a) Parámetros fisico-químicos

Los valores promedio obtenidos en la caracterización fisico-química de la lubina fresca, empleada como materia prima en este estudio, así como de la lubina inmediatamente después de ser sometida al proceso de ahumado (con y sin sustitución parcial del cloruro sódico) se muestran en la tabla V.2.

Tabla V.2. Caracterización fisico-química de lubina fresca y de lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. CRA: capacidad de retención de agua (g H₂O retenida/100 g H₂O). Valores promedio ± SD (n=12).

	Lubina fresca	Lubina ahumada	
		100% NaCl	50% NaCl-50% KCl
Humedad (g/100 g)	72 ± 1	67 ± 3	66 ± 3
Cenizas (g/100 g)	1,22 ± 0,03	5,6 ± 0,5	7,2 ± 0,2
Na ⁺ (mg/100 g)	66 ± 18	1279 ± 116	926 ± 75
K ⁺ (mg/100 g)	322 ± 19	467 ± 24	1653 ± 35
Mg ²⁺ (mg/100 g)	31 ± 1	34 ± 4	52 ± 9
Cl ⁻ (mg/100 g)	134 ± 16	1741 ± 167	1907 ± 298
pH	6,33 ± 0,09	6,04 ± 0,08	6,23 ± 0,06
a _w	0,986 ± 0,002	0,958 ± 0,002	0,956 ± 0,003
CRA	77 ± 4	88 ± 2	87 ± 2

La lubina fresca presentó un valor promedio de humedad del 72% (p/p), lo que coincide con los valores obtenidos por otros autores para esta misma especie criada en cautividad (Di Bella *et al.*, 1992; Erkan y Özden, 2007; Kyrana

y Lougovois, 2002; Nicolosi *et al.*, 1993; Orban *et al.*, 2002). El valor de humedad es, en este caso, ligeramente inferior a los valores obtenidos en la caracterización de las lubinas procedentes de piscifactoría y de pesca extractiva en el capítulo III.1 (apartado 4.1, tabla III.2); estas diferencias podrían ser atribuidas a diferencias en las condiciones ambientales, época del año, tamaño y edad del pescado, etc., tal y como ha sido demostrado por otros autores (Huss, 1998)

Los valores obtenidos en las determinaciones de cenizas, sodio, potasio y magnesio de la lubina fresca coinciden con los obtenidos por otros autores para esta misma especie de pescado (Alasalvar *et al.*, 2002; Erkan y Özden, 2007; Orban *et al.* 2002; USDA, 2006).

El valor de pH (6,33) fue similar a los valores obtenidos por otros autores en lubina procedente de acuicultura (Masniyom *et al.*, 2002; Parisi *et al.*, 2002; Torrieri *et al.*, 2006); sin embargo, existen ciertas diferencias entre los resultados obtenidos en otros estudios (Cakli *et al.*, 2007; Kyra y Lougovois, 2002; Orban *et al.*, 2002; Özden *et al.*, 2007; Papadopoulos *et al.*, 2003; Periago *et al.*, 2005; Taliadourou *et al.*, 2003), lo que confirmaría que, tal y como se ha comentado anteriormente, el valor de pH del músculo del pescado depende de múltiples factores como la época del año, disponibilidad de alimento, condiciones de captura, tiempo post-mortem, etc., tal y como ha sido señalado anteriormente por otros autores (Olsson *et al.*, 2007; Roth *et al.*, 2005; Rustad, 1992).

El alto valor de a_w (0,986) indicaría la elevada susceptibilidad de la lubina al deterioro microbiano, al igual que sucede para el resto de especies de pescado (Fernández-Salguero *et al.*, 1993). Estos valores coinciden con los obtenidos en las fases anteriores del presente trabajo (capítulo III.1, apartado 4.2; capítulo IV.1, apartado 4.1; capítulo IV.2, apartado 4.1 y capítulo IV.3, apartado 4.1).

Las muestras de lubina analizadas presentaron un alto valor de capacidad de retención de agua. Este parámetro mide la habilidad del músculo para

retener el agua libre por capilaridad y fuerzas de tensión (Ofstad, 1995), y está directamente relacionado con la jugosidad de los alimentos, así cuando el músculo tiene una alta CRA, es jugoso y es calificado con una alta puntuación en el análisis sensorial (Huss, 1998). El valor de CRA en la lubina fresca empleada como materia prima en este estudio fue superior al obtenido para la lubina de piscifactoría estudiada en el capítulo III.1, apartado 4.1.

El proceso de ahumado del pescado, independientemente del tipo de sal empleada, provocó una reducción en el contenido de agua, un aumento de la concentración en cenizas y sólidos solubles (Cl, Na, K y Mg) y una reducción importante de la a_w , respecto al pescado fresco (tabla V.2). Estos cambios aparecerían como consecuencia de la deshidratación e incorporación de sales al músculo. El contenido en cenizas de las muestras saladas con la mezcla de sales (7,2%) fue significativamente superior a las saladas con 100% de NaCl (5,6%) (anexo C, tabla VIII.4). Estas diferencias se deberían a que, tal y como se ha mostrado anteriormente, se utilizó mayor cantidad de la mezcla de sales que de NaCl puro en el proceso de salado, con el objeto de alcanzar valores de a_w similares en ambos tipos de muestra.

Respecto a los valores de pH, se apreciaron diferencias entre las muestras frescas y las procesadas, siendo el pH de estas últimas inferior al del pescado fresco. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores, que encontraron que la adición de sal provocaba una reducción en el pH del pescado fresco, en especies como caballa (Goulas *et al.*, 2005), merluza (Pastoriza *et al.*, 1998) y anchoa (Hernández-Herrero *et al.*, 1999). Este descenso en los valores de pH del músculo, sería debida al incremento en la fuerza iónica de la solución dentro de las células (Leroi y Joffraud, 2000). Puede observarse también cómo las muestras que fueron saladas únicamente con cloruro sódico, presentaron valores de pH significativamente inferiores a las muestras saladas con la mezcla de sales (anexo C, tabla VIII.4). El mismo efecto de la sustitución parcial de cloruro sódico por cloruro potásico sobre los valores del pH, ha sido descrito anteriormente (capítulo IV.3, apartado 4.5), así

como en el estudio del proceso de salado de bacalao con parcial de NaCl (Dimitropoulou, 2002).

No se encontraron diferencias en función del tipo de sal empleada, entre los valores de a_w de las muestras, a pesar de que éstas presentaron valores similares de humedad y que la concentración de los sólidos solubles en las muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl fue significativamente superior (anexo C, tabla VIII.4). Esta proximidad en los valores de a_w confirmaría que el valor de concentración de sólidos solubles fijado como objetivo para cada una de las sales (X_{obj}^{SS}) fue el adecuado para obtener un producto con un mismo valor de a_w .

El proceso de ahumado provocó un aumento en los valores de capacidad de retención de agua en las muestras de lubina, no observándose diferencias en función del tipo de sal empleada (anexo C, tabla VIII.4).

b) Indicadores químicos del deterioro

En la tabla V.3 se muestran los valores obtenidos en las determinaciones del nitrógeno básico volátil total (N-BVT), nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) y del índice del ácido tiobarbitúrico (TBA) tanto en lubina fresca, como en lubina recién ahumada (con y sin sustitución parcial del cloruro sódico).

Tabla V.3. Concentración de nitrógeno básico volátil total (N-BVT), nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) e índice del ácido del tiobarbitúrico (TBA) en lubina fresca y en lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	Lubina fresca	Lubina ahumada	
		100% NaCl	50% NaCl-50% KCl
N-BVT (mg N/100 g)	9,9 \pm 0,5	12,6 \pm 0,4	11,8 \pm 0,7
N-TMA (mg N/100 g)	1,75 \pm 0,06	2,3 \pm 0,2	2,1 \pm 0,3
TBA (mg malonaldehído/Kg)	0,11 \pm 0,05	0,26 \pm 0,02	0,28 \pm 0,03

En el pescado recién capturado este valor se encuentra entre 5 y 20 mg N/100g (Huss, 1998; Conell, 1995), en función de diversos factores como la especie de pescado, época del año, hábitat, etc. En las muestras de lubina fresca se encontraron valores relativamente bajos (9,9 mg N/100 g), lo que indicaría la buena calidad de la materia prima. Este parámetro ha sido utilizado tradicionalmente como índice de frescura en pescado (Huidobro y Tejada, 1990); sin embargo, su utilización en este sentido es cuestionada, considerándose en la actualidad no cómo un indicador de frescura sino como una medida del deterioro. Esta diferenciación se debe a que, tal y como se ha comentado anteriormente (capítulo III.1, apartado 4.1), el contenido de N-BVT se mantiene más o menos constante durante los primeros días de almacenamiento, aumentando su concentración cuando el producto ya está en el límite de aceptabilidad organoléptica.

Los valores para la concentración de N-TMA en las muestras de lubina fresca empleada como materia prima (1,75 mg N/100 g de pescado) fueron ligeramente inferiores a los dados por Özden *et al.* (2007) para esta misma especie, aunque superiores a los encontrados en otros estudios (Cakli *et al.*, 2007; Kyrana y Lougovois, 2002; Papadopoulos *et al.*, 2003). Respecto a este parámetro, hay una gran controversia en relación con los valores que se consideran aceptables en pescado fresco. En este sentido, han sido propuestos diferentes niveles de aceptación: 1 mg N/100 g (Kyrana *et al.*, 1997; Tejada y Huidobro, 2002), 2-3 mg N/100 g (Goulas y Kontominas, 2007), 5 mg N/100 g (Mashiyom *et al.*, 2002; Özden *et al.*, 2007), 5-10 mg N/100 g (Özogul *et al.*, 2004; El Marrakchi *et al.*, 1990), 12 mg N/100 g (Ruiz-Capillas y Moral, 2005) y 10-15 mg N/100 g (Connell, 1990). Esta variabilidad podría ser atribuida, a que los valores de N-TMA en el pescado varían con la especie, época del año, condiciones de almacenamiento, así como con la actividad bacteriana y enzimática endógena del mismo (Conell, 1995; Debevere y Boskou, 1996; Sivertsvik *et al.*, 2002). A grandes rasgos, se considera que el pescado con niveles inferiores a 1 mg N/100 g presenta una excelente calidad, mientras que

el límite de aceptabilidad más utilizado para el consumo humano se encuentra, para la mayoría de especies, entre 10-15 mg N/100 g en pescado almacenado aeróbicamente en refrigeración.

Hay que considerar también la posible influencia de la metodología analítica utilizada en esta determinación. Respecto al procedimiento de análisis empleado en el presente estudio, hay que señalar que Malle y Tao (1987) encontraron que los valores obtenidos mediante esta técnica, aunque eran ligeramente superiores, se correlacionaban satisfactoriamente con los valores obtenidos con las otras técnicas analíticas. Es por ello, que el hecho de que las concentraciones de N-TMA en las muestras de lubina fresca fueran ligeramente mayores a las proporcionadas en bibliografía, podría estar relacionado en mayor medida con el método analítico que con una deficiente calidad higiénica de la materia prima, ya que el resto de parámetros químicos analizados se encontraron dentro de los valores considerados aceptables.

El pescado, debido a su elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados, es especialmente vulnerable a la oxidación lipídica. Esta oxidación puede generar diferentes problemas relacionados con la calidad del producto, como son la aparición de olores y sabores a rancio, así como alteraciones en la textura, color y valor nutricional del producto (Huss, 1998; Ólafsdóttir *et al.*, 1997). El índice de TBA es ampliamente utilizado como indicador del grado de oxidación (Papadopoulos *et al.*, 2003). El valor de TBA obtenido en este estudio para la materia prima (0,11 mg malonaldehído/Kg pescado) fue considerablemente bajo (tabla V.3.), lo que indicaría que no se dieron reacciones de oxidación de la fracción lipídica de la lubina fresca. Estos valores fueron similares a los obtenidos por diferentes autores para lubina fresca (Cakli *et al.*, 2007; Kyrana y Lougovois, 2002), que relacionaron dichos valores con una buena calidad del pescado fresco.

Respecto al efecto del proceso de ahumado sobre los parámetros químicos evaluados, hay que señalar que éste provocó un aumento significativo en los valores de concentración de N-BVT y N-TMA, lo que podría ser atribuido

a la temperatura durante la etapa de secado (35 °C). No se observaron diferencias significativas para ambos parámetros en función del tipo de sal empleada (anexo C, tabla VIII.5).

Los valores de N-BVT para las muestras saladas con 100% NaCl y 50% NaCl-50% KCl fueron similares y coinciden con los valores dados para otros pescados ahumados como caballa (Goulas *et al.*, 2005), tilapia (Yanar *et al.*, 2006), salmón (Leroi *et al.*, 2001; Bugueño *et al.*, 2003) o llapuga (Gómez-Estaca *et al.*, 2007). La variabilidad comentada anteriormente para pescado fresco, respecto a los límites de este parámetro que marcan los niveles de rechazo, se mantiene e incluso acentúa en el caso de los productos de las pesca procesados y semi-procesados, ya que el tratamiento al que es sometido el pescado afecta también a la concentración final de N-BVT en el producto. Así, por ejemplo, concentraciones entre 30 y 40 mg N-BVT/100 g se han encontrado en salmón ahumado en frío y envasado a vacío, cuando el producto es rechazado en el análisis sensorial (Conell, 1995). Sin embargo, en gamba salada y cocida envasada en atmósfera modificada, el punto de rechazo sensorial se corresponde con niveles mucho más bajos, en torno a 10-20 mg N-BVT/100 g. En arenque salado se encontró que una concentración superior a 75 mg N-BVT/100 g se correspondía con un producto de una calidad sensorial aceptable. Esta variabilidad en los niveles de N-BVT en el punto donde el producto no es sensorialmente aceptable, apoyan la idea que los sabores y aromas típicos del deterioro del pescado pueden no estar solamente ocasionados por el N-BVT (Dalgaard, 2000).

Tal y como se ha señalado anteriormente, el procesado de los filetes de lubina provocó un ligero aumento de los valores de N-TMA respecto al pescado fresco (tabla V.3), como consecuencia de las temperaturas de secado y de la pérdida de humedad, factor que contribuye a aumentar su concentración en la muestra. Respecto a este parámetro, debe señalarse que los niveles citados anteriormente son sólo aplicables a pescado fresco y/o almacenado en refrigeración, ya que el aumento de la temperatura favorece la formación de N-

TMA (Ababouch *et al.*, 1996; Gallardo *et al.*, 1984). Es por ello, que resultaría necesario establecer límites superiores a los anteriormente citados para el pescado fresco, con el fin de evaluar satisfactoriamente la calidad de los productos procesados.

Los valores obtenidos para el índice de TBA en las muestras de lubina ahumada, con y sin sustitución parcial de sodio, fueron ligeramente superiores a los obtenidos para las muestras de lubina fresca (tabla V.3), siendo similares a los dados en bibliografía para otras especie de pescado ahumado (Birkeland *et al.*, 2004; Espe *et al.*, 2002, 2004; Goulas y Kontominas, 2005). En general, no se observaron diferencias significativas en función del tipo de sal empleada (anexo C, tabla VIII.5). El ligero aumento respecto a los valores hallados en la lubina fresca podría atribuirse a múltiples factores; por un lado, el eviscerado del pescado provocaría un aumento en los niveles de oxidación, debido al aumento en la exposición de los lípidos al oxígeno atmosférico (Papadopoulos *et al.* 2003), a este hecho habría que añadirle el efecto del proceso de ahumado del pescado, ya que tanto la incorporación de sal al producto como las temperatura de secado (35 °C) estarían favoreciendo la oxidación de la fracción lipídica. En este sentido, diferentes autores han mostrado que cuanto mayor es la temperatura de ahumado, mayor es el grado de oxidación lipídica (Espe *et al.*, 2004); así, se han observado aumentos significativos en los valores de TBA, respecto a los valores del mismo pescado fresco, tras el proceso de ahumado en caliente en diferentes especies de pescado; este incremento fue casi el doble en caballa (Bhuiyan *et al.*, 1986), bagre (Goktepe y Moody, 1998) y salmón (Regost *et al.*, 2004), mientras que en sardina ahumada el valor de TBA fue tres veces superior al de la sardina fresca (Beltran y Moral, 1991). Diferentes estudios han mostrado cómo la estabilidad de los lípidos del pescado durante el proceso de ahumado depende del contenido de sal en el producto, de su valor de a_w y de la intensidad del proceso de ahumado (Bhuiyan *et al.*, 1986; Flick *et al.*, 1992). Sin embargo, el efecto de la sal sobre lo procesos oxidativos ha provocado ciertas controversias; por un lado, diversos autores

han observado que el salado acelera la oxidación lipídica (Aubourg y Ugliano, 2002; Guillen y Ruiz, 2004; Goulas y Kontominas, 2005, 2007; Ruiz-Capillas y Moral, 2001); sin embargo, a bajas concentraciones (4% de sal en la fase líquida del producto) posee un papel protector contra la oxidación de los lípidos (Flick *et al.*, 1992; Nambudiry, 1980). Además, el procedimiento de salado empleado también influye sobre la oxidación del producto; así por ejemplo, en el salado con salmuera, ésta actúa como barrera frente a la acción del oxígeno atmosférico y, por tanto, se ralentiza el proceso oxidativo acentuándose este retraso en la oxidación en el caso del salado a bajas temperaturas (Bhuiyan *et al.*, 1986)

Es interesante también, resaltar el conocido efecto antioxidante de algunos de los componentes característicos del humo, entre los que destacan los compuestos fenólicos.

En la tabla V.4 se muestran los contenidos en aminas biógenas en las muestras de lubina fresca, empleada como materia prima, así como en las muestras de lubina ahumada, saladas con 100% NaCl y 50% NaCl-50% KCl, inmediatamente después de ser sometidas al proceso de ahumado.

Tabla V.4. Contenido en aminas biógenas (mg/Kg) en la lubina fresca y en la lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	Lubina fresca	Lubina ahumada	
		100% NaCl	50% NaCl-50% KCl
Histamina	0,42 \pm 0,72	2,7 \pm 0,72	1,21 \pm 1,68
Triptamina	ND	ND	ND
Tiramina	0,39 \pm 0,67	1,93 \pm 0,79	1,75 \pm 1,08
Putrescina	ND	ND	ND
Cadaverina	ND	ND	ND
Espermidina	2,58 \pm 0,49	4,31 \pm 0,78	3,98 \pm 0,58
Espermina	2,62 \pm 0,82	4,08 \pm 2,67	3,18 \pm 1,13

ND: no detectado

Las aminas biógenas son compuestos no volátiles que aparecen en muy bajas concentraciones en el pescado fresco y cuya acumulación está relacionada con el deterioro bacteriano del mismo. En este sentido, la histamina junto con otras aminas biógenas han sido propuestas como indicadores de frescura en pescado (Meitz y Karmas, 1977). La intoxicación histamínica es frecuentemente asociada al consumo de pescado en condiciones higiénico-sanitarias deficientes. Además, la histamina es la única amina biógena que presenta límite máximo legal, aunque en los últimos años se ha destacado también la importancia de otras aminas en este tipo de intoxicaciones alimentarias, como la putrescina y cadaverina, debido a que potencian el efecto tóxico de la histamina y están a su vez asociadas al deterioro bacteriano.

Debido a la relación entre el contenido en aminas biógenas en el pescado y el deterioro microbiano, diferentes autores han propuesto un índice de aminas biógenas (BAI) que permitiría evaluar la calidad de pescado de roca, salmón, langosta y gamba (Meitz y Karmas, 1977), así mismo Venciana-Nogués *et al.* (1997) propusieron otro índice, calculado a partir de la suma de histamina, tiramina, putrescina y cadaverina, para evaluar la calidad higiénica del atún. Con este mismo fin, otros autores destacan la importancia de ciertas aminas dependiendo del tipo de pescado, así por ejemplo, Yamanaka *et al.* (1987) propuso la agmatina como un índice de frescura en calamar, mientras que para trucha arcoíris almacenada en refrigeración, Dawood *et al.* (1986) propusieron la putrescina y cadaverina como indicadores de frescura. Por su parte, Okozumi *et al.* (1990) consideraron estas mismas aminas como indicadores de deterioro microbiano en caballa cuando *Pseudomonas* spp. era la flora bacteriana dominante. Todos estos resultados, muestran la diversidad de criterios en función de la especie de pescado, lo que dificulta en gran medida el establecimiento de un nivel único para la evaluación de la calidad en pescado fresco.

Respecto a las muestras analizadas en el presente estudio, hay que señalar que no se detectó triptamina, cadaverina ni putrescina en las muestras

de lubina fresca, lo que podría indicar la adecuada calidad higiénica de la materia prima. En este sentido, Křížek *et al.* (1999), basándose en las puntuaciones obtenidas en un análisis sensorial, propusieron que valores de putrescina inferiores a 10 mg/Kg corresponden a una buena calidad en carpa, mientras que valores entre 10 y 20 mg/Kg indican una calidad aceptable y superiores a 20 mg/Kg corresponden a una calidad deficiente. Los contenidos mayores en aminas biógenas correspondieron a las poliamidas espermidina y espermina, con valores similares para ambas y próximos a los 2,5 mg/Kg de pescado. Otros autores encontraron valores similares en lubina fresca (Özogul *et al.*, 2006a; Paleologos *et al.*, 2004), así como en otras especies de pescado como anchoa (Pons-Sánchez-Cascado *et al.*, 2003, 2006a, b, c), arenque (Özogul *et al.*, 2002a,b), trucha (Chytiri *et al.*, 2004), anguila (Özogul *et al.*, 2006b) y sardina (Gokoglu, 2003; Gökoglu *et al.*, 2003). Tanto la espermidina como la espermina son típicas del pescado fresco y su contenido está directamente relacionado con la especie de pescado y los aminoácidos libres presentes en el músculo, no estando asociado al deterioro microbiológico (Bardódcz, 1995; Mariné-Font *et al.*, 1995; Pons-Sánchez-Cascado *et al.*, 2006c).

Respecto al efecto del proceso de ahumado hay que señalar que el procesado de los filetes provocó un aumento en los niveles de histamina, tiramina, espermidina y espermina; mientras que en ninguna de las muestras, tras el procesado, se detectó putrescina, cadaverina ni triptamina, al igual que en el caso del pescado fresco. No se observaron diferencias significativas respecto a las diferentes aminas analizadas (anexo C, tabla VIII.6) entre los dos tipos de sal empleada en las muestras de lubina recién ahumada.

c) Coordinadas de color

Para evaluar el efecto del procesado de la lubina sobre el color, se realizó la medición de las coordenadas de color a los filetes de lubina fresca y a los filetes después del proceso completo de ahumado. Los valores de las

coordenadas L^* , a^* y b^* , así como el tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) fueron proporcionados por el equipo; a partir de las coordenadas de color, se calcularon para cada una de las sales empleadas, las diferencias de color (ΔE) respecto al pescado fresco.

Los valores obtenidos en las determinaciones de color se muestran en la tabla V.5. Se puede observar cómo el proceso de ahumado provocó una reducción en los valores de luminosidad, debido principalmente a que la aplicación del humo líquido provocó el oscurecimiento de los filetes de lubina. Tras el procesado también se observa un aumento considerable en los valores de a^* y b^* , lo que indicaría que la aplicación de humo líquido provocó la aparición de tonos rojizos y amarillentos, tal y como se pudo apreciar visualmente en los filetes de lubina ahumados. En otros estudios realizados sobre el efecto del proceso de ahumado en el color de salmón (Cardinal *et al.*, 2001), se observó que, al igual que en el caso de la lubina, el ahumado provocó un aumento en los valores de b^* y una reducción de los valores de luminosidad, como consecuencia de la pérdida de agua.

En general, no se encontraron diferencias significativas en las coordenadas de color (L^* , a^* , b^* , h_{ab}^* y C_{ab}^*), entre las muestras de la lubina ahumada que habían sido saladas con los dos tipos de sal (anexo C, tabla VIII.7). Sin embargo, tal y como se comentado en anteriormente (capítulo IV.3, apartado 4.6), la sustitución parcial de cloruro sódico en las muestras de lubina provocó diferencias significativas en las coordenadas de color tras el proceso de salado. El hecho de que no se encontraran estas diferencias tras el ahumado, se debe posiblemente a que la aplicación del humo provoca un cambio importante en el color del pescado, reduciendo así las diferencias que implicaría la utilización de las diferentes sales.

Tabla V.5. Coordenadas CIEL*a*b*, tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) en lubina fresca y en lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-

50% KCl, y diferencias de color de las muestras ahumadas respecto a la lubina fresca (ΔE). Valores promedio \pm SD (n=12).

	Lubina fresca	Lubina ahumada	
		100% NaCl	50% NaCl-50% KCl
L*	52,2 \pm 1,8	46,1 \pm 2,0	45,8 \pm 1,7
a*	-2,4 \pm 0,6	-0,8 \pm 0,1	0,3 \pm 0,8
b*	7,8 \pm 1,2	9,4 \pm 1,5	6,2 \pm 0,1
C _{ab} *	8,2 \pm 1,1	9,5 \pm 1,5	10,4 \pm 2,1
h _{ab} *	107,6 \pm 6,3	96,3 \pm 6,5	91,1 \pm 5,3
ΔE	-	7,6 \pm 1,9	6,7 \pm 1,8

d) Propiedades mecánicas

Con el objeto de estudiar las propiedades mecánicas de la lubina fresca empleada como materia prima en el presente estudio, así como el efecto del proceso de ahumado, se realizaron los ensayos de doble compresión (TPA) y corte. Los parámetros obtenidos a partir del análisis de TPA fueron dureza (D), cohesividad (C), adhesividad (A), elasticidad (E), gomosidad (G) y masticabilidad (M). A partir del ensayo de corte se obtuvo el valor de la fuerza máxima necesaria para atravesar la muestra de lubina ahumada (F_{max}).

En la tabla V.6 se muestran los valores de los parámetros mecánicos obtenidos en el ensayo de TPA y de corte para la materia prima, así como los valores correspondientes a las muestras recién ahumadas (con y sin sustitución parcial de cloruro sódico).

Tabla V.6. Parámetros mecánicos de dureza (D), cohesividad (C), adhesividad (A), elasticidad (E), gomosidad (G), masticabilidad (M) y fuerza máxima de corte (F_{max}) en lubina fresca y en lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	Lubina fresca	Lubina ahumada	
		100% NaCl	50% NaCl-50% KCl
D (N)	34± 7	44 ± 3	39 ± 1
C	0,3 ± 0,2	0,55 ± 0,01	0,59 ± 0,01
A (g/s)	-63 ± 30	-164 ± 11	-140 ± 25
E	0,59 ± 0,08	0,87 ± 0,04	0,85 ± 0,03
G (N)	14 ± 3	24,4 ± 1,2	21,8 ± 0,9
M (N)	8 ± 2	21,2 ± 1,8	18,6 ± 0,2
F _{max} (N)	1,2 ± 0,2	2,8 ± 0,3	2,7 ± 0,3

Los valores de dureza, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad obtenidos para la lubina fresca coinciden con los dados por Periago *et al.* (2005) para la lubina procedente de piscifactoría.

Respecto al efecto del proceso de ahumado en las propiedades mecánicas de la lubina, las muestras de lubina tras el procesado presentaron valores superiores de todos los parámetros evaluados en el ensayo de TPA. El efecto del proceso de ahumado sobre los parámetros mecánicos del músculo de pescado, ha sido descrito por otros autores (Birkeland *et al.*, 2004), los cuales mostraron cómo el ahumado provocaba un aumento en los valores de dureza y de elasticidad del salmón, respecto a los valores del pescado fresco. Sin embargo, las diferentes condiciones de procesado o del tipo de ahumado, afectan de forma distinta la textura del producto final, lo que ha sido puesto de manifiesto por Martínez *et al.* (2007), a partir del estudio de las propiedades mecánicas en salmón ahumado, mediante inmersión de las piezas en dos disoluciones diferentes de humo líquido. El efecto de las diferentes condiciones de ahumado también ha sido estudiado en salmón ahumado en frío por Birkeland *et al.* (2004), concluyendo que las piezas de salmón sometidas a condiciones más severas de ahumado presentaron valores de dureza y elasticidad mayores que las muestras sometidas a ahumados más suaves.

Respecto a los resultados obtenidos en el ensayo de corte, la fuerza requerida para cortar las muestras (F_{max}) de la lubina ahumada,

independientemente del tipo de sal empleada (anexo C, tabla VIII.8), fue mayor que la fuerza necesaria en el caso de las muestras frescas. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores en el estudio de las propiedades mecánicas del salmón procesado bajo diferentes condiciones (Gómez-Guillén *et al.*, 2000; Sigurgisladottir *et al.*, 2000).

4.1.2. Caracterización microbiológica de la materia prima y de la lubina recién ahumada

En la tabla V.7 se muestran los recuentos microbiológicos obtenidos en lubina fresca y en las muestras de lubina recién ahumada, con y sin sustitución parcial de cloruro sódico.

Tabla V.7. Recuentos microbiológicos de lubina fresca y de lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	Lubina fresca	Lubina ahumada	
		100% NaCl	50% NaCl-50% KCl
Mesófilos*	4,5 \pm 0,8	3,3 \pm 0,6	3,7 \pm 0,3
Mohos y levaduras*	4,6 \pm 0,4	3,6 \pm 0,3	3,3 \pm 0,3
Enterobacterias*	2,2 \pm 1,5	< 1	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i> (NMP/g)	< 3	< 3	< 3
<i>Clostridium</i> sulfito-reductores*	< 1	< 1	< 1
<i>Salmonella</i>	Ausencia/25g	Ausencia/25 g	Ausencia/25g
<i>Streptococcus faecalis</i> *	< 1	< 1	< 1
Bacterias productoras H ₂ S*	3 \pm 2	< 2	< 2

* log ufc/g

Respecto a la calidad microbiológica de la materia prima, hay que destacar que no se aislaron colonias de *Clostridium* sulfito-reductores, *Salmonella*, *Streptococcus faecalis* ni de *Staphylococcus aureus* en ninguna de las muestras de lubina fresca.

Los recuentos de mesófilos en lubina fresca fueron del orden de 4,5 ciclos logarítmicos. Considerando que tasas superiores a 10^6 ufc/g de aerobios mesófilos indican el inicio de la descomposición en pescado (Özogul *et al.*, 2004; Pascual y Calderón 2000), podría establecerse que la materia prima presentó una calidad higiénica aceptable. En otros estudios microbiológicos realizados en filetes de lubina (Paleologos *et al.*, 2004; Papadopoulos *et al.*, 2003), así como en otras especies de pescados mediterráneos (Koutsoumanis y Nychas, 1999; Tejada y Huidobro, 2002), se encontraron recuentos de mesófilos entre 4 y 6 log ufc/g; sin embargo, en otros trabajos realizados a partir del pescado entero (sin eviscerar ni filetear), se muestran recuentos inferiores (2,78 log ufc/g) (Cakli *et al.*, 2006). Papadopoulos *et al.* (2003) encontraron que la lubina tras la evisceración presentaba una vida útil más corta que la de este mismo pescado entero, pasando de 13 a 8 días de almacenamiento en refrigeración. Esta reducción en la vida útil de la lubina, estaría condicionada por una contaminación cruzada durante las operaciones de eviscerado y fileteado, y también por la mayor superficie expuesta a la contaminación microbiana ambiental en el caso del pescado eviscerado.

Respecto a los recuentos de mohos y levaduras en la materia prima, se observaron recuentos similares a los obtenidos para los microorganismos aerobios mesófilos.

Los recuentos iniciales de enterobacterias y bacterias productoras de H_2S , en los filetes de lubina fresca coinciden con los valores obtenidos por otros autores para esta misma especie de pescado (Paleologos *et al.*, 2004; Papadopoulos *et al.*, 2003).

Con relación al efecto del proceso de ahumado en la calidad microbiológica de la lubina, se puede observar que tras el procesado, al igual

quesucedía en el caso de la lubina fresca, en ninguna de las muestras de lubina ahumada, se detectó la presencia de *Clostridium* sulfito-reductores, *Salmonella*, *Streptococcus faecalis* ni *Staphylococcus aureus*, lo que indicaría una adecuada manipulación durante el procesado (tabla V.7). Se puede observar también que para el resto de microorganismos, tras el ahumado, se consiguió reducir la carga microbiana inicial de la materia prima, en los dos tipos de muestras (lubina salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl).

No se observaron diferencias significativas en función del tipo de sal utilizada, de lo que podría deducirse que la sustitución parcial del contenido en cloruro sódico de la lubina ahumada no tuvo efecto sobre la calidad microbiológica inicial de las muestras (anexo C, tabla VIII.8).

De forma paralela, con el objeto de confirmar la ausencia de contaminación en los envases antes de ser utilizados, se realizaron pruebas en blanco de las bolsas donde iban a ser envasados los filetes de pescado. Se obtuvieron resultados negativos para todos los microorganismos analizados, indicando la adecuada calidad higiénica de los envases empleados

4.2. Evolución de la calidad de la lubina ahumada durante el almacenamiento en refrigeración.

4.2.1. Evolución de la calidad fisico-química de la lubina ahumada durante el almacenamiento en refrigeración

Se estudió la evolución de la calidad fisico-química de la lubina ahumada, con y sin sustitución parcial de cloruro sódico, envasada en aire, a vacío y en atmósfera modificada, durante un periodo de almacenamiento de 42 días, a 4 °C. Para ello se estudiaron diferentes parámetros fisico-químicos (humedad, pH, a_w y CRA), parámetros químicos indicadores de deterioro (N-BVT, N-TMA, oxidación lipídica mediante el índice de TBA y aminas biógenas), color y propiedades mecánicas, en los filetes de lubina ahumada a intervalos de 7 días.

Con el objeto de estudiar la existencia de diferencias significativas en los parámetros evaluados entre muestras, debidas a la atmósfera de envasado, a la sustitución parcial de cloruro sódico y al tiempo de almacenamiento, se realizó un ANOVA simple, considerando en cada caso como factores el tipo de envasado, el tipo de sal y el tiempo de almacenamiento, y como variables los parámetros anteriormente citados. Aunque los resultados obtenidos en el análisis estadístico se comentan a lo largo del estudio, los valores de los ANOVAs no se muestran en el presente trabajo.

a) Parámetros físico-químicos

En la figura V.4 se muestra la evolución de los valores de humedad en las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50%KCl-50% NaCl, y envasadas en aire, vacío y atmósfera modificada. Se observa que ni el tipo de envasado ni el tipo de sal provocaron cambios en la evolución de los valores de humedad, siendo estos valores muy similares para todas las muestras durante todo el periodo de estudio. Estos resultados fueron confirmados en los ANOVAs simples realizados con los valores de humedad, los cuales mostraron que no hubo diferencias significativas entre muestras, para el factor "envasado", para el factor "tiempo", ni para el factor "sal".

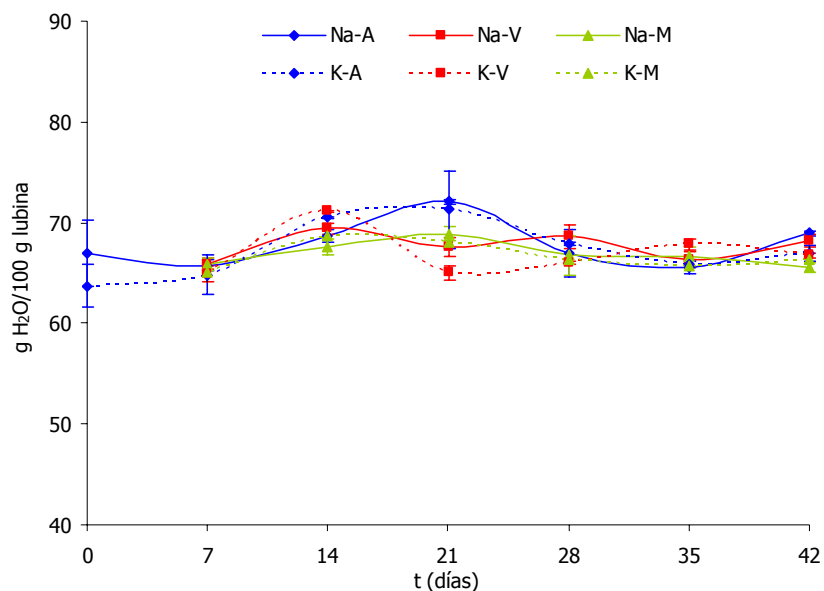


Figura V.4. Evolución de la humedad en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

Respecto a los valores de pH (figura V.5) las diferencias iniciales encontradas respecto a este parámetro entre los dos tipos de sal (tabla V.2 y anexo C, tabla VIII.4), se mantuvieron durante todo el periodo de almacenamiento. En general, las muestras saladas con 100% de NaCl presentaron valores de pH significativamente inferiores durante los 42 días de estudio, independientemente del tipo de envasado empleado ($p < 0,001$). Se puede observar también que, durante el almacenamiento en refrigeración, el pH de las muestras aumentó de forma progresiva, debido principalmente a las reacciones de degradación (proteolisis), que dan lugar a la formación de compuestos básicos, tal y como ha sido observado en el almacenamiento de otras especies de pescado (Bugueño, 1999; Fernández-Segovia, 2003).

En cuanto al efecto del envasado sobre este parámetro se observa que las muestras de lubina ahumada envasadas en aire presentaron, para ambos

tipos de sal, valores superiores a las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada durante todo el periodo de estudio, acentuándose estas diferencias al final del almacenamiento. Estas diferencias indicarían un mayor grado de deterioro en las muestras envasadas en aire. No se apreciaron diferencias significativas entre el envasado a vacío y atmósfera modificada.

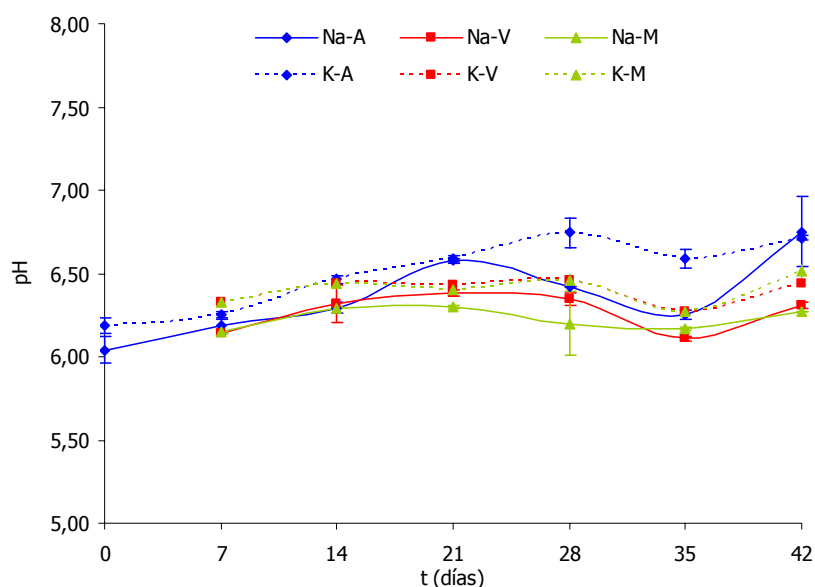


Figura V.5. Evolución del pH en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

En la figura V.6 se muestra la evolución de los valores de a_w en las muestras de lubina ahumada. Las muestras envasadas en aire presentaron valores de a_w superiores a las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada, excepto al final del almacenamiento. Los valores mayores en este parámetro podrían ser el resultado de los cambios degradativos, tales como la proteólisis y crecimiento microbiano, que se dan en mayor proporción en el producto envasado en aire.

En general, no se observaron diferencias significativas entre los dos tipos de sales, apareciendo diferencias puntuales en algunos casos, posiblemente ocasionadas por la heterogeneidad propia de las muestras.

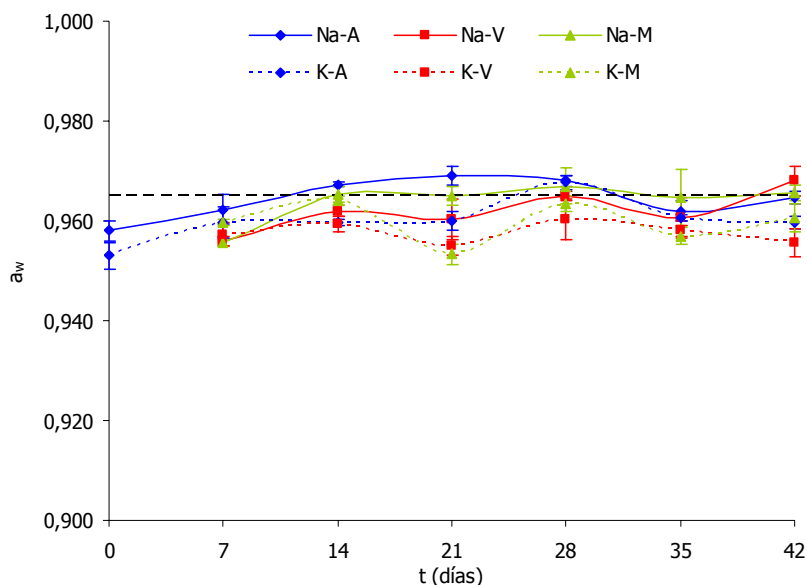


Figura V.6. Evolución de la actividad de agua (a_w) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

En relación con los valores de CRA (figura V.7), se observó un descenso en los valores de este parámetro a lo largo del periodo de almacenamiento, para las muestras almacenadas en aire, mientras que en las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada los valores de CRA se mantuvieron prácticamente constantes durante todo el estudio, no encontrándose diferencias significativas entre ambos tipos de envasado. Este hecho podría indicar nuevamente que las muestras envasadas en aire fueron las que sufrieron una mayor degradación de las proteínas que conforman el músculo de pescado, con la subsiguiente alteración de las propiedades de la

capa pericelular del músculo que, en condiciones normales, representa una barrera física ante la liberación de agua (Fernández-Segovia, 2003). Es por ello que algunos autores han considerado este parámetro como una herramienta útil para determinar el grado de deterioro microbiano en carne (Jay, 1964). En este sentido, estudios realizados con fletán mostraron que en ausencia de deterioro microbiano, la CRA del músculo permaneció prácticamente estable hasta los 15 días post-mortem, sin embargo, en presencia de deterioro y tras un aumento inicial en los valores de CRA, éstos descendieron desde el día 5 al 15 de almacenamiento (Olsson *et al.*, 2003). Se obtuvieron resultados similares en mújol y bacalao (Fletcher y Statham, 1988; Surrete *et al.*, 1988; citados por Olsson *et al.*, 2003). Estos resultados corroborarían el hecho de que las enzimas proteolíticas, posiblemente de origen bacteriano, son las responsables de la degradación post-mortem de los componentes de la matriz extracelular y por tanto afectarían a los valores de CRA.

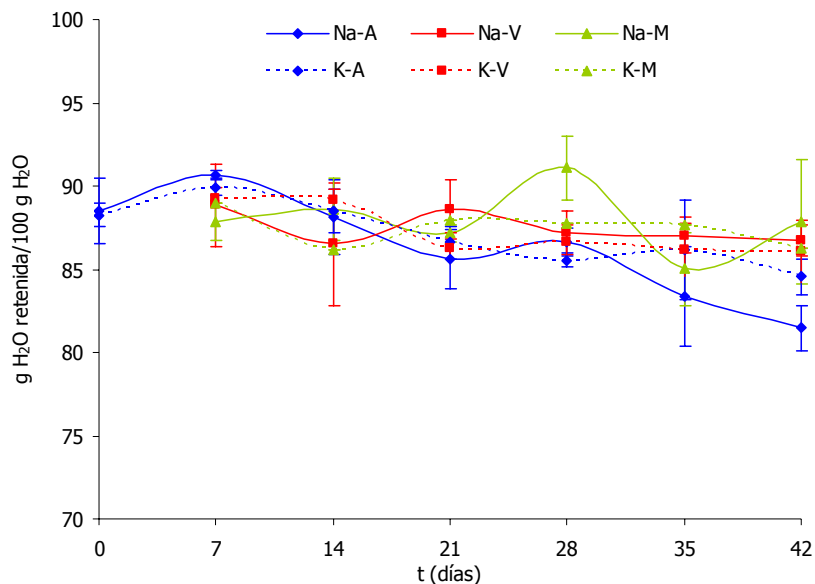


Figura V.7. Evolución de la capacidad de retención de agua (CRA) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas

con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

b) Indicadores químicos del deterioro

Se estudió la evolución de ciertos parámetros químicos considerados como indicadores del deterioro de pescado (concentración de N-BVT, N-TMA aminas biógenas e índice de TBA), en la lubina ahumada con y sin sustitución parcial de cloruro sódico, envasada en aire, a vacío y en atmósfera modificada, durante un periodo de almacenamiento de 42 días, a 4 °C.

La evolución del contenido en nitrógeno básico volátil total (N-BVT), de las diferentes muestras de lubina ahumada se muestra en la figura V.8.

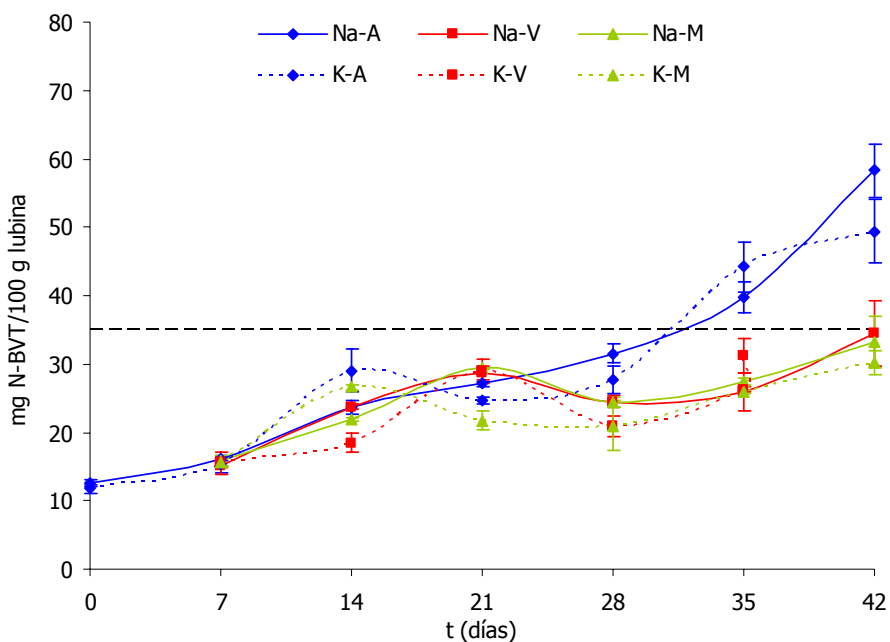


Figura V.8. Evolución del nitrógeno básico volátil total (N-BVT) en lubina ahumada. Na: muestras salada con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl - 50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el límite máximo establecido por la legislación.

El contenido en N-BVT en las muestras de lubina ahumada aumentó significativamente durante el periodo de almacenamiento ($p > 0,001$), independientemente del tipo de sal o envasado utilizados. En general, no se observaron diferencias significativas en función del tipo de sal empleada. El tipo de envasado afectó significativamente al contenido de N-BVT en las muestras; aunque al inicio del estudio no se observaron diferencias significativas entre los tres tipos de envasado (aire, vacío y atmósfera modificada), a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, los valores de N-BVT en las muestras incrementaron en mayor medida que en las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada, no encontrándose diferencias significativas entre estos dos últimos tipos de envasado.

Tal y como se ha comentado anteriormente, el N-BVT es empleado como índice de calidad en pescado, ya que se considera que su incremento está relacionado con el deterioro microbiano del producto. Sin embargo, algunos autores no consideran que este índice sea un buen indicador de la calidad del pescado durante su almacenamiento (Kyrana *et al.*, 1997; Papadopoulos *et al.*, 2003; Tejada y Huidobro, 2002), ya que para la mayoría de las especies de pescado, la concentración de N-BVT aumenta de manera curvilínea con el tiempo de almacenamiento (Kyrana *et al.*, 2002). En este sentido, en un estudio de conservación de lubina no se observaron diferencias significativas en el contenido de N-BVT hasta que los recuentos microbianos de aerobios totales alcanzaron niveles próximos a los límites legales (10^6 ufc/g) (Cakli *et al.*, 2007).

Considerando el límite legal de aceptación para el N-BVT establecido por la Unión Europea (CEE, 2005) de 35 mg N/100 g pescado (línea horizontal discontinua en la figura V.8) se observa que la lubina ahumada almacenada en aire, independientemente del tipo de sal utilizada, presentó una vida útil aproximadamente de un mes en refrigeración, mientras que las muestras almacenadas a vacío o en atmósfera modificada, presentaron concentraciones inferiores a este límite hasta el día 42 de almacenamiento.

En la figura V.9 se observa como los valores de nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) aumentaron de forma significativa con el tiempo de almacenamiento ($p > 0,001$), destacando especialmente el incremento que se produjo a partir del día 35 de almacenamiento.

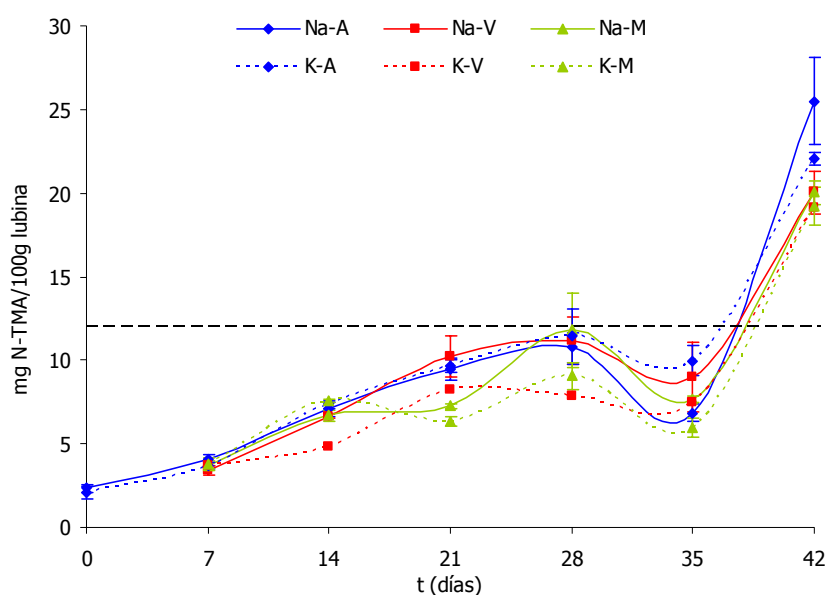


Figura V.9. Evolución del nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl - 50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el nivel máximo de aceptación considerado en el presente estudio.

Las muestras de lubina ahumada, presentaron para cada uno de los tiempos de almacenamiento valores similares independientemente del tipo de envasado, si bien al final del estudio, los valores de N-TMA en las muestras almacenadas en aire fueron significativamente superiores al resto ($p < 0,001$). En general, no se observaron diferencias significativas en función del tipo de sal empleada.

Considerando como límite máximo de aceptación un valor igual a 12 mg N-TMA/100 g (Ruiz-Capillas y Moral, 2001), todas las muestras presentaron valores muy cercanos a este límite a los 28 días de almacenamiento, excepto las muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl envasadas a vacío y en atmósfera modificada, las cuales no superaron este límite hasta pasados los 35 días de almacenamiento.

Para estudiar la evolución del grado de oxidación de la fracción lipídica de la lubina ahumada, se determinaron los valores del índice de TBA. La evolución de estos valores durante los 42 días de almacenamiento se muestra en la figura V.10.

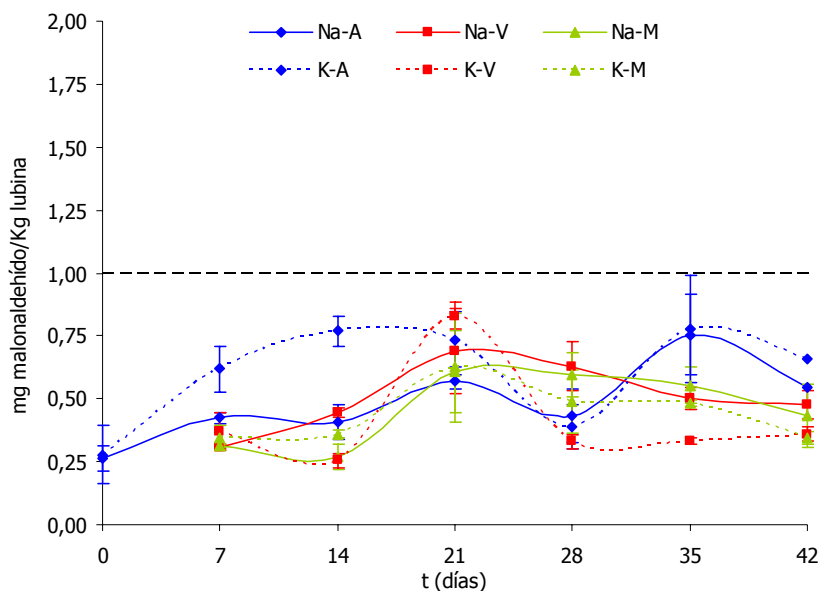


Figura V.10. Evolución del índice del TBA en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el nivel máximo de aceptación considerado en el presente estudio.

Los valores del índice de TBA en las muestras de lubina ahumada, aumentaron ligeramente durante las tres primeras semanas de

almacenamiento, momento a partir del cual se mantuvieron constantes, llegando incluso a descender ligeramente. El descenso en los valores de este índice ha sido observado por otros autores durante el estudio de almacenamiento de otras especies de pescado (Curzio y Quaranta, 1982; Fernández *et al.*, 1997; Gomes *et al.*, 2003; Hernández-Herrero *et al.*, 1999), y podría ser atribuido a la capacidad del malonaldehído (MDA) para interactuar con los productos procedentes de la degradación proteica, así como otros componentes presentes en el pescado, como aminos, nucleósidos y ácidos nucleicos, proteínas, fosfolípidos y otros aldehídos (Aubourg, 1993).

En ninguna de las muestras analizadas, se alcanzaron valores del índice de TBA superiores al límite por encima del cual el pescado es rechazado por sabor y aromas desagradables (1-2 mg MDA/Kg) (Connell, 1995). Concretamente, Ruiz-Capillas y Moral (2001) establecieron que el nivel mínimo de malonaldehído que sería detectable para los catadores a un valor igual a 1,44 mg MDA/Kg.

Los bajos valores del índice de TBA observados durante todo el almacenamiento, indicarían que la oxidación lipídica no parece ser uno de los procesos dominantes en el deterioro de este producto.

Es interesante destacar también, que los valores de TBA en las muestras de lubina ahumada envasadas a vacío fueron similares a los otros dos tipos de envasado, por lo que el enranciamiento del producto no dependería solamente de la cantidad de oxígeno en el interior del envase. El proceso de ahumado ejerce cierto efecto sobre la oxidación del producto, debido a la demostrada actividad antioxidante de los componentes fenólicos presentes en el humo, que son depositados sobre el pescado. Estos compuestos actuarían en el producto reduciendo el grado de oxidación, tal y como ha sido observado por diferentes autores (Goulas *et al.*, 2005).

La evolución del contenido de aminos biógenas en las muestras de lubina ahumada, se muestra en las figuras V.11 a V.16.

No se detectó triptamina en ninguna de las muestras durante el periodo de estudio, lo que podría ser debido a que, tal y como ha sido estudiado por Pons-Sánchez-Cascado *et al.* (2006b), las bajas temperaturas inhiben/retrasan la formación de esta amina, por lo que la ausencia de ésta durante todo el estudio podría atribuirse al almacenamiento en refrigeración de las muestras.

En cuanto a la concentración de histamina (figura V.11) se observó un aumento progresivo en las muestras saladas con 100% NaCl, independientemente del tipo de envasado. Las muestras ahumadas y saladas con la mezcla de 50% NaCl-50% KCl presentaron durante todo el estudio valores significativamente inferiores a los de las muestras saladas con 100% NaCl, lo que podría indicar que la sustitución parcial de sodio por potasio ejerció un efecto inhibitor en la formación de histamina; aunque hay que señalar que no se han encontrado estudios sobre el efecto de diferentes sales sobre la formación de histamina. Diferentes estudios han puesto de manifiesto que en los productos de la pesca salados, el conjunto de especies microbianas formadoras de histamina puede cambiar en función de la especie de pescado, manipulación, procesado y condiciones de almacenamiento (Hernández-Herrero *et al.*, 1999; Tsai *et al.*, 2005), así como en función de la concentración de sal en el producto (Hernández-Herrero *et al.*, 1999; Rodríguez-Jerez *et al.*, 1994a,b; Taylor y Speckard, 1984,). En este sentido, sería interesante el estudio del posible efecto de la sustitución parcial del cloruro sódico por cloruro potásico sobre los microorganismos formadores de histamina.

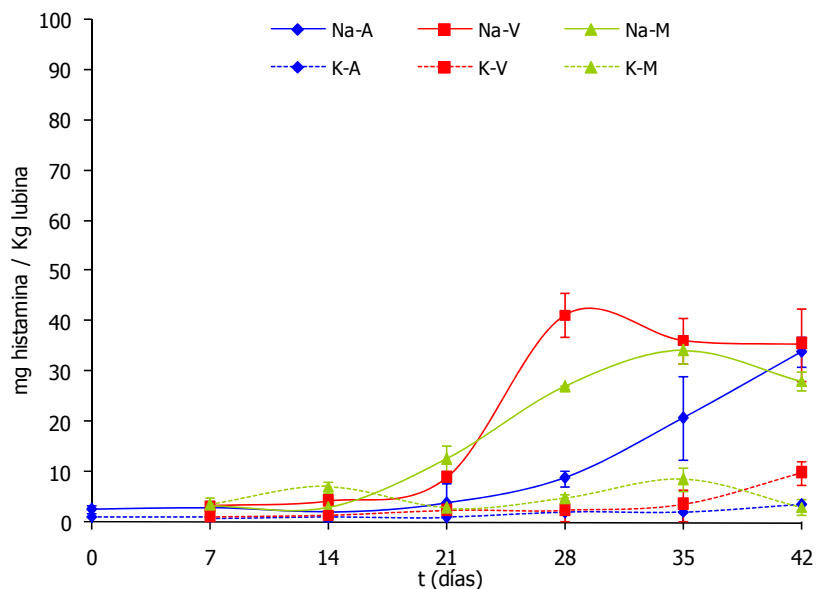


Figura V.11. Evolución del contenido en histamina en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

En ninguna de las muestras se alcanzaron los límites establecidos por la FDA (50 ppm) para los pescados pertenecientes a la familia de los *Scombridae*. Respecto a esta amina, la Unión Europea establece a su vez niveles legales máximos de 100 y 200 ppm para las familias *Scombrodae* y *Clupeidae*, respectivamente, mientras que el nivel de toxicidad de esta amina se encuentra en 500 ppm (EEC, 1991; FDA, 2001). Aunque la lubina no pertenece a éstas especies, se tomaron estos valores como referencia, ya que no se encontraron límites de histamina específicos para lubina.

Cabría destacar que el hecho de que las muestras se mantuvieran durante todo el periodo de almacenamiento dentro de los límites legales, podría ser atribuido en parte al efecto protector del proceso de ahumado del pescado. En este sentido, Kristinsson *et al.* (2006) mostraron que los filetes de *mahi-mahi* tratados con humo permanecieron por debajo del límite establecido para

histamina por la FDA durante más tiempo que las muestras sin ahumar; este efecto fue tal que cuando las muestras sin ahumar sobrepasaron el límite de 50 ppm, las muestras tratadas presentaban una concentración de 10 ppm. En éste mismo estudio, se mostró que el humo filtrado afecta al desarrollo de la principal bacteria responsable de la producción de histamina, *Morganella morganii*. Es decir, que el tratamiento con humo filtrado no solo reduce la carga microbiana en el producto, sino que interfiere en la capacidad de las bacterias formadoras de histamina en producir el metabolito o incluso puede llegar a impedir su desarrollo.

El envasado a vacío y en atmósfera modificada no mostraron ningún tipo de efecto beneficioso sobre la producción de histamina.

Respecto al contenido en tiramina (figura V.12) se observó un importante incremento durante los primeros días de almacenamiento. Además, ésta fue la amina biógena que presentó mayores concentraciones durante todo el periodo de estudio, al igual que ha sido observado en otros estudios de almacenamiento de pescado (Pons-Sánchez-Cascado *et al.*, 2006a, b, c). La tiramina está comúnmente relacionada más con los procesos de fermentación que con el deterioro del alimento y es, en general, la amina mayoritaria en los productos fermentados. En este sentido, Riebroy *et al.* (2004) encontraron importantes concentraciones de esta amina en diferentes marcas de productos de la pesca fermentados, con valores que oscilaron entre 19,3 a 225 mg/Kg.

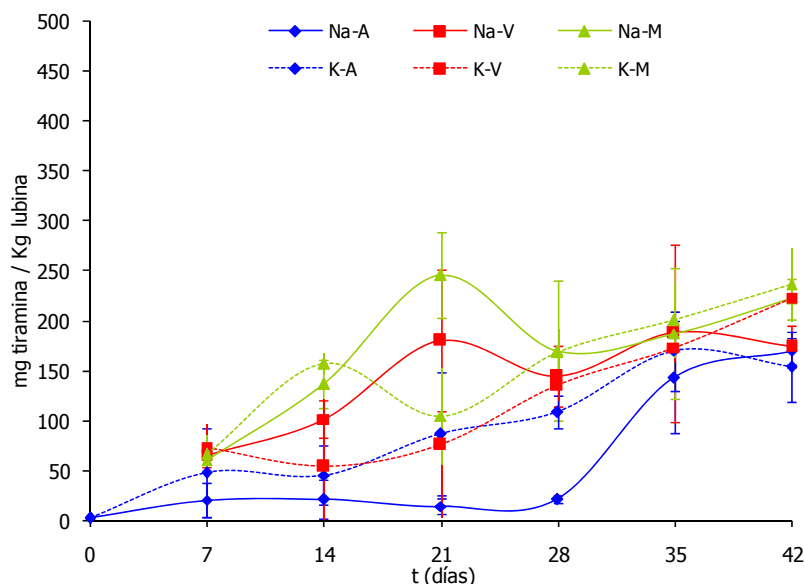


Figura V.12. Evolución del contenido en tiramina en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

Hay que destacar que, aunque no existen referencias bibliográficas que permitan relacionar el contenido de tiramina con el deterioro del pescado, se sabe que elevadas cantidades de esta amina están relacionadas con ciertos problemas toxicológicos; así, ingestas mayores de 100-125 mg de tiramina han sido relacionadas con la aparición de migrañas (Venciana-Nogués *et al.*, 1997).

Las muestras envasadas en aire presentaron valores de tiramina significativamente inferiores a los observados para las envasadas a vacío y atmósfera modificada ($p < 0,001$). Hay que destacar también que para un mismo tipo de envasado, las muestras saladas con 100% NaCl presentaron valores más bajos durante el periodo de almacenamiento en refrigeración, si bien estas diferencias no fueron, en general, estadísticamente significativas.

Los niveles de putrescina en las muestras de lubina ahumada aumentaron progresivamente durante el almacenamiento independientemente del tipo de sal y del tipo de envasado utilizado (figura V.13).

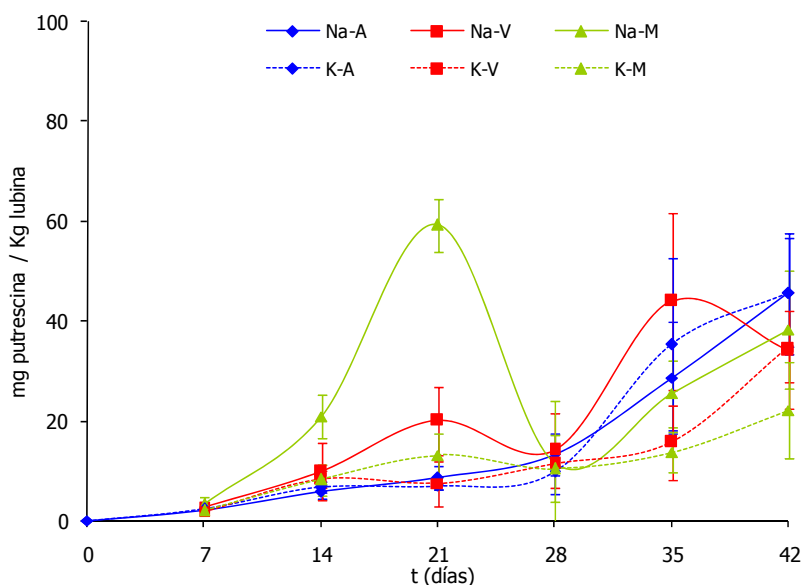


Figura V.13. Evolución del contenido en putrescina en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

En general, para un mismo tipo de sal no se observaron diferencias significativas en función del tipo de envasado. Sin embargo, el tipo de sal presentó efecto significativo sobre los niveles de putrescina, de forma que las muestras que habían sido saladas con la mezcla de sales 50% NaCl-50% KCl presentaron, a partir de la cuarta semana de almacenamiento, valores significativamente inferiores a los de las muestras saladas con 100% NaCl, al igual que fue observado en la evolución del contenido en histamina.

La evolución en el contenido de cadaverina de las muestras de lubina ahumada (figura V.14) fue similar a la descrita para la putrescina. La similitud

en el comportamiento de ambas aminas ha sido observado también en diferentes productos de la pesca, como sardinas marinadas (Gökoğlu, 2003; Gökoğlu *et al.*, 2003).

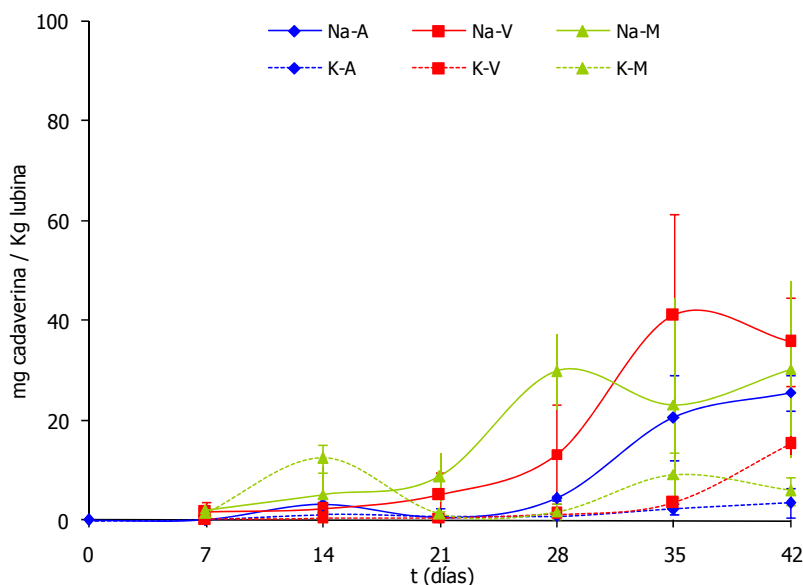


Figura V.14. Evolución del contenido en cadaverina en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

La espermidina y la espermina presentaron un comportamiento similar durante el almacenamiento (figuras V.4 y V.15 respectivamente), permaneciendo en niveles más o menos constantes a lo largo de todo el estudio. Este mismo comportamiento ha sido observado en otras especies de pescado, como sardina, dorada y salmonete (Shalaby, 1996). Está ampliamente aceptado que los niveles de espermidina y espermina se mantienen constantes o incluso tienden a descender durante el almacenamiento (Meitz y Karmas, 1977). Esta disminución es atribuible al hecho de que las poliaminas pueden ser utilizadas por los microorganismos como fuente de nitrógeno (Bardócz, 1995),

aunque también podría deberse a reacciones de desaminación (Halász *et al.*, 1994).

En general, no se observaron diferencias significativas en el contenido de ambas aminas en función del tipo de envasado ni del tipo de sal utilizada.

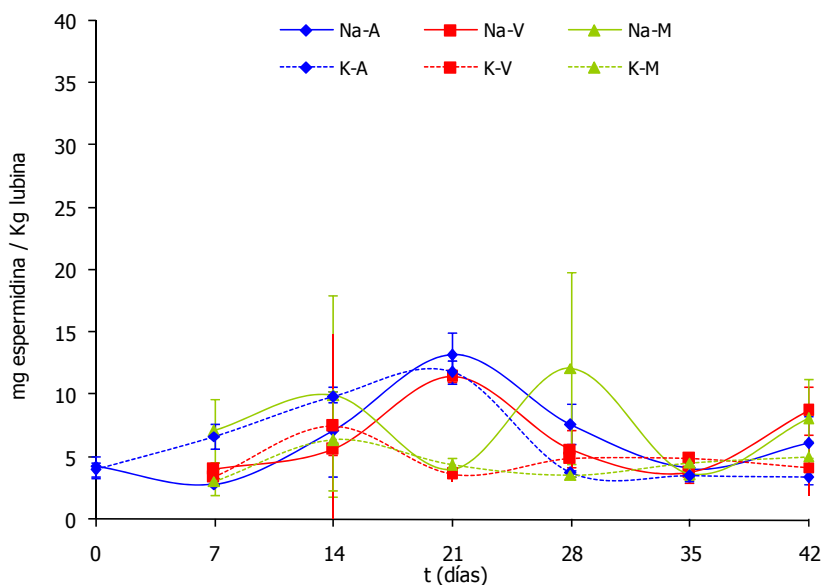


Figura V.15. Evolución del contenido en espermidina en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

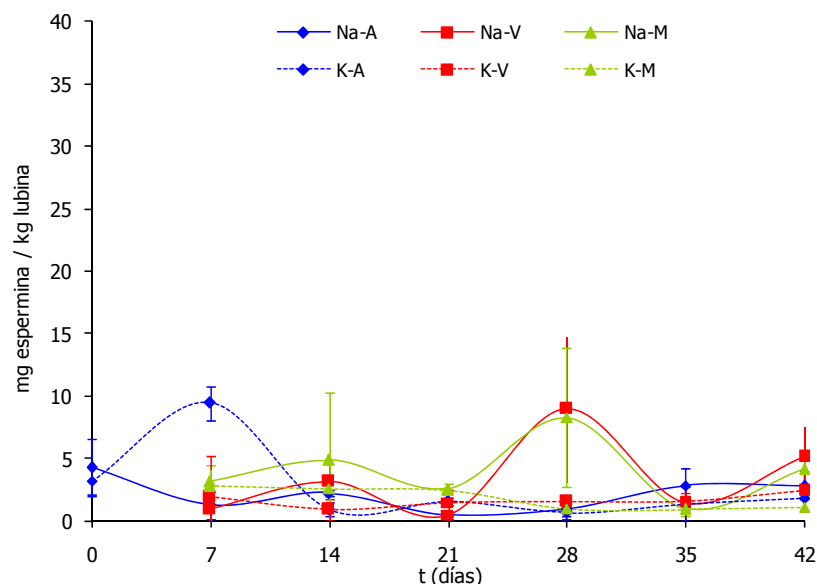


Figura V.16. Evolución del contenido en espermina en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

c) Coordinadas de color

En el estudio de la evolución del color de los filetes de lubina durante el almacenamiento, se estudiaron por las coordenadas de color L^* (luminosidad), a^* (desviación hacia el rojo y el verde) y b^* (desviación hacia el amarillo y el azul), las magnitudes psicofísicas de tono (h^*_{ab}) y croma (C^*_{ab}), así como las diferencias de color (ΔE) entre los filetes de lubina recién ahumados y los filetes almacenados en refrigeración.

El análisis estadístico realizado mostró que las muestras de pescado no presentaron diferencias significativas en los valores de luminosidad en función de la sal empleada ni del tipo de envasado. Los valores de L^* de todas las muestras fueron aumentando significativamente ($p < 0,001$) conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento independientemente del tipo de sal y

almacenamiento empleado (figura V.17). Este hecho podría estar relacionado con el descenso observado en los valores de CRA y el aumento en los valores de pH del músculo, lo que indicaría una mayor degradación de la estructura proteica que conforma el músculo de pescado, con la subsiguiente alteración de las propiedades físicas de la capa pericelular del músculo que, en condiciones normales supone una barrera física a la liberación de agua, tal y como se ha comentado anteriormente. Esta liberación del agua intramuscular podría ser, por tanto, la causa de la mayor luminosidad en la superficie del filete de lubina.

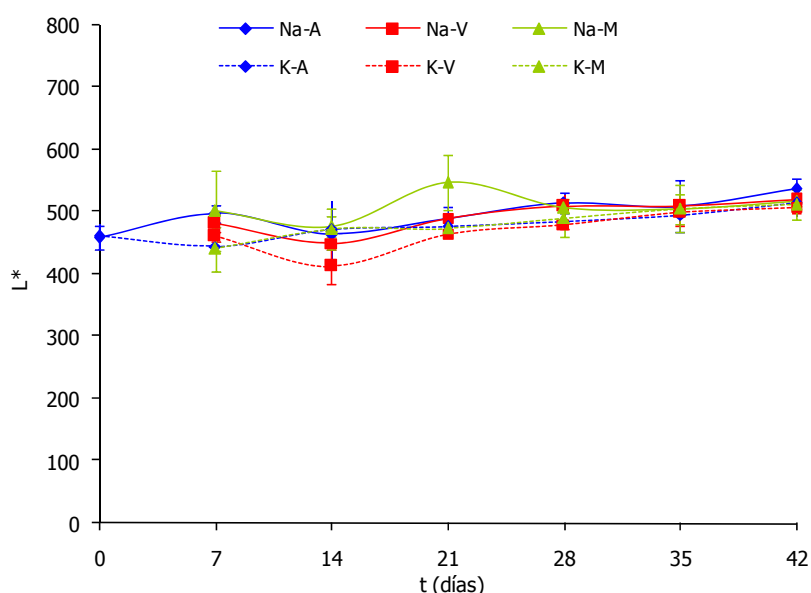


Figura V.17. Evolución de la luminosidad (L^*) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

La evolución de las coordenadas de color a^* , b^* , h_{ab}^* y C_{ab}^* en la lubina ahumada durante su almacenamiento en refrigeración se muestra en las figura V.18.

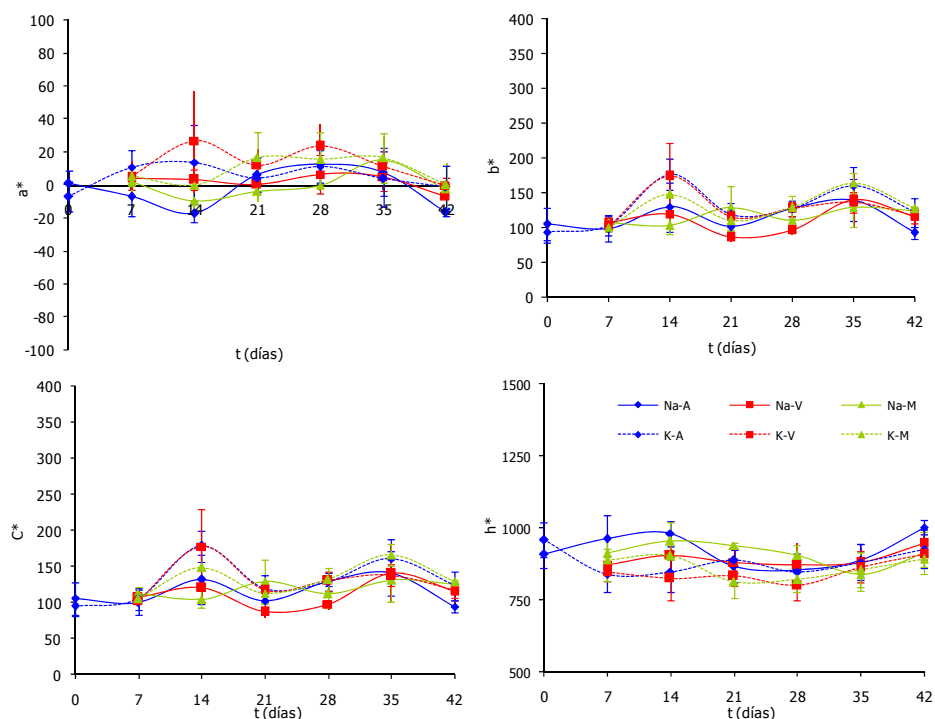


Figura V.18. Evolución de las coordenadas a^* , b^* , tono (h_{ab}^*) y croma (C_{ab}^*) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

El análisis estadístico de los resultados, mostró que no existían diferencias significativas para estas coordenadas de color en función del tipo de envasado, del tiempo de almacenamiento o del tipo de sal empleada. Las diferencias puntuales encontradas en algunos casos, entre los diferentes tipos de muestra, se deberían en mayor medida a la heterogeneidad propia de las muestras.

A partir de los resultados obtenidos se podría deducir que la sustitución parcial de cloruro sódico, el tipo de envasado y el tiempo de almacenamiento no afectaron al color de las muestras, que se mantuvo prácticamente constante

durante el periodo de estudio, tan sólo la luminosidad de los filetes se redujo significativamente durante el almacenamiento.

d) Propiedades mecánicas

La evolución de la dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad se muestra en la figura V.19.

Los valores de dureza, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad permanecieron prácticamente constantes durante el almacenamiento. No se encontraron diferencias significativas en función del tipo de sal, envasado o tiempo de almacenamiento, tan sólo en algunos casos, el análisis estadístico mostró algunas diferencias puntuales, las cuales podrían ser debidas más a la heterogeneidad propia de la materia prima, que al tipo de envasado. La ausencia de variaciones en valores de los parámetros mecánicos en muestras almacenadas a vacío o atmósfera modificada ha sido también observada en otros estudios de pescado (Peiró-Mena *et al.*, 2006).

Algunos autores han señalado que el proceso de ahumado incrementa la actividad de las proteasas endógenas, responsables del deterioro autolítico durante el almacenamiento. Estas enzimas hidrolizan diferentes proteínas del músculo y causan la rotura del tejido conectivo, provocando cambios indeseables en la textura del pescado (Hultmann *et al.*, 2004; Laksmanan *et al.*, 2003). Sin embargo, este efecto no se ha observado en este estudio, ya que en ningún caso, se vieron afectadas las propiedades mecánicas del producto durante su almacenamiento, lo que indicaría que el deterioro de las muestras, tanto por acción microbiana como por la acción de los enzimas autolíticos, no se ve reflejado en el deterioro de la textura.

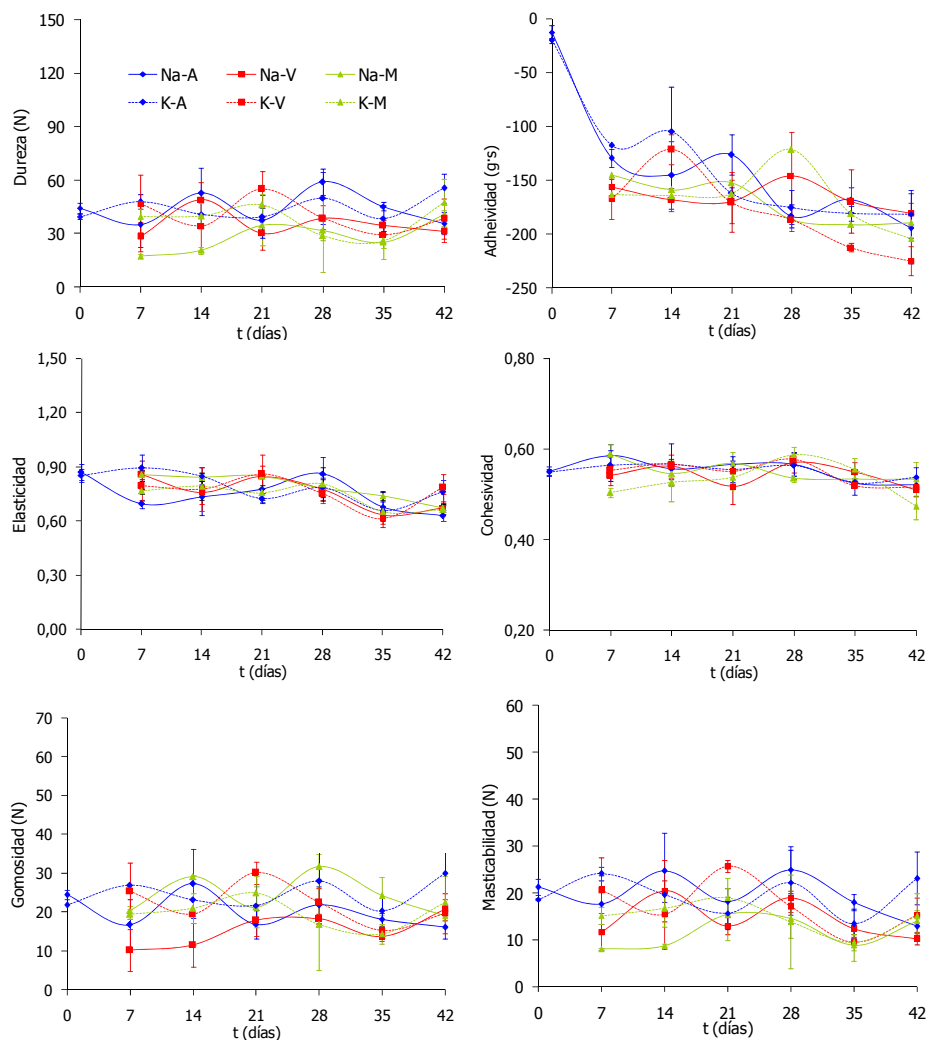


Figura V.19. Evolución de los parámetros mecánicos de dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad, gomosidad y masticabilidad en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

Respecto al ensayo de corte, hay que destacar que los valores de fuerza máxima (F_{max}) no mostraron una tendencia clara durante el periodo de

almacenamiento (figura V.20). En este sentido, la variabilidad observada a lo largo del almacenamiento podría ser atribuida a diferencias en la materia prima. El análisis estadístico de los resultados obtenidos mostró que la sustitución parcial de NaCl por KCl y el tipo de envasado no afectaron a los valores de F_{\max} .

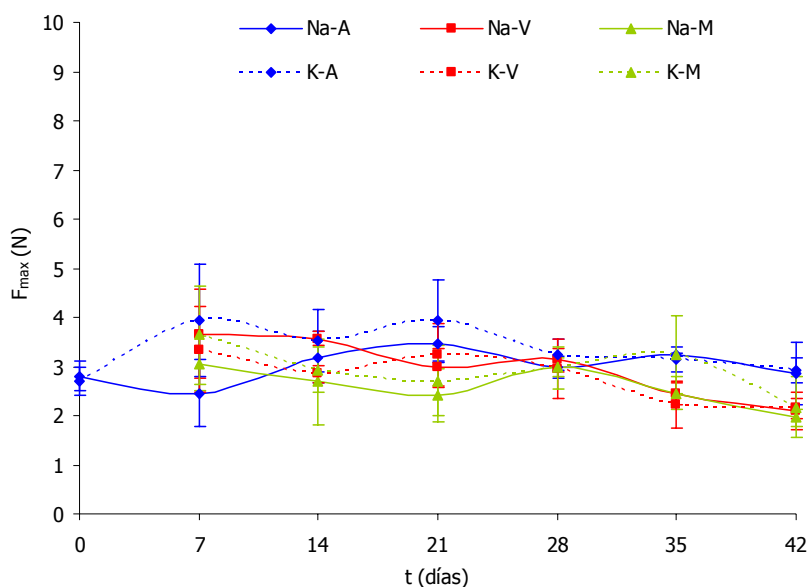


Figura V.20. Evolución de la fuerza máxima de corte (F_{\max}) en muestras de lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: muestras envasadas en aire; V: muestras envasadas a vacío; M: muestras envasadas en atmósfera modificada.

En general, puede concluirse que ni el tipo de sal empleada ni el tipo de envasado, afectaron a la textura del producto ahumado, el cual apenas sufrió cambios en su textura durante el tiempo de almacenamiento estudiado.

4.2.2. Evolución de la calidad microbiológica de la lubina ahumada durante el almacenamiento en refrigeración

a) Análisis individual del crecimiento microbiano

Para conocer la evolución de la calidad microbiológica de la lubina ahumada durante 42 días de almacenamiento a 4 °C y establecer el efecto del tipo de sal empleada durante el procesado, así como el efecto del tipo de envasado (aire, vacío y atmósfera modificada), se realizaron recuentos totales de microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras, enterobacterias, bacterias productoras de sulfhídrico (H₂S), *Clostridium* sulfito-reductores, *Salmonella* spp, *Streptococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*, tal y como ha sido descrito anteriormente.

En ninguna de las muestras analizadas, se aislaron colonias de *Clostridium* sulfito-reductores, *Salmonella*, *Streptococcus faecalis* ni *Staphylococcus aureus* durante todo el estudio de almacenamiento. Para pescados ahumados, la legislación española establece que debe haber ausencia de *Salmonella* y de *St. aureus* (MSC, 1991), por lo que, respecto a estos microorganismos, las muestras analizadas cumplían los requisitos legales durante todo el periodo de almacenamiento.

Del resto de los microorganismos estudiados sí que hubo crecimiento a lo largo del almacenamiento.

Para cuantificar la significación de las diferencias en el crecimiento microbiano debidas a la atmósfera de envasado, a la reducción del contenido de cloruro sódico y al tiempo de almacenamiento, se realizaron análisis estadísticos para cada uno de los microorganismos estudiados. Así, con los datos correspondientes a los recuentos de microorganismos mesófilos, mohos y levaduras, enterobacterias y bacterias productoras de sulfhídrico, se realizaron ANOVAs simples, considerando en cada caso como factores el tipo de envasado, el tipo de sal y el tiempo de almacenamiento. Los resultados de los ANOVAs no se muestran en el presente trabajo, pero sí son comentados a lo largo del mismo.

En las figuras V.21 a V.24 se muestra la evolución de los microorganismos mesófilos, mohos y levaduras, enterobacterias y bacterias productoras de sulfhídrico, en las muestras de lubina, durante 42 días de almacenamiento en refrigeración. En general, el mayor crecimiento microbiano para los 4 microorganismos, tuvo lugar en las muestras envasadas en aire, independientemente del tipo de sal empleada; sin embargo se observaron pocas diferencias entre las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada, las cuales presentaron recuentos muy próximos durante todo el periodo de estudio. Estos resultados coinciden con lo expuesto por otros autores, quienes establecieron que el envasado de productos pesqueros bajo atmósferas modificadas aumenta la vida útil comparado con los envasados en aire, pero confiere un pequeño o nulo incremento en la vida útil cuando se compara con el envasado a vacío (Fernández-Segovia *et al.*, 2007; Sivertsvik *et al.*, 2002).

La evolución de mesófilos durante se muestra en la figura V.21. Diversos autores han establecido diferentes límites de microorganismos mesófilos que indican el deterioro de pescado ahumado; así por ejemplo, Sernapesca (1996) (citado por Dondero *et al.*, 2004) establece el límite entre 10^5 y 5×10^5 ufc/g, mientras que la directriz establecida para salmón ahumado por la ICMSF (Dodds *et al.*, 1992) basada en el recuento de colonias aerobias, indican la aceptabilidad del producto por encima de 10^7 ufc/g. Sin embargo, algunos autores (Truelstrup Hansen *et al.*, 1995) encontraron que el salmón ahumado en frío con elevados recuentos de microorganismos (10^8 ufc/g), no siempre mostraba signos de deterioro, no siendo rechazados en la evaluación sensorial. A pesar de esta gran variabilidad entre los distintos estudios, en el presente trabajo, se ha considerado el valor de 10^6 ufc/g de microorganismos mesófilos, por ser el límite establecido por la legislación española para pescados ahumados (MSC, 1991).

Teniendo en cuenta este límite, podría establecerse que las muestras de lubina ahumada envasadas en aire y almacenadas en refrigeración presentaron

un periodo de vida útil de alrededor a un mes (figura V.21), mientras que la lubina ahumada envasada a vacío o en atmósfera modificada, presentó niveles de mesófilos por debajo de los 6 ciclos logarítmicos hasta los 42 días de estudio, aunque al final del almacenamiento los recuentos microbiológicos se situaron muy cercanos al límite legal. El hecho de que los recuentos de mesófilos fuesen mayores en el envasado en aire y menores en atmósfera modificada, pero con pocas diferencias entre este último y el envasado a vacío, coincide con los resultados obtenidos por Özogul *et al.* (2004), que encontraron que los recuentos de viables totales aumentaban más rápidamente en sardinas almacenadas en aire, seguidas de las almacenadas a vacío mientras que los recuentos más bajos se producían en el envasado en atmósfera modificada, estableciendo el límite de aceptabilidad (según estos recuentos) en 3 días para sardinas almacenadas en aire, 8 días para sardinas envasadas a vacío y 10 días para las envasadas en atmósfera modificada.

Solo hubo diferencias puntuales en el comportamiento de mesófilos según el tipo de sal empleada, tal y como se observó en los resultados del análisis estadístico.

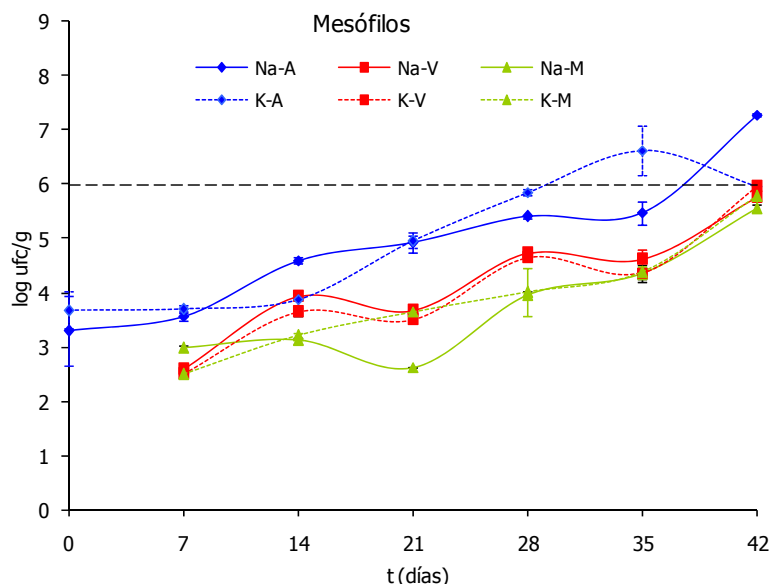


Figura V.21. Evolución de mesófilos en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el límite máximo establecido por la legislación.

Respecto al crecimiento de mohos y levaduras, tal y como se observa en la figura V.22, las muestras envasadas en aire presentaron recuentos superiores a las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada, especialmente al inicio del estudio. Sin embargo, estas diferencias iniciales fueron reduciéndose a lo largo del periodo de almacenamiento, alcanzando todas las muestras valores muy próximos al final del periodo de conservación. Algunos autores han destacado la escasa contribución de los mohos y levaduras en el deterioro de los pescados ahumados (Truelstrup Hansen *et al.*, 1996), lo que explicaría que durante el almacenamiento no hubiera un crecimiento importante de estos microorganismos en ninguna de las muestras, al contrario de lo que se observó en mesófilos y especialmente en enterobacterias y bacterias productoras de H_2S .

Nuevamente se observa que la sustitución parcial de NaCl por KCl no provocó ningún cambio notable en la evolución de mohos y levaduras.

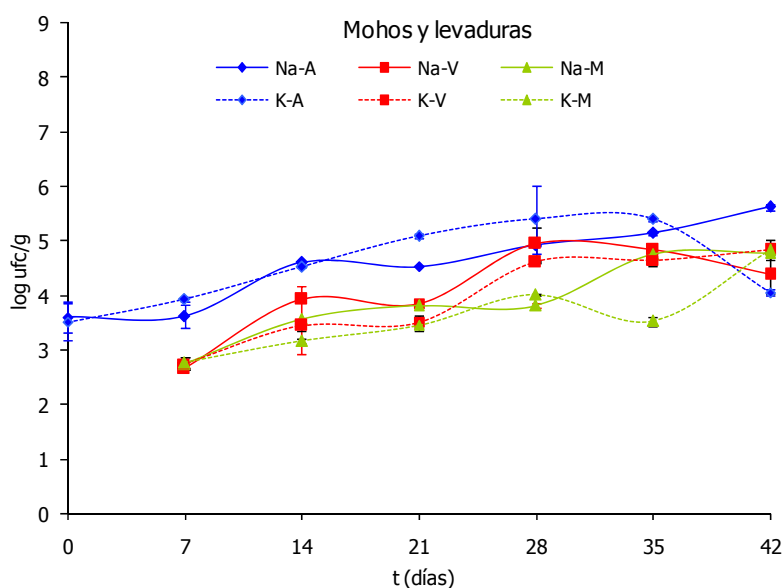


Figura V.22. Evolución de mohos y levaduras en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

En general, los recuentos de enterobacterias (figura V.23), fueron inferiores al resto de microorganismos aislados en este trabajo, lo que ha sido observado anteriormente en otros estudios de conservación de pescado fresco (Chytiri *et al.*, 2004; Gennari *et al.*, 1999; Koutsoumanis *et al.*, 1999, Koutsoumanis y Nychas, 1999; Tejada y Huidiboro, 2002).

Los recuentos de enterobacterias aumentaron rápidamente del día 0 (muestras recién ahumadas) al día 7 de almacenamiento. Los recuentos obtenidos en las muestras envasadas en aire permanecieron por debajo del límite (3 log ufc/g) establecido en la legislación (MSC, 1991) hasta el día 21 de

almacenamiento, mientras que en las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada el límite no se superó hasta el día 35 (con la excepción de la muestra salada con 100% NaCl envasada a vacío). Por ello, el tiempo en el que el producto es apto para el consumo vendría limitado por el crecimiento de enterobacterias y no por el crecimiento de mesófilos, cuyo límite no fue superado hasta el final del periodo de almacenamiento.

Con respecto al efecto de la sustitución parcial de sodio por potasio, no se observaron prácticamente diferencias en el crecimiento de enterobacterias entre las muestras saladas con 100% NaCl y las saladas con la mezcla de sales, excepto en el caso del envasado a vacío, donde se observaron menores recuentos en las muestras con sustitución parcial de cloruro sódico, durante todo el periodo de estudio.

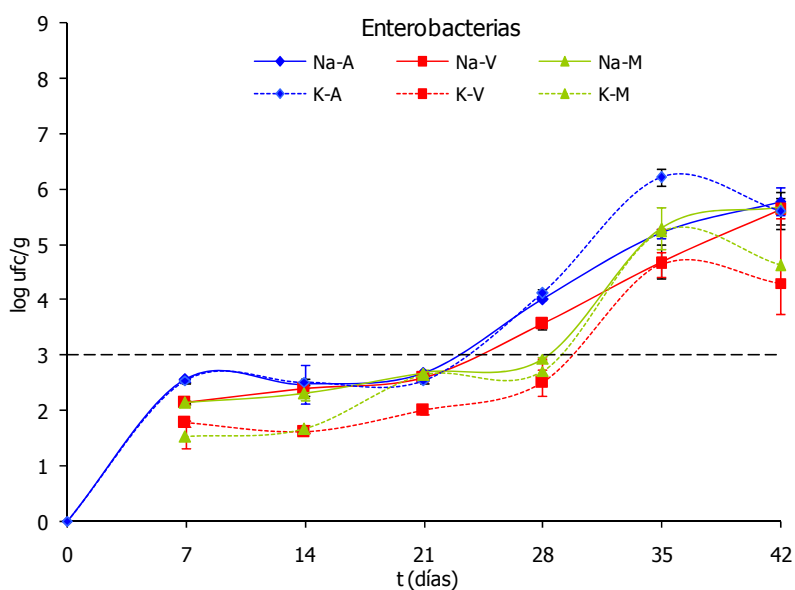


Figura V.23. Evolución de enterobacterias en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada. La línea horizontal indica el límite máximo establecido por la legislación.

La evolución del crecimiento de bacterias productoras de sulfhídrico durante el periodo de estudio se muestra en la figura V.24, donde se observa que no hubo crecimiento hasta el día 14 de almacenamiento para todas las muestras. Los recuentos en las muestras saladas con 100% NaCl fueron superiores a los obtenidos en las muestras con bajo contenido en sodio, dentro de un mismo tipo de envasado, excepto a día 42, donde los recuentos en las muestras envasadas en aire fueron similares para los dos tipos de sal empleada, y en las muestras envasadas a vacío y en atmósfera modificada los niveles de estos microorganismos fueron similares, independientemente del tipo de sal utilizada.

Los niveles de bacterias productoras de H₂S fueron elevados al final del almacenamiento, especialmente en las muestras envasadas en aire. Las bacterias pertenecientes a este grupo, especialmente *Shewanella putrefaciens*, han sido identificadas como las principales bacterias responsables del deterioro del pescado almacenado en hielo o en refrigeración (Gram *et al.*, 1989; Dalgaard *et al.*, 1993) estableciendo algunos autores (Capell *et al.*, 1997, citado por Dalgaard *et al.*, 1993) han establecido que los recuentos de bacterias productoras de H₂S se asocian más íntimamente con el rechazo sensorial del pescado que los recuentos de viables totales. Además, este grupo de bacterias junto a las del género *Pseudomonas*, han sido estudiadas por su importante contribución al deterioro de pescado procedente de aguas templadas y tropicales (Gram y Melchiorson, 1996), así como de pescado procedente del Mediterráneo almacenado aeróbicamente (Koutsoumanis y Nychas, 1999), en refrigeración o en hielo (Gennari *et al.*, 1999).

Aunque no existe límite legal para bacterias productoras de H₂S, diferentes autores han relacionado los niveles de este microorganismo con el deterioro sensorial del pescado. Así por ejemplo, para lubina fresca almacenada en refrigeración se detectaron recuentos de $4,5 \times 10^4$ ufc/g cuando el pescado no era aceptable sensorialmente; sin embargo, esta relación no está claramente establecida, ya que otros microorganismos además de *Shewanella putrefaciens*,

que no fueron identificados, podrían estar implicados en el deterioro de la lubina (Kyrana y Lougovois, 2002). Estos límites además serían diferentes en función de si se trata de pescado fresco o productos derivados. Debido a que el producto empleado en nuestro estudio es un pescado procesado, el límite anteriormente citado para pescado fresco no sería aplicable, si bien sería un indicativo para poder establecer que los recuentos de este tipo de microorganismos fueron altos, especialmente a partir del mes de almacenamiento.

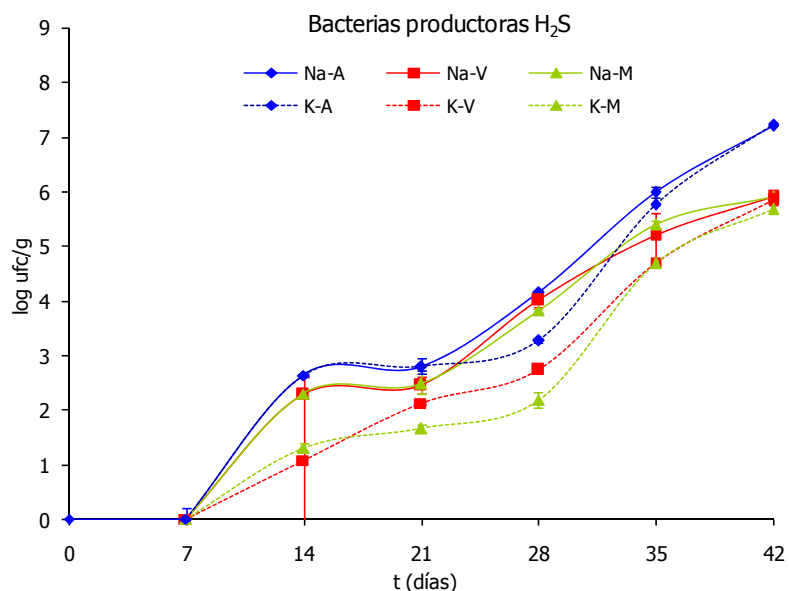


Figura V.24. Evolución de bacterias productoras de sulfhídrico (H_2S) en lubina ahumada. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; A: envasado en aire; V: envasado a vacío; M: envasado en atmósfera modificada.

b) Análisis global del crecimiento microbiano

Con el objeto de evaluar el efecto global de los diferentes tipos de envasado, así como del tiempo de almacenamiento, considerando de forma conjunta el crecimiento de los 4 microorganismos estudiados, se realizó un

análisis discriminante para estos 2 factores (envasado y tiempo de almacenamiento), tomando como variables los log ufc/g de los 4 microorganismos que presentaron crecimiento a lo largo del estudio. No se realizó un análisis discriminante tomando como factor el tipo de sal porque los ANOVAs simples comentados en el apartado anterior, mostraron que este factor no tenía un efecto significativo sobre el crecimiento microbiano.

b.1. Factor envasado

El análisis realizado permitió obtener 2 funciones discriminantes que explicaron el 100% de la variabilidad de los datos (F1 el 98,39% y F2 el 1,61%). Los estadísticos de estas funciones se muestran en la tabla V.8.

Tabla V.8. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura V.25.

Función	Valor propio	% varianza	Correlación canónica	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado	GL	P
F1	0,652973	98,39	0,62851	0,598559	40,8018	8	0,0000
F2	0,010712	1,61	0,10295	0,989401	0,8471	3	0,8382

La contribución relativa de cada variable a la formación de ambas funciones se muestra a través de los coeficientes estandarizados (tabla V.9). La variable con más peso en la primera función fue el recuento de mesófilos.

Tabla V.9. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes representadas en la figura V.25.

Microorganismo	F1	F2
Mesófilos	1,34198	0,568961
Mohos y levaduras	0,864579	0,473683
Enterobacterias	0,352295	1,34868
Bacterias productoras H ₂ S	0,887573	-0,725531

Porcentaje de casos clasificados correctamente: 55,95%

La figura V.25 muestra la representación de las dos funciones discriminantes, donde se ubican los 3 tipos de envasado (aire, vacío y atmósfera modificada). Se puede observar que, según la función F1, el envasado en aire se encuentra ligeramente separado de los dos envasados con reducción de oxígeno, mientras que hay una agrupación de estos dos últimos. Esto demuestra que la evolución de la calidad microbiológica de la lubina ahumada fue diferente cuando fue envasada en aire, mientras que no hubo diferencias entre el envasado a vacío y en atmósfera modificada, tal y como se ha observado en el estudio de cada microorganismo por separado.

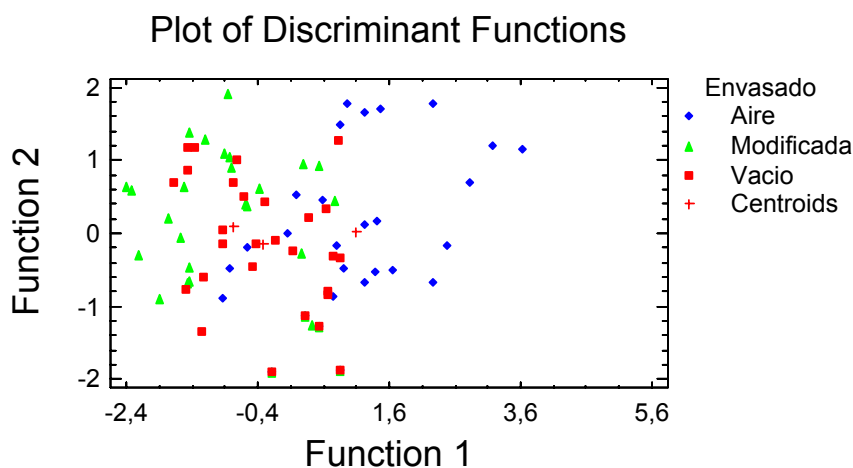


Figura V.25. Representación de las dos funciones discriminantes para las muestras envasadas en aire, vacío y atmósfera modificada.

b.2. Factor tiempo de almacenamiento

El análisis realizado permitió obtener 4 funciones discriminantes, las dos primeras (F1 y F2) explicaron el 98,18% de la variabilidad de los datos (la primera el 86,67% y la segunda el 11,51%). Los estadísticos de estas funciones se muestran en la tabla V.10.

Tabla V.10. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura V.26.

Función	Valor propio	% varianza	Correlación canónica	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado	GL	P
F1	22,8413	86,67	0,97880	0,006846	386,2672	24	0,0000
F2	3,03272	11,51	0,86720	0,163217	140,48210	15	0,0000

La contribución relativa de cada variable a la formación de ambas funciones se muestra a través de los coeficientes estandarizados (tabla V.11). Las variables con más peso en ambas funciones fueron las enterobacterias y las bacterias productoras de H₂S, lo que coincide con los resultados observados en el estudio individual comentado en el apartado anterior, donde se vio que el mayor crecimiento en el tiempo lo experimentaron estos dos grupos de microorganismos.

Tabla V.11. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes representadas en la figura V.26.

Microorganismo	F1	F2
Mesófilos	-0,0552209	0,288861
Mohos y levaduras	-0,425741	0,355858
Enterobacterias	0,646555	-1,00451
Bacterias productoras H ₂ S	0,691385	0,807279

Porcentaje de casos clasificados correctamente: 79,76%

La figura V.26 muestra la representación de las dos primeras funciones discriminantes, donde se ubican los 7 tiempos de almacenamiento estudiados. Se puede observar una clara separación, según ambas funciones, del tiempo 0 (muestras recién ahumadas) de los restantes. Los demás tiempos de almacenamiento se van alejando progresivamente conforme avanza el tiempo de almacenamiento; así, el día 7 de almacenamiento es el que aparece más

cercano al 0 (según la F1) y éste también se encuentra bien separado del resto; a continuación se sitúan los tiempos 14 y 21, y un poco más separado el 28. Por último se sitúan los tiempos 35 y 42. Estos resultados reflejan que hubo una evolución de la calidad microbiológica de las muestras a lo largo del almacenamiento, tal y como se ha comentado en el apartado anterior (en general recuentos bajos al principio del almacenamiento, especialmente a día 0 y 7, aumento progresivo hasta día 21 y 28, y los mayores recuentos se encontraron a día 35 a 42).

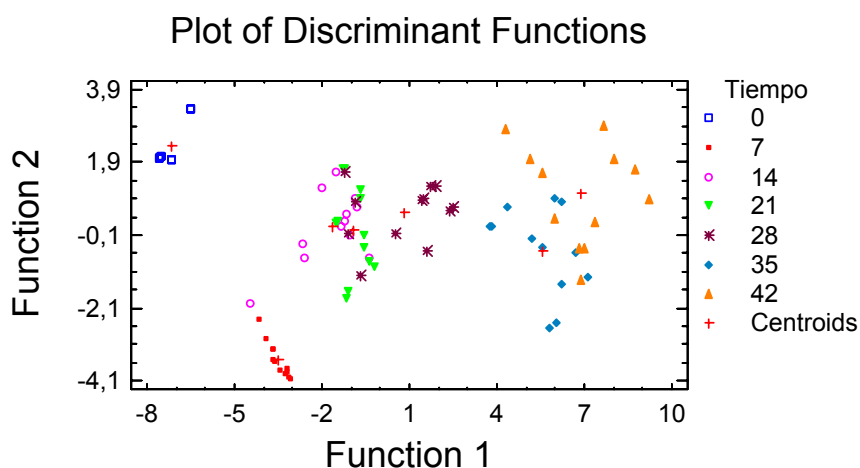


Figura V.26. Representación de las dos funciones discriminantes para los tiempos de almacenamiento.

A partir de los resultados comentados en los dos apartados anteriores, se puede concluir que durante el almacenamiento en refrigeración, la utilización del envasado a vacío o la atmósfera modificada permitiría aumentar la vida útil desde el punto de vista microbiológico, ya que las muestras envasadas en aire, independientemente del tipo de sal empleada, fueron las primeras en superar los límites establecidos por la legislación, para microorganismos aerobios mesófilos y enterobacterias (10^6 y 10^3 ufc/g, respectivamente), además de

presentar los recuentos más altos de mohos y levaduras, y bacterias productoras de H₂S.

En general, no se han observado diferencias entre las sales empleadas, dentro de un mismo tipo de envasado, lo que nos indicaría que la reducción parcial del contenido de cloruro sódico en este tipo de producto, no tiene ningún efecto sobre la calidad microbiológica de la lubina ahumada.

La vida útil de este producto desde el punto de vista microbiológico vendría fijada en 21 días para la lubina ahumada envasada en aire y en 28 días para la envasada a vacío y en atmósfera modificada, tiempo demasiado limitado para poder comercializar este producto.

4.2.3. Evolución de la calidad sensorial de la lubina ahumada durante el almacenamiento en refrigeración

a) Análisis individual de los atributos sensoriales

Para el estudio de la evolución de la calidad sensorial de las muestras de lubina ahumada con y sin sustitución parcial de cloruro sódico, se evaluaron en cada una de las sesiones, muestras de lubina ahumada salada con 100% NaCl y muestras de lubina ahumada saladas con 50% NaCl-50% KCl, ambas, recién procesadas (día 0) y las mismas muestras envasadas a vacío, a los 14 y 28 días de almacenamiento. En este estudio solo se incluyó el envasado a vacío porque, tal y como se ha comentado en los apartados anteriores, aumenta la vida útil cuando se compara con el envasado en aire. No se incluyó el envasado en atmósfera modificada porque se vio un comportamiento microbiano similar al envasado en vacío, y éste último permite reducir costes cuando se compara con la atmósfera modificada.

Los valores promedio de las puntuaciones que los catadores dieron a cada uno de los atributos sensoriales evaluados para las diferentes muestras, se han representado en el diagrama radial que se muestra en la figura V.27. Con el objetivo de estudiar la existencia de diferencias entre los diferentes tipos de

muestra, se realizaron diferentes ANOVAs simples para cada uno de los atributos sensoriales evaluados, considerando en cada caso como factores el tiempo de almacenamiento y el tipo de sal de utilizada (datos no mostrados).

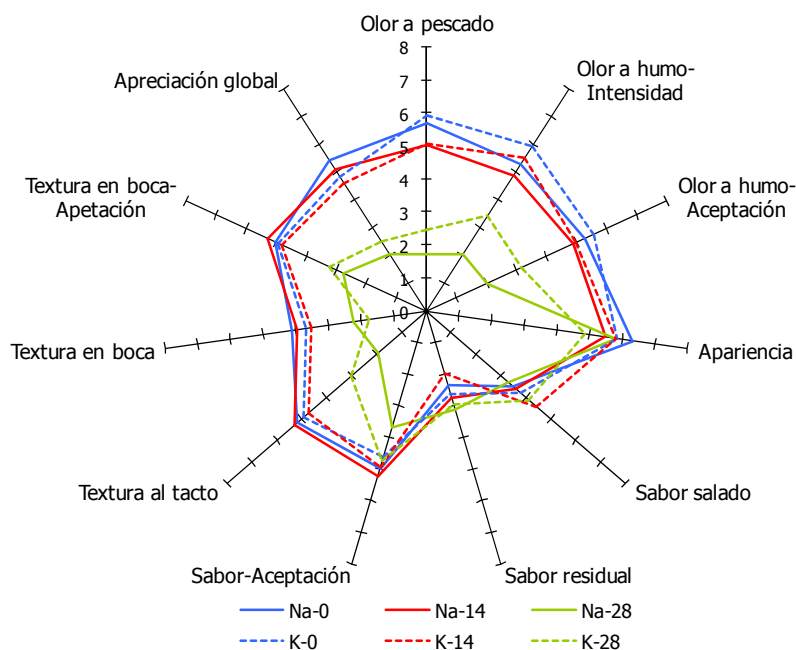


Figura V.27. Representación de la media de las puntuaciones dadas por los catadores, para los distintos atributos evaluados en muestras de lubina ahumada envasada a vacío. Na: muestras saladas con 100% NaCl; K: muestras saladas con 50% NaCl-50% KCl; 0, 14 y 28 indican los días de almacenamiento en refrigeración.

En general, no se observaron diferencias significativas para ninguno de los atributos evaluados en función del tipo de sal empleada, por lo que podría considerarse que la sustitución parcial de NaCl por KCl no tuvo implicaciones en los atributos sensoriales evaluados, tal y como había sido establecido por los catadores no entrenados (capítulo IV.4, apartado 4.3). Para todos los atributos evaluados, las puntuaciones más altas se recibieron para día 0 de

almacenamiento, independientemente del tipo de sal empleada, aunque no hubo diferencias significativas entre día 0 y día 14. Sin embargo, las puntuaciones dadas por los jueces a día 28 fueron significativamente menores, excepto para algunos atributos (apariencia, sabor salado, sabor residual y sabor-aceptación), en los que no hubo diferencias significativas entre los 3 tiempos de almacenamiento estudiados. En general, la valoración global de las muestras a los 28 días de almacenamiento fue especialmente baja, pudiéndose establecer, que el panel de catadores no consideró aceptable la calidad de ambos tipos de muestra (lubina ahumada salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl) a los 28 días de almacenamiento en refrigeración. Esta conclusión se basa en el hecho de que la escala de valoración era de 8 puntos y, en la mayoría de los atributos, no se llegó ni a la puntuación media de 4 que sería el mínimo valor aceptable para los atributos en los que la escala era hedónica (apariencia, olor a pescado, olor a humo-aceptación, sabor-aceptación, textura en boca-aceptación y apreciación global).

b) Análisis global de la calidad sensorial

Con el objeto de evaluar el efecto global de los diferentes tiempos de almacenamiento, se realizó un análisis discriminante para este factor, considerando de forma conjunta todos los atributos evaluados, , tomando como variables las puntuaciones de todos los atributos considerados en la evaluación sensorial. No se realizó un análisis discriminante tomando como factor el tipo de sal porque en los ANOVAs simples, se vio que este factor no afectaba prácticamente a las puntuaciones dadas por los catadores.

El análisis realizado permitió obtener 2 funciones discriminantes que explicaron el 100% de la variabilidad de los datos (F1 el 96,90% y F2 el 3,10%). Los estadísticos de estas funciones se muestran en la tabla V12.

Tabla V.12. Estadísticos de las funciones discriminantes representadas en la figura V.28.

Función	Valor propio	% varianza	Correlación canónica	Lambda de Wilks	Chi-cuadrado	GL	P
F1	5,49902	96,90	0,91985	0,13085	81,3481	22	0,0000
F2	0,175919	3,10	0,38678	0,850399	6,4820	10	0,7733

La contribución relativa de cada variable a la formación de ambas funciones se muestra a través de los coeficientes estandarizados (tabla V.13). La variable con más peso en la primera función fue "olor a pescado", seguida de "textura en boca". Sin embargo, el efecto del tiempo de almacenamiento sobre la textura del producto no se vio reflejado en el estudio instrumental de las propiedades mecánicas de la lubina ahumada, tal y como se comentó anteriormente (apartado 4.2.1).

Tabla V.13. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes representadas en la figura V.28.

Atributo	F1	F2
Apariencia	0,0270408	-0,615031
Olor a pescado	1,01639	-0,633773
Olor a humo-Intensidad	0,158669	-0,264543
Olor a humo-Aceptación	-0,165425	-0,0183292
Sabor salado	-0,334165	0,0646716
Sabor residual	0,560226	0,165735
Sabor-Aceptación	0,20585	0,859813
Textura al tacto	0,177347	0,000999
Textura en boca	0,745184	-0,226234
Textura en boca-Aceptación	-0,204733	0,100495
Apreciación global	0,0969059	0,396652

La figura V.28 muestra la representación de las dos funciones discriminantes, en donde se ubican los 3 tiempos de almacenamiento estudiados. Se puede observar que hay una agrupación de los tiempos 0 y 14, mientras que el tiempo aparece claramente separado. Estos resultados confirmarían que los catadores no percibieron diferencias significativas en la calidad sensorial de las muestras de lubina recién ahumada y las almacenadas durante 14 días; sin embargo percibieron diferencias en las características organolépticas de las muestras almacenadas durante 28 días, las cuales fueron peor valoradas, como se ha comentado anteriormente.

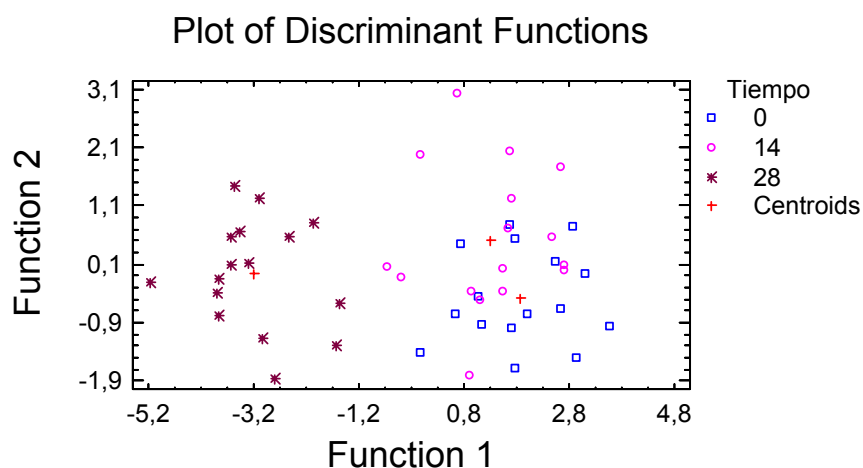


Figura V.28. Representación de las dos funciones discriminantes para los tiempos de almacenamiento.

A partir de los resultados comentados en estos dos apartados anteriores, se puede concluir que la sustitución parcial del 50% de NaCl por KCl no provocó cambios perceptibles en la calidad sensorial de la muestra recién ahumada, ni tampoco cuando se envasó a vacío y se almacenó durante 28 días en refrigeración.

Según los resultados obtenidos en este estudio sensorial, la vida útil de la lubina ahumada (con 100% NaCl o con 50% NaCl-50% KCl), envasada a vacío

sería inferior a 28 días, ya que los jueces percibieron una clara pérdida de calidad sensorial a día 28 de almacenamiento.

5. CONCLUSIONES

El proceso de ahumado provoca cambios en los parámetros fisico-químicos, color y textura del pescado. Las etapas de salado y secado conllevan una reducción en los valores de humedad, a_w y pH, así como un ligero aumento en los valores de N-BVT, N-TMA, TBA y contenido en histamina, tiramina, espermidina y espermina. Los parámetros mecánicos evaluados experimentaron cierto aumento, lo que se traduce en una textura más firme y compacta del producto ahumado. La aplicación del humo líquido es la responsable de los cambios observados en el color.

El ahumado consiguió reducir la carga microbiana de mesófilos, enterobacterias y bacterias productoras de H_2S .

La sustitución del 50% de NaCl por KCl no presenta ningún efecto sobre la calidad fisico-química, microbiológica y sensorial del producto recién procesado, ni tampoco durante su almacenamiento en refrigeración. Sin embargo, esta sustitución provocó una menor formación de histamina, no afectando a la formación del resto de aminas biógenas

La lubina ahumada envasada a vacío y en atmósfera modificada mostró una mayor estabilidad en los valores de pH, CRA, N-BVT, N-TMA durante su almacenamiento en refrigeración, no observándose diferencias entre los tres tipos de envasado respecto al resto de propiedades fisico-químicas, oxidación lipídica, formación de aminas biógenas, color y textura.

La utilización del envasado a vacío o la atmósfera modificada permite aumentar la vida útil de lubina ahumada en aproximadamente 7 días, con respecto al envasado en aire. El comportamiento microbiano de este producto ha sido muy similar en estos dos tipos de envasado.

La vida útil de lubina ahumada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl desde el punto de vista microbiológico vendría fijada en 21 días para la lubina ahumada envasada en aire y en 28 días para la envasada a vacío y en atmósfera modificada. Sin embargo, desde el punto de vista sensorial, estos tiempos serían inferiores, ya que la lubina ahumada envasada a vacío, presenta una pérdida de calidad sensorial perceptible a los 28 días de almacenamiento.

VI. CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES

la lubina procedente de piscifactoría es una buena alternativa a la de pesa extractiva por su excelente valor nutricional y su bajo coste. Debido a la alta influencia de la dieta en la composición del pescado, se podría modificar la composición de los piensos para aumentar el contenido en compuestos beneficiosos para la salud como los PUFA ω -3. Todo ello hace que la lubina de crianza sea especialmente atractiva tanto para su consumo en fresco como para su utilización en la elaboración industrial de productos derivados de ella.

En los productos ahumados y marinados comerciales, la variabilidad encontrada respecto al contenido en cloruro sódico y en los valores de a_w afectaría de forma importante a la conservación del producto, modificándose por tanto el periodo de vida útil. Es por ello, que el hecho de estandarizar los parámetros característicos de cada producto permitiría satisfacer las expectativas de los consumidores, quienes esperan que la calidad sensorial del producto se mantengan en compras sucesivas.

La piel de la lubina supone una barrera a la ganancia de sal y pérdida de agua durante el proceso de salado. El salado de piezas de lubina con una mayor superficie por el lado de la carne sería interesante para la industria, ya que estas condiciones conllevan un mayor rendimiento del proceso y una reducción del tiempo de salado, lo que contribuiría a aumentar el margen de beneficios en la industria.

Con el salado con control termodinámico es posible obtener productos más homogéneos, especialmente respecto a su contenido en sal, mejorando el control de aquellos aspectos relacionados con la seguridad del producto y atributos sensoriales. Además, la necesidad de una menor cantidad de sal, es otra de las ventajas de este procedimiento de salado.

El empleo de diferentes sales de distinta composición al color de las muestras de forma significativa, ya que las diferencias observadas fueran

Conclusiones

consecuencia de la heterogeneidad de color en la materia prima, así como del propio proceso de salado.

El estudio de sustitución parcial de cloruro sódico por cloruro potásico realizado permitió fijar tanto la concentración de sal en el producto final como el nivel de cloruro sódico que era posible reemplazar por cloruro potásico, con el objetivo de obtener un producto de lubina ahumada con bajo contenido en sodio.

La reducción parcial del cloruro sódico por cloruro potásico no afectó en general a las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del producto ahumado. La vida útil de lubina ahumada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl desde el punto de vista microbiológico vendría fijada en 21 días para la lubina ahumada envasada en aire y en 28 días para la envasada a vacío y en atmósfera modificada. Sin embargo, desde el punto de vista sensorial, estos tiempos serían inferiores, ya que la lubina ahumada envasada a vacío, presenta una pérdida de calidad sensorial perceptible a los 28 días de almacenamiento.

VII. BIBLIOGRAFÍA

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Ababouch, L.H., Soubri, L., Rhaliby, K., Ouahdi, O., Battal, M., Busta, F.F. (1996). Quality changes in sardine (*Sardina pilchardus*) stored in ice and at ambient temperature. *Food Microbiology*, 13, 123-132.
- Ackman, R.G. (1989). Nutritional composition of fats in seafoods. *Progress in Food and Nutrition Science*, 13, 161-241.
- AENOR (1995). Norma UNE 87-024-1. Análisis sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces. Parte 1: Catadores.
- AENOR (2003). Norma UNE EN-ISO 4833. Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30 °C (ISO 4833:2003). Ed. AENOR, Madrid.
- AENOR (2004). Norma UNE EN-ISO 6887-3 Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para el examen microbiológico. Parte 3: Reglas específicas para la preparación de pescados y productos de la pesca. Ed. AENOR, Madrid
- Alasalvar, C., Taylor, K.D.A., Öksüz, A., Garthwaite, T., Alexis, M.N., Grigorakis, K. (2001). Freshness assessment of cultured sea bream (*Sparus aurata*) by chemical, physical and sensory methods. *Food Chemistry* 72, 33-44.
- Alasalvar, C., Taylor, K. D. A., Zubcov, E., Shahidi, E., Alexis, M. (2002). Differentiation of cultured and wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*): total lipid content, fatty acid and trace mineral composition. *Food Chemistry* 79, 145-150.
- American Heart Association, 2002. Fish oil and omega-3 fatty acids. <http://www.americanheart.org> (20/03/2003)
- Amerio, M., Ruggi, C. Badini, C. (1996). Meat quality of reared fish: nutritional aspects. *Italian Journal Food Science* 3, 229-229.

- Andersen, U.B., Stømsnes, A.N., Thomassen, M.S., Steinsholt, K. (1994). Fillet gaping in farmed Atlantic salmon. *Norwegian Journal Agricultural Science* 8, 165-179.
- Andersen, U.B., Thomassen, M.S., Røra, A.M.B. (1997). Texture properties of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Effects of the diet, muscle fat content and time of storage on ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74, 347-353.
- Andrés, A., Rodríguez-Barona, S, Barat, J. M., Fito, P. (2005a). Salted cod manufacturing: influence of salting procedure on process yield and product characteristics. *Journal of Food Engineering* 69(4), 467-471.
- Andrés, A., Rodríguez-Barona, S., Barat, J. M. (2005b). Analysis of some cod-desalting process variables. *Journal of Food Engineering* 70, 67-72.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists) (1997). Official Methods of Analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical chemists. Arlington, Virginia, USA.
- APROMAR, Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos. (2007). La acuicultura marina de peces en España 2007. <http://www.apomar.es/informes.asp> (20/11/2007)
- Aubourg S.P. (1993). Review: interaction of malondialdehyde with biological molecules-new trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science and Technology* 28, 323-335.
- Aubourg, S. P., Medina, I. (1999). Influence of storage time and temperature on lipid deterioration during cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) frozen storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1943-1948.
- Auborg, S.P., Ugliano, M. (2002). Effect of brine pre-treatment on lipid stability of frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research and Technology* 215(2), 91-95.
- Aursand, M., Bleivik, B., Rainuzzo, J.R., Jorgensen, L., Morh, V. (1994). Lipid distributon and composition of commercially farmed Atlantic salmon

- (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 64(2), 239-248.
- Bardócz, S. (1995). Polyamines in food and their consequences for quality and human health. *Trends Food Science and Technology* 6, 341-346.
- Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A., Fito, P. (2002). Influence of increasing brine concentration in the cod salting process. *Journal of Food Science* 65(7), 1922-1925.
- Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés A., Fito, P. (2003). Cod salting manufacturing analysis. *Food Research International* 36, 447-453.
- Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A., Ibáñez, J. B. (2004). Modelling of cod desalting operation. *Journal of Food Science* 69(4), 183-189
- Barat, J. M., Gallart-Jornet, L., Andrés, A., Akse, L., Carlehög M., Skjerdal, O. T. (2006). Influence of cod freshness on the salting, drying and desalting stages. *Journal of Food Engineering* 73, 9-19.
- Bauchart, C., Chambon, C., Mirand, P.P., Savary-Auzeloux, I., Rémond, D., Morzel, M. (2007). Peptides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle subjected to ice storage and cooking. *Food Chemistry* 100, 1566-1572.
- Belitz, H.D., Grosch, D. (1997). Peces, ballenas, crustáceos y moluscos. En: *Química de los alimentos*. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 667-689.
- Bellagha, S., Sahli, A., Farhat, A., Kechaou, N., Glenza, A. (2007). Studies on salting and drying of sardine (*Sardinella aurita*): Experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering* 78(3), 947-952.
- Beltran, A., Moral, A. (1991). The effects of fat contents and storage temperature on the stage life of smoked sardine fillets (*Sardina pilchardus* W) prepared from frozen sardine. *Food Chemistry* 42(3), 347-356.
- Bhuiyan, A.M.A., Ratnayake W.M.N., Ackman R.G. (1986). Stability of lipids and polyunsaturated fatty acids during smoking of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Journal of the American Oil Chemist's Society* 63(3), 324-328

- Birkeland, S., Skåra, T., Bjerkgeng B., Rørå, A.M.B. (2003). Product yield and gaping in cold-smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets as influenced by different injection-salting techniques. *Journal of Food Science* 68, 1743–1748.
- Birkeland, S., Røra, A. M.B, Skåra, T., Bjerkgeng, B. (2004). Effects of cold smoking procedures and raw material characteristics on product yield and quality parameters of cold smoked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets. *Food Research International* 37, 273-286.
- Børresen, T. (1992). Quality aspects of wild and reared fish. En: Huss H.H., Jacobsen, M., Liston J. (eds.). Quality assurance in the food industry. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V. pp: 1-17.
- Bourne, M.C. (1982). Food texture and viscosity. *Academic Press*, New York.
- Brody, A.L. (1996). Introducción. En: Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 1-2.
- Bugueño, G., Escriche, I., Serra, J.A. Restrepo, J. (1999). Determinación de aminoácidos libres en músculo de salmón (*Salmo salar*) fresco por cromatografía líquida de alta resolución. Derivatización con PITC. *Alimentaria* 299, 77-80.
- Bugueño, G., Escriche, I., Martínez-Navarrete, N., Camacho, M.M., Chiralt, A. (2003). Influence of storage conditions on some physical and chemical properties of smoked salmon (*Salmo salar*) processed by vacuum impregnation techniques. *Food Chemistry* 81(1), 85-90.
- Burgess, G.H.D., Cutting, C.L., Lovern, J.A., Waterman, J.J. (1967). Fish Handling and Processing. New York: Chemical Publishing Company.
- Burgess, G.H.D., Cutting, C.L., Lovern, J.A., Waterman, J.J. (1987). Los peces como seres vivos. En: El pescado y las industrias derivadas de la pesca. Ed. Acribia, Zaragoza, pp. 280-283.
- 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.

- Cardinal, M., Knockaert, C., Torrison, O., Sigurgisladottir, Mørkøre, T., Thomassen, M., Vallet, J.L. (2001). Relation of smoking parameters to the yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Research International* 34, 537-550.
- Cardinal, M., Cornet, J., Sérot, T., Baron, R. (2006). Effects of the smoking process on odour characteristics of smoked herring (*Clupea harengus*) and relationships with phenolic compound content. *Food Chemistry* 96, 137-146.
- CEE, (2005). Reglamento (CE) nº 2074/2005 de la comisión de 5 de diciembre de 2005 por el que se establecen medidas de aplicación para determinados productos (...). Sección II, Capítulo I: Valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT) para determinadas categorías de productos de la pesca y métodos de análisis que deberán utilizarse. Diario Oficial de la Unión Europea, L338, 36.
- Cha, Y.J., Kim, H., Jang, S.M. (1998). Flavor and taste-active compounds in blue mussel hydrolysate produced by protease. *Journal of Food Science Nutrition* 3(1), 15-21.
- Chanmugan, P., Boudreau, M, Hwang, D.H. (1986). Differences in the ω 3 fatty acid content in pond-reared and wild fish and shellfish. *Journal of Food Science* 51, 1556-1557.
- Christian, J.M.B. (1980). Actividad del agua reducida. En: ICMSF (eds). Ecología microbiana de los alimentos 1. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos, 74-96.
- Chytiri, S., Paleologos, E., Savvaidis I., Kontominas M.G. (2004) Relation of biogenic amines with microbial and sensory changes of whole and filleted freshwater rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) stored on ice. *Journal of Food Protection* 67(5), 960-695
- CIE (Commission International de L'Eclairage) (1976). Colorimetry, vol. 15. Bureau Central de la CIE, Vienna, Austria.

- 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.
- Cornu, M., Beaufort, A., Rudelle, S., Laloux, L., Bergis, H., Miconnet, N., Serot, T., Delignette-Muller, M.L. (2006). Effect of temperature, water-phase salt and phenolic contents on *Listeria monocytogenes* growth rates on cold-smoked salmon and evaluation of secondary models. *International Journal of Food Microbiology* 106, 159-168.
- Cox D.H., Karahadian, C. (1998). Evaluation of Microbial counts, nucleotide degradation and sensory attributes of cultured and wild yellow perch (*Perca flavescens*) during refrigerated storage. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 7(1), 5-26.
- Crank, J. (1975). The mathematics of diffusion. Oxford: Clarendon Press, 47-49.
- Curzio, O.A., Quaranta, H.O. (1982). Delay of oxidative rancidity in irradiated hake (*Merluccius merluccius hubbsi*). *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 15, 1171-1172.
- Dalgaard, P., Gram, L., Huss, H.H. (1993). Spoilage and shelf-life of cod fillets packed in vacuum or modified atmospheres. *International Journal of Food Microbiology* 19, 283-294.
- Dalgaard, P. (2000). Freshness, quality and safety in seafood. Flair-Flow Europe Technical Manual F-FE 380A/00. Teagasc, Dublin, Ireland, pp: 17-18.
- Dawood, A.A., Karkalas, J., Roy, R. N., & Williams, C. S. (1986). The occurrence of non-volatile amines in chilled-stored rainbow trout (*Salmo irideus*). *Food Chemistry* 27(1), 33-46.
- 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.
- Del Valle, F.R., Nickerson, J.T.R. (1967). Studies on salting and drying fish. II. dynamic aspects of the salting of fish. *Journal of Food Science* 32, 218-224.

- Di Bella, G., Genovese, L., Salvo, F., Dugo, G. (1992). Fatty acid composition of reared and wild Mediterranean ichthyofauna. *Italian Journal Food Science* 1, 17-23.
- Dodds, K.L., Brodsky, M.H., Warburton, D.W. (1992). A retail survey of smoked ready-to-eat fish to determine their microbiological quality. *Journal of Food Protection* 55, 208-210.
- Dondero, M., Cisternas, F., Carvajal, L., Simpson, R. (2004). Changes in quality of vacuum-packed cold-smoked salmon (*Salmo salar*) as a function of storage temperature. *Food Chemistry* 87, 543-550.
- Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (2001). Microbiología de los Alimentos. Fundamentos y fronteras. Acribia, 519-579.
- Duerr J. D., Dyer W. J. (1952). Proteins in fish muscle. Denaturation by salt. *Journal Fisheries Board Canada* 8, 325-331.
- Dunajski, E. (1979). Texture of fish muscle. *Journal of Texture Studies* 10(4), 301-318.
- EEC (1991). Laying down the health conditions for the production and the placing on the market of fishery products. Council Directive, EEC, 91/493/EEC 22 July 1991.
- El Marrakchi, A., Bennour, M., Bouchriti, N., Hamama, A., Tagafait, H. (1990). Sensory, chemical, and microbiological assessments of Moroccan sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *Journal of Food Protection* 53(7), 600-605.
- Erikson, C.E. (1982). Lipid oxidation catalysts and inhibitors in raw materials and processed foods. *Food Chemistry* 9(1-2), 3-19.
- Erkan, N., Özden, Ö. (2007). Proximate composition and mineral contents in aqua cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*), sea bream (*Sparus aurata*) analyzed by ICP-MS. *Food Chemistry* 102, 721-725.
- Escrache, I. (1992). Contribución al estudio del proceso de obtención de sardina ahumada y evolución de parámetros de calidad en las distintas etapas del mismo. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

- Escriche, I., Camacho, M.M. (1998). Determinaciones espectrofotométricas. En: Prácticas de Análisis de Alimentos (pp. 59-64). Valencia: Servicio de Publicaciones de la Universidad Politécnica de Valencia.
- Espe, M., Nortvedt, R., Lie, Ø., Hafsteinsson, H. (2001). Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) as raw material for the smoking industry. I: Effect of different salting methods on the oxidation of lipids. *Food Chemistry* 75, 411-416.
- Espe, M., Nortvedt, R., Lie, Ø., Hafsteinsson, H. (2002). Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) as raw material for the smoking industry. II: Effect of different smoking methods on losses of nutrients and on the oxidation of lipids. *Food Chemistry* 77, 41-46.
- Espe, M., Kiessling, A., Lunestad, B., Torrissen, O J., Røra, A M B. (2004). Quality of cold smoked collected in one French hypermarket during a period of 1 year. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 37, 627-638.
- 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)
- Exler, J. (1987). Composition of Food: Finfish and Shelfish products. *Agriculture Handbook* no. 8-15. USDA, Washington, DC.
- FAO Fishery information, Data and Statistics Unit (FAO-FIDI). c-2004- Collocation, analysis and dissemination of global and regional fishery statistics. FI Programme Websites. FAO-Rome. Updated Mon Oct 09 CEST 2006. <http://www.fao.org/fi/website/> (15/11/ 2006).
- FAO (2006). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2006. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, 2007. http://fao.or/sof/sofia/index_es.htm (25/10/2007)
- Farmer, L. J., McConnell, J. M., Kilpatrick, D.J. (2000). Sensory characteristics of farmed and wild Atlantic salmon. *Aquaculture* 187, 105-125.

- Fauconneau, B., Chmaitilly, J., Andre, S., Cardinal, M., Cornet, J., Vallet, J.L., Dumont, J.P., Laroche, M. (1995). Caractéristiques de la chair de la truite arc en ciel of rainbow trout flesh: I. Chemical composition and cellularity of muscle and adipose tissues. *Sciences des Aliments* 13(2), 173-187.
- Fauconneau, B., Alami-Durante, H., Laroche, M., Marcel, J., Vallot, D. (1995). Growth and meat quality relations in carp. *Aquaculture*, 129, 265-297.
- FDA, Food and Drug Administration (2001). Scombrototoxin (histamine) formation Chapter 7. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC, pp. 83-102.
- Fennema, O.R. (1990). Comparative water holding properties of various muscle food. A critical review relating to definitions, methods of measurements, governing factors, comparative data and mechanistic matters. *Journal of Muscle Foods* 1, 636-381.
- Fennema, O.R. (1993). Características del tejido muscular. En: Química de los Alimentos. Ed. Acibia, Zaragoza, pp. 816-888.
- 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
- Fernández-Salguero, J., Gómez, R, Carmona, M. A. (1993). Water activity in selected high-moisture foods. *Journal of food composition and analysis* 6, 364-369.
- Fernández-Salguero, J., Mackie, I.M. (1987). Preliminary survey of the contents of histamine and other higher amines in samples of Spanish canned fish. *International Journal of Food Science and Technology* 22, 409-412
- Fernández-Segovia I. (2003). Estudio de conservación de bacalao (*Gadus morhua*) desalado. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.
- Fernández-Segovia, I., Escriche, I., Fuentes, A., Serra, J.A. (2007). Microbial and sensory changes during refrigerated storage of desalted cod (*Gadus*

- morhua) preserved by combined methods. *International Journal of Food Microbiology* 116(1), 64-72.
- Fetcher, G.G., Statham, J.A. (1988). Shelf-life of sterile Yellow-eyed mullet (*Aldrichett forsteri*) at 4 °C. *Journal of Food Science* 53(4), 1030-1035.
- Flick, J.G., Hong G. P. Knobol G.M. (1992). Lipid oxidation in food. American Chemical Society, Washington, USA, pp 183-207.
- Folch, J., Less, M., Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226, 497-509.
- Foran J,A., Good, D.H., Carpenter, D.O., Hamilton, M.C., Knuth, B.A., Schwager, J. (2005). Quantitative analysis of the benefits and risks of consuming farmed and wild salmon. *Journal of nutrition*, 135(11), 2639-2643.
- Frye, C.B., Hand, L.W., Calkins C.R., Mandigo, R.W. (1986). Reduction or replacement of sodium chloride in a tumbled ham product. *Journal of Food Science* 51: 836-837.
- Fuke, S. (1994). Taste-active components of seafoods with special reference to umami substances. En: Shahidi, F., Botta, J.R. eds. *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality* (pp. 115-139). Blackie Academic & Professional. Glasgow, UK.
- Gallardo, J.M., Pérez-Martin, R., Franco, J.M., Aubourg, S. (1984). Chemical composition and evolution of nitrogen compounds during the processing and storage of canned albacore (*Thunnus albacore*). *Proc M.O.C.A.*, I: 51-58.
- Gallart-Jornet, L., Barat, J.M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., Fito, P. (2007a). A comparative study of brine salting Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Engineering* 79(1), 261-270.

- Gallart-Jornet, L., Barat, J.M., Rustad, T., Erikson, U., Escriche, I., Fito, P. (2007b). Influence of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting. *Journal of Food Engineering* 80(1), 267-275.
- Gallart-Jornet, L., Rustad, T., Barat, J.M., Fito, P. Escriche, I., (2007c). Effect of superchilled storage on the freshness and salting behaviour of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Food Chemistry* 103(4), 1268-1281.
- Gaull, G.E. (1989). Taurine in pediatric nutrition: review and update. *Pediatrics* 83, 433-442.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero L., Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science* 65, 833-839.
- Gennari, M., Tomaselli, S., Cotrona, V. (1999). The microflora of fresh and spoiled sardines (*Sardina pilchardus*) caught in Adriatic (Mediterranean) sea and stored in ice. *Food Microbiology* 16, 15-28.
- Gillete, M. (1985). Flavour effects of sodium chloride. *Food Technology* 39(6), 47-56.
- Gimeno, O., Astiasarán I., Bello, J. (1999). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaC₂ on texture and color of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 47, 873-877.
- Gimeno, O., Astiasarán I., Bello, J. (2001). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaC₂ on microbiological evolution of dry fermented sausages. *Food Microbiology* 18, 329-334.
- Ginés, R., Valdimarsdottir, T., Sveinsdottir, K., Thorarensen, H. (2004). Effects of rearing temperature and strain on sensory characteristics, texture, colour and fat of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Food Quality and Preference* 15, 177-185.
- Gjedrem, T. (1997). Flesh quality improvement in fish through breeding. *Aquaculture International* 5, 197-206.
- Gökoglu, N. (2003). Changes in biogenic amines during maturation of sardine *Sardina pilchardus* marinade. *Fisheries Science* 69, 323-829.

- Gökoglu, N., Yerlikaya, P., Cengiz, E. (2003). Biogenic amines formation in sardine marinade during refrigerated storage. *Journal of Food Chemistry* 27, 435-447.
- Gomes, H.A., Silva, E.N., Nascimento, M.R.L., Fukuma, H.T. (2003). Evaluation of 2 thiobarbituric acid method for the measurement of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chemistry* 80, 433-437.
- Gómez-Estaca, J., Gómez-Guillén, M.C., Montero, P. (2007). High Pressure on the quality and preservation of cold-smoked dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) fillets. *Food Chemistry*, 102(4), 1250-1259.
- Gómez-Guillén, M.C., Montero, P., Hurtado, O., Borderias, A.J. (2000). Biological characteristics affect the quality of farmed Atlantic salmon and smoked muscle. *Journal of Food Science* 65, 53-60.
- González S., Flick. G. J., O'Keefe. S. F., Duncan. S. E., Malean. E., Craig. S. R. (2006). Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 720-726.
- Goktepe, I., Moody, M.W. (1998). Effects of modified atmosphere packaging on the quality of smoked catfish. *Journal of Muscle Foods* 9, 375-389.
- Gou, P., Comaposada, J. (2000). La transferencia de sal en interior del jamón curado. *Eurocarne* 86, 36-44.
- 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. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry* 100, 287-296.
- Gould, G.W. (1991). Antimicrobial compounds. En: "Biotechnology and food ingredients" Goldberg, I., Willians, R. Eds. Van Nostrand Reinhold, New York, pp. 461-482.

- Gould, G.W. (1992). Ecosystem approaches to food preservation. *Journal of Applied Bacteriology*. (Symposium Supplement), 73, 58S-68S.
- Gram, L, Huss, H.H. (1996). Microbial spoilage of fish and fish products. *International Journal of Food Microbiology* 33, 121-137.
- Gram L., Melchiorsen, J. (1996). Interaction between fish spoilage bacteria *Pseudomonas* spp. and *S. putrefaciens* in fish extracts and on fish tissue. *Journal of Applied Bacteriology* 80, 389-595.
- Gram, L., Trolle, G., Huss, H.H. (1989). Detection of specific spoilage bacteria from fish stored at low (0 °C) and high (20 °C) temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 4, 65-72.
- Grigorakis, K., Alexis, M. N., Taylor, K. D. A., Hole, M. (2002). Comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*); composition, appearance and seasonal variations. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 477-484.
- Grigorakis. K., Taylor. K.D.A., Alexis. M.N. (2003). Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis. *Aquaculture* 225, 109-119.
- Guillén, M.D., Manzanos, M.J., Ibargoitia, M.L. (1996). Ahumado de alimentos. Preparación, aplicación, métodos de estudio y composición de aromas de humo. *Alimentaria*, 274, 45-53.
- 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.
- Haard, N.F. (1992). Control of chemical composition and quality attributes of cultured fish. *Food Research International* 25, 289-307.
- Halász, A., Baráth, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. (1994). Biogenic amine and their production by microorganisms in food. *Trends Food Science and Technology* 5, 42-49

- Hand, L.W., Terrell, R.N., Smith, G.C. (1982). Effects of complete or partial replacement of sodium chloride on processing and sensory properties of hams. *Journal of Food Science* 47, 1776-1778.
- Harrigan, W.F., McCance, M.E. (1979). Métodos de laboratorio en microbiología de alimentos y productos lácteos. Ed. Academia, León, España. 432 pp.
- Harris, P., Tall, J. (1994). Rancidity in fish. En: Allen J. Hamilton (eds.), Rancidity in foods. London, UK: Chapman and Hall, 256-272.
- Hattula, T., Elfving, K., Mrouch, U.M., Louma, T. (2001). Use of liquid smoke flavouring as an alternative to Traditional flue gas smoking of rainbow trout fillets (*Onchorhynchus mykiss*). *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie* 34, 521-525.
- Hatlen, B., Jobling, M., Bejerken, B. (1998). Relationships between carotenoid concentration and colour fillets of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), fed astaxanthin. *Aquaculture Research* 29(3), 191-202.
- Hernández-Herrero, M.M., Roig-Sagués, A.X., López-Sabater, E.I., Rodríguez-Jerez, J.J., Mora-Ventura, M.T. (1999). Total volatile basic nitrogen and other physico-chemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies. *Journal of Food Science* 64(2), 344-347.
- Horner, W.F.A. (2001). Conservación del pescado mediante curado (secado, salazón y ahumado). En: Hall, G.H. ed., *Tecnología del procesado del pescado* (pp. 35-76). Ed. Acribia, Zaragoza, España
<http://www.adinte.net> (14/11/2007)
- Huidobro, A., Montero, P., Careche, M. (1998). El Salmón ahumado. *Alimentaria*, 53: 53-56.
- Huidobro, A., Tejada, M. (1990). Determinación analítica de los compuestos nitrogenados no proteicos en el músculo de pescado. Aplicación al control de calidad. *Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos*, 30, 293-302.

- Hultmann, L., Røra, A.M., Steinsland, I., Skara, T., Rustad, T. (2004) Proteolytic activity and properties of proteins in smoked salmon (*Salmo salar*). Effects of smoking temperature. *Food Chemistry* 85, 377-387.
- Huss, H.H. (1980). Distribution of *Clostridium botulinum*. *Applied and Environmental Microbiology* 39, 764.
- Huss, H.H. (1988). Cambios post-mortem en el pescado. En: El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Colección *FAO*: Pesca Nº 29, Roma, pp. 61-75.
- Huss, H.H. (1998). Evaluación de la calidad del pescado. En: El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. Colección *FAO*, Pesca Nº 348, Roma, 131-154.
- Hwang, D.F., Chen, T.Y., Shiau, C.Y., Jeng, S.S. (2000). Seasonal variations of free amino-acids and nucleotide-related compounds in the muscle of cultured Taiwanese puffer *Takifugu rubripes*. *Fisheries Science* 66, 1123-1129.
- Ibañez, C., Quintanilla, L., Cid, C., Astiasarán I., Bello, J. (1996). Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*-*Staphylococcus carnosus*. Part I: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the stability and nitrosation processes. *Meat Science* 44 (4), 227-234.
- Ibañez, C., Quintanilla, L., Cid, C., Astiasarán I., Bello, J. (1997). Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*-*Staphylococcus carnosus*. Part II: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the proteolytic and insolubilization processes. *Meat Science* 46 (3), 277-284.
- Indrasena W. H., Hansen, L. T., Gill, T. A. (2000). Effect of cold-smoking and drying on the textural properties of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal Aquatic Food Product Technology* 9(1), 47-64.
- Ismail, N. Wootton, M. (1982). Fish salting and drying: a review. *ASEAN Food Journal* 7(4), 175-183.
- Izquierdo, M. S., Obach, A., Arantzamendi, L., Montero, D., Robaina, L., Rosenlund, G. (2003). Dietary lipid sources for sea bream and sea bass:

- growth performance, tissue composition and flesh quality, *Aquaculture Nutrition* 9, 397-407.
- Jason, A. C. (1965). Effect of fat content on diffusion of water in muscle. *Journal of Science and Food Agriculture* 16, 281-288.
- Jaffry, S., Pickering, H., Ghulam, Y., Whitmarsh, D., Wattage, P. (2004). Consumer choices for quality and sustainability labelled seafood products in the UK. *Food Policy* 29, 215-228
- Jittinandana, S., Kenney, P.B., Slider, S.D., Kiser, R. A. (2002). Effect of brine concentration and brining time on quality of smoked rainbow trout fillets. *Journal of Food Science* 67(6), 2095-2099.
- Johnson, E., Stevenson, R. (1978). Quantitative analysis in basic liquid chromatography. En: Varian Associates (eds.), Hansen Way, Palo Alto, CA, p. 223.
- Johnston, I.A., Li, X., Vieira, V.L.A., Nickell, D., Dingwall, A., Alderson, R. (2006). Muscle and flesh quality traits in wild and farmed Atlantic salmon. *Aquaculture* 256, 323-336.
- Kanner, J., Harel, S., Jaffe, R. (1991). Lipid peroxidation in muscle food as affected by NaCl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39, 1017-1021.
- Karppanena, H. (2002). Public health strategies for population control of hypertension. *American Journal of Hypertension* 9(4), 200A.
- Kiessling, A., Espe, M., Ruohonen, K., Mørkøre, T. (2004). Texture, gaping and colour of fresh and frozen Atlantic salmon flesh as affected by pre-slaughter iso-eugenol or CO₂ anaesthesia. *Aquaculture* 236, 645-657.
- Killinc, B., Cakli, S. (2005). Determination of the shelf-life of sardine (*Sardina pilchardus*) marinades in tomato sauce stored at 4 °C. *Food Control* 16, 639-644.
- Kolodziejska, I., Niecikowska, C., Januszewska, E., Sikorski, Z. (2002). The microbial and sensory quality of mackerel hot smoked in mild conditions. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie* 35 (1): 87-92.

- Konosu, S., Yamaguchi, K. (1982). The flavour components in fish and shellfish. En: Martin, R.E., Flick, G.J., Hebard, C.E., & Ward, D.R. (eds). *Chemistry & Biochemistry of Marine Food Products* (pp. 367-404). AVI Publishing Co., Conneticut.
- Koutsoumanis, K., Lambropoulou, K., Nychas, G.J.E. (1999). Biogenic Amines and sensory changes associated with the microbial flora of Mediterranean gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) stored aerobically at 0, 8 and 15 °C. *Journal Food Protection* 62, 398-402.
- Koutsoumanis, K., Nychas, G.J.E. (1999). Chemical and sensory changes associated with microbial flora of Mediterranean bogue (*Boops boops*) stored aerobically at 1 °C, 3 °C, 7 °C, and 10 °C. *Applied Environmental Microbiology* 65, 698-706.
- Kristinsson. H., Danyali, N., Ua-Angkoon, S. (2006). Effect of filtered wood smoked treatment on chemical and microbial changes in Mahi Mahi filets. *Journal of Food Science* 72(1), c16-c24
- Křížek, M., Pavlicek, T., Vacha, F. (1999). Formation of selected biogenic amines in carp meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82(9), 1088-1093.
- Křížek, M., Vácha, F., Vorlová, L., Lukášová, J., Cupáková, Š. (2004). Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. *Food Chemistry* 88, 185-191.
- Krombout, D., Bosschieter, E. B., Lezenne, C.C. (1985). The inverse relationship between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *The New England Journal of Medicine*, 312, 1205-1209.
- Kyranas, 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.
- Kyranas 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
- Laksmanan, R., Piggott, J.R., Paterson, A. (2003). Potential application of high pressure for improvement in salmon quality. *Trends in Food Science and Technology* 14, 354-395.
- Lanari, D., Poli, B.M., Ballestrazzi, R., Lupi, Paola, P., D'Agaro, E., Mecatti, M. (1999). The effects of dietary fat and NFE levels on growing European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Growth rate, body and fillet composition, carcass traits and nutrient retention efficiency. *Aquaculture* 179, 351-364.
- Lauritzsen, K., Akse L., Gundersen, B., Olsen, R. L. (2004). Effects of calcium, magnesium and pH during salt curing of cod (*Gadus morhua* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 84, 683-692.
- Leroi, F., Joffraud, J.J. (2000). Salt and smoke simultaneously affect chemical and sensory quality of cold-smoked salmon during 5 °C storage predicted using factorial design. *Journal of Food Protection* 63(9), 1222-1227.
- Leroi, F., Joffraud, J.J. Chevalier, F., Cardinal M. (2001). Research of quality indices for cold-salmon using a stepwise multiple regression of microbiological counts and physico-chemical parameters. *Journal of Applied Microbiology* 90, 578-587.
- Lie, Ø. (2001). Flesh quality-the role of nutrition. *Aquacultural Research* 32, 341-348.
- Lin, G.C., Mittal, G.S., Barbut, S. (1991) Optimization of tumbling and KCl substitution in low sodium restructured hams. *Journal of Muscle Foo*, 2, 71-91.
- Lindsay, R.C. (1980). Comparative sensory analysis of aquacultured and wild yellow perch (*Perca flavescens*) fillets. *Journal of Food Quality* 3, 283-289.
- Liu, H.F., Booren, A.M., Gray, J.I. (1997). Influence of salt concentration and salt ions on non-haem iron concentration and lipid oxidation in ground

- pork. En: Proceedings of the 43rd international congress of meat science and technology (pp. 426-427). Auckland, New Zealand: Meat Industry Research Institute of New Zealand
- Madrid, J.M., Madrid, A., Madrid, R. (1994). Composición y valor nutritivo del pescado y productos derivados. En: Tecnología del pescado y productos derivados. Ed. Mundi-Prensa, Madrid pp. 29-44.
- Malle, P., Tao, S.H. (1987). Rapid Quantitative Determination of Trimethylamine using Steam Distillation. *Journal of Food Protection* 50 (9),756-760.
- MAPA, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (2007). Resolución de 27 de febrero de 2006, de la Secretaría General de Pesca Marítima por la que se publica el listado de denominaciones comerciales de especies pesqueras y de acuicultura admitidas en España. *Boletín Oficial del Estado* 70, 12522-1566 (22 marzo 2007).
- MAPA, 2007. Transformación de productos pesqueros. <http://from.mapa.es> (15/05/2006)
- Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M.C., Izquierdo-Pulido, M., Venciana-Nogués, M.T. (1995). Aminas biógenas en alimentos: unos microcomponentes de interés múltiple. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 1(4): 138-141.
- Martínez-Álvarez O. (2002). Desalado de bacalao (*Gadus morhua*) seco salado y su conservación. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 169, 51-54.
- Martínez-Álvarez O., Gómez-Guillén, M.C. (2005). The effect of brine composition and pH on the yield and nature of water-soluble proteins extractable from brined muscle of cod (*Gadus morhua*). *Food Chemistry*, 92, 71-77.
- Martínez-Álvarez O., Gómez-Guillén, M.C. (2006). Effect of brine salting at different pHs on the functional properties of cod muscle proteins after subsequent dry salting. *Food Chemistry* 94, 123-129.

- Martínez-Álvarez, O., Borderías, A.J., Gómez-Gillén, M.C. (2005). Sodium replacement in the cod (*Gadus morhua*) muscle salting process. *Food Chemistry* 93, 125-133.
- Martínez, O., Salmerón, J., Guillén, M.D., Casas, C. (2007). Textural and physicochemical changes in salmon (*Salmo salar*) treated with commercial liquid smoked flavourings. *Food Chemistry* 100, 498-503.
- Matlock, R.G., Terrell, R N., Savell, J W., Rhee, K S., Dutson, T.R. (1984). Factors affecting properties of raw-frozen pork sausage patties made with various NaCl/phosphate combinations. *Journal of Food Science* 49, 1363-1366.
- Masniyom, P., Benjakul, S., Visessanguan, W. (2002). Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices under modified atmosphere packaging. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 873-880.
- Meitz, J.L., Karmas, E. (1977). Chemical quality index of canned tuna as determined by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Food Science* 42, 155-158.
- 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.
- Meyer, V. (1965) Marinades. En: G. Borgstrom (ed.), *Fish as food*, Vol. 3, Part 1, (pp. 221). New York: Academic Press.
- Montero, P., Gómez-Guillén, M. C., Borderías, A. J. (2003). Influence of salmon provenance and smoking process on muscle functional characteristics. *Food Chemistry and Toxicology* 68(4), 1155-1160.
- Moody M.W., Flick, G.J., Martin R.E.,Correa, A.I. (2000). Smoked, cured and dried fish. En: R. E. Martin, E. P. Carter, G. J. Flick, Jr, L. M. Davis (Eds.), *Marine and freshwater products handbook* (p. 381). Lancaster, PA: Technomic Publishing Company, Inc.
- 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.

Mørkøre, T., Vallet, J.L., Cardinal, M., Gómez-Guillen, M.C., Montero, P., Torrissen, O.J., Nrtvedt, R., Sigurgisladottir, S., Thomassen, M.S. (2001). Fat content and filet shape of Atlantic salmon: Relevance for processing yield and quality of raw and smoked products. *Journal of Food Science* 66, 1348-1354.

MSC, Ministerio de Sanidad y Consumo (1991). Orden de 2 agosto 1991. Pescado. Normas microbiológicas, límites de contenido de metales pesados y métodos analíticos para su determinación en los productos de la pesca y acuicultura con destino al consumo humano. *Boletín Oficial del Estado* 195, 27153 (15 de agosto de 1991).

MSC, Ministerio de Sanidad y Consumo (1996). Real Decreto 2107/1996 del 20 de septiembre de 1996, por el que se establecen las normas de identidad y pureza de los colorantes utilizados en los productos alimenticios. *Boletín Oficial del Estado* 250, 30923-30941 (16 de octubre de 1996).

MSC, Ministerio de Sanidad y Consumo (2002). Real Decreto 142/2002 del 1 de febrero de 2002 por el que se aprueba la lista positiva de aditivos distintos de colorantes y edulcorantes para su uso en la elaboración de productos alimenticios, así como sus condiciones de utilización. *Boletín Oficial del Estado* 44, 6756-6799 (20 de febrero de 2002).

Muguerza, E., Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2004). New formulations for healthier dry fermented sausages: a review. *Trend in Food Science and Technology* 15, 452-457.

Mujaffar, S., Sankat, C.K. (2005). The air drying behaviour of shark fillets. *Canadian Biosystems Engineering* 47, 3.11-3.21.

Nambudiry, D.D. (1980). Lipid oxidation in fatty fish: The effect of salt content in the meat. *Journal of Food Science and Technology* 17, 176-178

Neave, V.H.R. (1986). Introducción a la tecnología de productos pesqueros. Ed. CECSA, Mexico D.F. 197-201.

- Nettleton, J.A., Exler, J. (1992). Nutrients in wild and farmed fish and shellfish. *Journal of Food Science* 57, 257-260.
- Nicolosi, C., Scerra, V., Cataldi Lupo, M.C., Sinatra, M.C., Campisi, S. (1993). Composizione e aspetti nutrizionali di *Dicentrarchus labrax* in relazione all'accrescimento. *La Rivista di Scienza dell'Alimentazione* 22(4), 459-467.
- Offer, G., Trinick, J. (1983). On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, 8, 245-281.
- Ofstad, R. (1995). Microstructure and liquid holding-capacity in cod (*Gadus morhua* L.) and salmon (*Salmo salar*) muscle, effects of heating. Thesis. Institute of Medical Biology, University of Tromsø. Norway.
- Ofstad, R., Egelanddal, B., Kidman, S., Myklebust, R., Olsen, R.L., Hermansson, A.M. (1996). Liquid loss as effected by post mortem ultrastructural changes in fish muscle: cod (*Gadus morhua* L.) and salmon (*Salmo salar*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 71(3), 301-312.
- Okozumi, M, Fukumoto, I., Fujii, T. (1990). Changes in bacterial flora and polyamine contents during storage of horse mackerel meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56, 1307-1312.
- Ólafsdóttir, G., Martinsdóttir, E., Oehlenschläger, J., Dalgaard, P., Jensen, B., Underland, I., Mackie, I.M., Henehan, G., Nielsen, J., Nilsen, H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science and Technology* 8, 258-265.
- Olsen, R.E., Mortensen, A. (1997). The influence of dietary astaxanthin and temperature on flesh colour in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research* 28, 51-58.
- Olsson, G.B., Ofstad, R., Lødemel, J.B., Olsen, R.L. (2003). Changes in water-holding capacity in halibut muscle during cold storage. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie* 36, 771-778.
- Olsson, G.B., Seppola, M.A., Olsen, R.L. (2007). Water-holding capacity of wild and farmed cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus*

aeglefinus) muscle during ice storage. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie* 40, 793-799.

Orban E., Sinesio, F., Paoletti, F. (1996). Caratteristiche nutrizionali ed organoleptiche di orate (*Sparus aurata*) da acquacoltura: un esempio di come le differenti tecniche di allevamento possono influenzare la qualità del pesce. *Rivista Scienza Alimentare*, 25, 27-36..

Orban E., Sinesio, F., Paoletti, F. (1997). The functional properties of the proteins, texture and the sensory characteristics of frozen sea bream fillets (*Sparus aurata*) from different farming systems. *LWT-Food Science and Technology* 30, 214-217.

Orban, E., Di Lena, G., Navigato, 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.

Orban, E., Navigato, T., Di Lena, G., Casini, I., Marzetti, A. (2003). Differentiation in the lipid quality of wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Journal of Food Science*, 68, 128-132.

Ordoñez, J.A. (1998). Tecnología de los alimentos. Editorial Síntesis, Madrid, pp. 318-319.

Orr, A. T. (1967). Method and product for curing and packaging fish. British Patent 1.077.644.

Oshima, T., Yokoyama, T., Waca, S., Lee, E.H., Koizumi, C. (1991). Studies on precursors of the odor evolved from caged squid mantle fresh. *Nippon Susan Gakkaishi* 57, 1743.

Owen, J.M., Adron J.W., Middleton, C., Cowey C.B. (1975). Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* L., and rainbow trout *Salmo gairdnerii* rich. *Lipids*, 10, 528-531.

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., Taylor, K.D.A., Quantick, P., Özogul, Y. (2002a). Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 515-522.
- Özogul, F., Taylor, K.D.A., Quantick, P., Özogul, Y. (2002b). Changes in biogenic amines in herring under modified atmosphere and vacuum pack. *Journal of Food Science* 67, 2497-2501.
- 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.
- Özogul, F., Gökbulut, C. Özogul, Y., Özyurt, G. (2006a). Biogenic amine production and nucleotide ratios in gutted wild sea bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in ice, wrapped in aluminium foil and wrapped in cling film at 4 °C. *Food Chemistry* 98, 76-84.
- Özogul, Y., Özogul, F., Gökbulut, C. (2006b). Quality assessment of wild European eel (*Anguilla anguilla*) stored in ice. *Food Chemistry* 95, 485-465.
- Özogul, F., Özogul, Y. (2006). Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardina pilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum packaging. *Food Chemistry*, 99(3), 574-578.

- Owen , J.M., Adron, J.W., Middleton, C., Cowey, C.B. (1975). Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot *Scophthalmus maximus* L., ad rainbow trout *Salmo gairdnerii* rich. *Lipids* 10, 528-531.
- Paleologos, E.K., Savvaïdis, M.G., Kontominas, M.G. (2004). Biogenic amines formation and its relation to microbiological and sensory attributes in ice-stored whole, gutted and filleted Mediterranean Sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food microbiology* 21, 549-557.
- Papadopoulou, V., Chouliara, I., Badeka, A., Savvaïdis, 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.
- Parisi, G., Franci, O., Poli, B.M. (2002). Application of multivariate analysis to sensorial and instrumental parameters of freshness in refrigerated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) during shelf life. *Aquaculture* 214, 153-167.
- Pascual, M.R, Calderón V. (2000). Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas. Díaz de Santos, Madrid.
- 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.
- Pedro, S., Magalhes, N., Albuquerque, M.M., Batista, I., Nunes, M.L., Bernardo, M.F. (2002). Preliminary observations on spoilage potential of flora from desalted cod (*Gadus morhua*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11(3/4):143-150.
- Peiró-Mena, R., Fernández-Segovia, I., Martínez-Navarrete, N., Camacho, M.M. (2006). Evaluación de parámetros mecánicos y fisico-químicos en bacalao desalado conservado por métodos combinados. En: *Libro de resúmenes del IV Congreso de Ingeniería y Tecnología de los alimentos*. CESIA 2006.

- Peppas, N.A., Brannon-Peppas, L. (1994). Water diffusion and sorption in amorphous macromolecular systems and foods. *Journal of Food Engineering* 22, 189-210.
- Periagio, M.J., Ayala, M.D., López-Albors, O., Abdel, I., Martínez, C., García-Alcazar, A., Ros, G., Gill, F. (2005). Muscle cellularity and flesh quality of wild and farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). *Aquaculture* 249, 175-188.
- Petters, G.R. (1971). Diffusion in a medium containing a solvent and solutes with particular reference to fish muscle. Ph. D. Thesis, University of Aberdeen, Scotland.
- Pirini, M., Gatta, P.P., Testi, S., Trigari, G., Monetti, P.G. (2000). Effect of refrigerated storage on muscle lipid quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed on diets containing different levels of vitamin E. *Food Chemistry* 68, 289-293.
- Pons-Sánchez-Cascado, S., Veciana-Nogues, M.T., Vidal-Carou, M.C. (2003). Effect of delayed gutting on biogenic amine contents during ripening of European anchovies. *European Food Research and Technology* 216(6), 489-493.
- Pons-Sánchez-Cascado, S., Veciana-Nogués, M. T., Bover-Cid, S., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M. C. (2006a). Use of volatile and non-volatile amines to evaluate the freshness of anchovies stored in ice. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86, 699-705.
- Pons-Sánchez-Cascado, S., Vidal-Carou, M.C., Mariné-Font, A., Veciana-Nogués, M.T. (2006b). Influence of the freshness grade of raw fish on the formation of volatile and biogenic amines during the manufacture and storage of vinegar-marinated anchovies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(22), 8586-8592.
- Pons-Sánchez-Cascado, S., Vidal-Carou, M.C., Nunes, M.L., Veciana-Nogués, M.T. (2006c). Sensory analysis to assess the freshness of Mediterranean

- anchovies (*Engraulis encrasicolus*) stored in ice. *Food Control* 17(7), 564-569.
- Potter, N.N. (1986). *Food Science*, 4th ed. AVI-Van Nostrand Reinhold, New York.
- Quintanilla, L., Ibañez, C., Cid, C., Astiasarán I., Bello J. (1996). Influence of partial replacement of NaCl with KCl on lipid fraction of dry fermented sausages inoculated with a mixture of *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus carnosus*. *Meat Science* 43 (3-4), 225-234.
- Raoult-Wack, A.L. (1994). Recent advances in osmotic dehydration of foods. *Trends in Food Science and Technology* 5, 255-260.
- Rasmussen, R.S. (2001). Quality of farmed salmonids with emphasis on proximate composition, yield, and sensory characteristics. *Aquaculture Research* 32, 767-786.
- Redmond, H.P., Stapleton, P.P., Neary, P., Bouchier-Hayes, D.J. (1998). Immunonutrition: The role of taurine. *Nutrition* 14, 599-604.
- Regost, C., Jakobsen, J.V., Rørå, A.M.B. (2004). Flesh quality of raw and smoked fillets of Atlantic salmon as influenced by dietary oil sources and frozen storage. *Food Research International* 37, 259-271.
- Riebroy S., Benjakul, S., Vissessanguan, W., Kirjrongojna, K., Tanaka, M. (2004). Some characteristics of commercial Som-fug produced in Thailand. *Food Chemistry* 88, 527-535.
- Roberts, T.A., Hobbs, G., Christian, J.H.B., Skovgaard, N. (1981). Psychrotrophic microorganisms in spoilage and pathogenicity. Academic Press, London.
- Rodger, G., Hastings, R., Cryne, C., Bailey, J. (1984). Diffusion properties of salt and acetic acid into herring and their subsequent effect on the muscle tissue. *Journal of Food Science* 49, 714-720.
- Rodrigues, M.J., Ho, P., López-Caballero, M.E., Bandarra, N.M., Nunes, M.L. (2005). Chemical, microbiological, and sensory quality of cod products salted in different brines. *Journal of Food Science* 70 (1), M1-M6.

- Rodríguez-Jerez, J.J., Mora-Ventura, M.T., López-Sabater, E.I., Hernández-Herrero, M.M. (1994a). Histidine, lysine and ornithine decarboxylase bacteria in Spanish semi-preserved anchovies. *Journal Food Protection* 57, 784-787.
- Rodríguez-Jerez, J.J., López-Sabater, E.I., Roig-Sagues, A.X., Mora-Ventura, M.T., (1994b). Histamine, cadaverine and putrescine from ripened Spanish semipreserved anchovies. *Journal Food Science* 59, 998-1001.
- Røra, A.M.B., Einen, O. (2003). Effects of freezing on quality of cold smoked Salmon based on the measurements of physicochemical characteristics. *Journal of Food Science* 68(6), 2123-2128.
- Røra, A.M.B., Kvale, A., Morkore, T., Rorvik, K.A., Stein, S.H., Thomansen, M.S. (1998). Process yield, colour and sensory quality of smoked Atlantic salmon in relation to raw material characteristics. *Food Research International* 31(8), 601-609.
- Røra, A.M.B., Regost, C., Lampe, J. (2003). Liquid holding capacity, texture and fatty acid profile of smoked fillets of Atlantic salmon fed diets containing fish oil or soybean oil. *Food Research International* 36, 231-239.
- Røra, A.M.B., Monfort, M.C., Espe, M. (2004). Effects of country origin on consumer preference of smoked Atlantic salmon in a French hypermarket. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 13(1), 69-85.
- Roth, B., Johansen, S. J. S., Suontama, J., Kiessling, A., Leknes, O., Guldberg, B., Handeland, S. (2005). Seasonal variation in flesh quality, comparison between large and small Atlantic salmon (*Salmo salar*) transferred into seawater as +0 or +1 smolts. *Aquaculture* 250, 830-840.
- Ruiz-Capillas, C., Moral, A. (2001). Residual effect of CO₂ on hake (*Merluccius merluccius* L.) stored in modified and controlled atmospheres. *European Food Research and Technology*, 212, 413-420.
- 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.

- Ruiz-Capillas, C., Moral, A. (2005). Sensory and biochemical aspects of quality of whole bigeye tuna (*Thunnus obesus*) during bulk storage in controlled atmospheres. *Food Chemistry* 89(3), 347-354.
- Rustad, T. (1992). Muscle chemistry and the quality of wild and farmed cod. En: Huss H.H., Jacobsen, M., Liston J. (Eds.). *Quality Assurance in the Fish Industry* (pp: 19-27). Elsevier Science Publishers B.V Amsterdam:.
- Ruusunen, M., Poulanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science* 70, 531-541.
- Ruusunen, M., Simolin, M., Poulanne, E. (2001). The effect of fat content and flavour enhancers on the perceived saltiness of cooked "bologna-type" sausages. *Journal of Muscle Foods* 12, 107-120.
- Ruusunen, M., Vainionpää, J., Poulanne, E., Lyly, M., Lähteenmäki, L., Niemistö, M. (2005). Reducing the sodium content in meat products: the effect of the formulation in low-sodium ground meat patties. *Meat Science* 69:53-60.
- Ryder, J.M., Fletcher G.C., Stec, M.G., Seelye, R.J. (1993). Sensory, microbiological and chemical changes in hoki stored in ice. *International Journal of the Food Science and Technology* 28, 169-180.
- Saito, M., Kunisaki, N. (1998). Proximate composition, fatty acids composition, free amino acid contents, mineral contents, and hardness of muscle from wild and cultured puffer fish Takifugu rubripes. *Nippon Suisan Gakkaishi* 64, 116-120.
- Sakai, M., Miki, M. (1982). Transfer rates of salt in fish flesh. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 29, 440-495.
- Sakai, M., Suzuki, A. (1985). Transfer rates of salt in fish flesh and into flesh through skin. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 32,480-485.
- Sallam, Kh.I., Ahmed A.M., Elgazzar, M.M., Elday, E.A. (2006). Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (*Cololabis saira*) during vacuum-packaged storage at 4 °C. *Food Chemistry* 102, 1061-1070.

- Sarwar, G., Botting, H.G. (1990). Rapid analysis of nutritionally important free amino acids in serum and organs (liver, brain, and heart) by liquid chromatography of precolumn phenylisothiocyanate derivatives. *Journal of Association Official Analytical Chemistry* 73(3), 470-475.
- Scott, D.N., Fletcher, G.C., Hogg, M. G., Ryder, J.M. (1986). Comparison of whole and gutted orange roughly stored in ice: sensory, microbiology and chemical assessment. *Journal of Food Science* 51, 79-86.
- Serot, T., Gandemer, G., Demaimay, M. (1998). Lipid and fatty acid compositions muscle from farmed and wild adult turbot. *Aquaculture* 119, 63-88.
- Shalaby, A. R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International* 29, 675-690.
- Sigurgisladdottir, S., Torrissen, O., Lie, O., Thomassen, M., Hafsteinsson, H. (1997). Salmon Quality: Methods to determine the quality parameters. *Reviews in Fisheries Science* 5(3), 223-252.
- Sigurgisladdottir, S., Sigurgisladdottir, M.S., Torrissen, O., Vallet, J.L., Hafsteinsson, H. (2000). Effects of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Food Research International* 33, 847-855.
- Simeonidou, S., Govaris, A., Vareltzis, K. (1998). Quality assessment of seven Mediterranean fish species during storage in ice. *Food Research International* 30, 479-484.
- Sivertsvik, M., Jeksrud, W.K., Rosnes, J.T. (2002). A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth, activities and safety. *International Journal of Food Science and Technology* 37, 107-127.
- Stapleton, P. P., Charles, R. P., Redmond, H. P., Bouchier-Hayes, D.J. (1997). Taurine and human nutrition. *Clinical Nutrition* 16, 103-108.
- Stefenovskaya, N.V., Stfanovskii, V.M., Samoilava, L. . (1976). Coefficient of salt diffusion in pike tissue. *Pishchevaya Tekhnologiya*, 42, 137-139.

- Sturman, J.A. (1993). Taurine in development. *Physiological Reviews* 73, 119-147.
- Surette, M.E., Gill, T.A., Leblanc, P.J. (1988). Biochemical basis of post-mortem nucleotide catabolism in cod (*Gadus morhua*) and its relationship to spoilage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 36, 19-22.
- Sylvia, G., Morrissey, M.T., Graham, T., Garcia, S. (1995). Organoleptic qualities of farmed and wild salmon. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 4, 51-64.
- 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.
- Taylor, S.L., Speckard, M. (1984). Inhibition of bacterial histamine production by sorbate and other antimicrobial agents. *Journal of Food Protection* 47, 508-511.
- Tejada, M., Huidobro, A. (2002). Quality of farmed gilthead seabream (*Sparus aurata*) during ice stored related to the slaughter method and gutting. *European Food Research and Technology* 215, 1-7.
- 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.
- Torrissen, O.J. (1995). Norwegian salmon culture: 1 million tons in 2005? *Aquaculture Europe* 19(4), 6-11.
- Torrissen, O.J., Røra, A.M.B., Nortvedt, R., Espe, M., Jørgensen, L., Sørensen, N.K., Olsen, S.O. (2000). Atlantic salmon-Quality and market responses. En: Program & Abstract. The Ninth International Symposium on Nutrition & Feeding in Fish. Miyazaki, Japón, p. 75.

- Truelstrup Hansen, L., Gill, T., Huss, H.H. (1995). Effects of salt and storage temperature on chemical, microbiological and sensory changes in cold-salmon. *Food Research International* 28(2), 123-130.
- Truelstrup Hansen, L., Gill, T.A., Drewes Rontved, S. and Huss, H.H. (1996). Importance of autolysis and microbiological activity on quality of cold-smoked salmon. *Food Research. International* 29 (2), 181–188.
- Truelstrup Hansen, L., Drewes Ronved, S., Huss, H.H. (1998). Microbiological quality and shelf-life of cold-smoked salmon from three different processing plants. *Food Microbiology* 15, 137-150.
- Tsai, Y.H., Lin, Ch.Y., Chang, S.Ch., Chen, H.Ch., kung, H. F., Wei, Ch. I., Hwang, D.F. (2005). Occurrence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiology* 22, 461-467.
- 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/>.
- Valcárcel-Cases, M.; Gómez-Hens, A. (1994) Técnicas Analíticas de Separación. Ed. Reverté. Barcelona, España.
- Vasiliadou, S., Ambrosiadis, I., Vareltzis, K., Fletouris, D., Gavriilidou, I. (2005). Effect of smoking on quality parameters of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and sensory attributes of the smoked product. *European Food Research and Technology* 2217, 232-236.
- Veland, J.O., Torrison, O.J. (1999). The texture of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle as measured instrumentally using TPA and Warner-Brazler shear test. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79, 1737-1746.
- Venciana-Nogués, M.T., Vidal-Carou, M.C., Mariné-Font, A. (1995). Liquid chromatographic method for determination of biogenic amine in fish and fish products. *Journal of AOAC International*, 78(4), 1045-1050.
- Venciana-Nogués, M.T., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (1997). Biogenic amines as hygienic quality indicators of tuna. Relationships with microbial

- counts, ATP-related compounds, volatile amines and organoleptic changes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45, 2036-2041.
- Vynke, W. (1970). Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extract of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette Seifen Anstrichmittel*, 72, 1084-1087.
- Wang, D., Correia, L.R. Tang, J. (1998). Modelling of salt diffusion in Atlantic salmon muscle. *Canadian agricultural engineering* 40(1), 29-34
- Wang, D., Tang, J., Correia, L. R. (2000). Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis. *Journal of Food Engineering* 43, 115-123.
- Webster, C. D., Tidwell, J. H., Goodgame, J. S. (1993). Growth, body composition and organoleptic evaluation of channel catfish fed diets containing different percentages of distillers' grains with soluble. *Prog Fish-Cult.*, 55, 95-100.
- Yamada, K., Kobayashi, K., Yone, N.M. (1980). Conversion of linolenic acid to ω -3 highly unsaturated fatty acids in marine fishes and rainbow trout. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries*, 46, 1231-1233.
- Yamanaka, H., Shiomi, K., Kikuchi, T. (1987). Agmatine as a potential index for freshness of common squid (*Todarodes pacificus*). *Journal of Food Science* 52(4), 936-938.
- Yanar, Y., Celik, M., Akamca, E. (2006). Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4°C. *Food-Chemistry* 97(2), 244-247
- Yao, Z., Le Maguer, M. (1996). Osmotic dehydration: an analysis of fluxes and shrinkage in cellular structure. *Transactions of the ASAE* 39(6), 2211-2216.
- Zurragamurdi, A., Lupín, H.M. (1980). A model to explain observed behaviour on fish salting. *Journal of Food Science* 45(5), 1305-1311.

ANEXO A

Tabla VIII.1. Información recogida en las fichas de caracterización de los productos de la pesca ahumados y marinados encontrados en el mercado (Septiembre 2003).

Producto	Marca	Mercado	Env ¹	Pn ²	Ingredientes	Cons ³	F. cad ⁴	Observaciones (precio)
Salmón								
Salmón ahumado en lonchas (noruego)	Ahumados Domínguez El Corte Inglés	Supercor El Corte Inglés	V	100g 250g	Salmón, sal, azúcar y humo natural	R	1/10/03 29/9/03	Salmón de acuicultura noruego
	Benfumat	Supercor El Corte Inglés	V	100g	Salmón, sal, azúcar y humo natural	R	2/10/03	3,49 €
	Hacendado	Mercadona	V	100g 250g	Salmón, sal, azúcar y humo de madera de haya	R	20/10/03	2,00-4,60 €
	Sabal	El Corte Inglés	V	100g	Salmón, sal azúcar y humo natural	R	1/11/03	2,82 €
	Royal	El Corte Inglés	V	200g	Salmón, sal y humo natural	R	16/10/03	7,78 €
		Carrefour	V	100g			2/10/03	5,60 €
	Eurosalmón	El Corte Inglés	V	100g 250g	Salmón fresco, sal, azúcar y humo natural	R	24/10/03	3,29-7,97 €
	Carrefour	Carrefour	V	100g 700g	Salmón, sal y humo de madera de haya	R	28/10/03	1,89-13,80 €
Salmón escocés ahumado	La Balinesa	Supercor	V	100g	Salmón, sal, azúcar y humo	R	15/10/03	Horno artesano
	Royal	El Corte Inglés	V	80g	Salmón, sal y humo natural	R	3/11/03	3,79 €
		Carrefour	V	80g		23/09/03	3,15 €	
	Carrefour	Carrefour	V	80g	Salmón, sal y humo de madera de haya	R	28/10/03	1,98 €
Skandia	Carrefour	V+cartón	80g	Salmón, sal, azúcar y humo	R	06/10/03	3,00€	
Salmón ahumado en dados	Royal	Supercor El Corte Inglés	V+cartón	100g	Salmón, sal y humo	R	4/10/03	4,06 €

Continuación tabla VIII.1.

Lomo de salmón ahumado	Ahumados Domínguez	Supercor El Corte Inglés	V	100g 250g	Salmón, sal, azúcar y humo natural	R	8/10/03	3,68-8,35 €
precortado	Eurosalmón	El Corte Inglés	V	400g	Salmón, sal, azúcar y humo natural	R	23/10/03	12,45 €
Solomillo de salmón ahumado	Skandia	Mercadona	V+cartón	150g	Salmón, sal, azúcar y maderas nobles	R	27/10/03	3,95 € Fabricado por Vensy España
Lomo imperial de salmón escocés	La balinesa	Supercor	V+cartón	265g	Salmón escocés superior, sal, azúcar y humo natural	R	2/10/03	8,95 € Horno artesanal
Lomito Imperial	La balinesa	Supercor	V+cartón	545g	Salmón escocés superior, sal, azúcar y humo natural	R	2/10/03	18,48 € Horno artesanal
Ventresca de salmón escocés	La balinesa	Supercor El Corte Inglés	V sobre bandeja plata	450g	Salmón escocés superior, sal, azúcar y humo natural	R	1/10/03	10,85 € Horno artesanal
Lomito de salmón escocés	La balinesa	Supercor	V	88g	Salmón escocés, sal, azúcar y humo natural (de maderas nobles)	R	14/10/03	3,15 € Horno artesanal
Salmón ahumado en lonchas	Ahumados Domínguez	Supercor El Corte Inglés	Lata	190g 125g	Salmón, aceite vegetal, sal, azúcar y humo natural	R	2/10/03	3,87 € Acuicultura
<i>Salmón marinado</i>								
Salmón marinado	Martiko	Supercor	V+cartón	100g	Salmón, sal, azúcar, eneldo y especias	R	7/10/03	2,64 € 2,15 €
Salmón marinado en lonchas	Skandia	Mercadona	V+cartón	80g	Salmón ahumado, sal, azúcar, eneldo, especias	R	13/10/03	Fabricado por Vensy España
Salmón marinado precortado	Carrefour	Carrefour	V	100g	Salmón, sal, azúcar, eneldo y especias	R	29/10/03	2,00 € Salmón criado en Noruega

Continuación tabla VIII.1.

Productos de salmón ahumado									
Salmón ahumado	Noly	Supercor	Lata	110 g 78 g	Salmón, aceite, sal y extracto de humo	T _{amb}	2006	1,73 €	
Salmón ahumado en aceite	Hacendado	Mercadona	Lata	182 g 100 g	Salmón ahumado, aceite de girasol, sal, azúcar y humo de madera de haya	R	15/10/03	2,25 € Fabricado por Vensy España	
Salmón ahumado en aceite	Delmar	EL Corte Inglés	MAP	200 g 100 g	Salmón, aceite, sal fina, azúcar blanquilla y humo de maderas nobles	R	11/10/03	4,95 €	
Crema de salmón ahumado	Skandia	Mercadona	V	100 g	Salmón ahumado (25%), queso, margarina vegetal, sal, antiox E-330, color E-110 y E-124, conser E-200, estabil E-407 y agua	R	12/11/03	1,15 €	
Tartar de salmón ahumado	Benfumat	Supercor El Corte Inglés	V	200 g	Salmón, sal, azúcar, escalonia, limón, vodka, limón, especias y humo natural	R	12/10/03	8,05 €	
Bacalao									
Bacalao ahumado en lonchas	Hacendado	Mercadona	V	80 g	Bacalao, sal, azúcar, humo de madera de haya	R	27/10/03	2,86 €	
	Royal	Carrefour	V	100 g	Bacalao, sal y humo	R	18/10/03	3,65 €	
	Skandia	Carrefour	V+caja	100 g	Bacalao, sal, azúcar y humo	R	6/10/03	4,40 €	
	Eurosalmón	El Corte Inglés	V	100 g	Bacalao, sal, azúcar, humo natural	R	10/10/03	4,49 € Fabricado por Salmonsur	
Bacalao ahumado en aceite	Hacendado	Mercadona	Lata	180 g 80 g	Bacalao, aceite girasol, sal, azúcar y humo natural	R	13/10/03	3,01 €	
Bacalao ahumado en lonchas en aceite de oliva	El Corte Inglés	Supercor El Corte Inglés	Tarrina V	125 g	Bacalao, sal, azúcar, aceite de oliva y humo natural	R	06/10/03	5,83 €	

Continuación tabla VIII.1.

	Ahumados Domínguez	El Corte Inglés	Lata	190 g 125 g	Bacalo, tomate, aceite vegetal, cebolla, ajo, aceitunas negras, sal, azúcar, humo natural	R	13/10/03	
Bacalao ahumado en aceite	Delmar	El Corte Inglés	Bandeja +MAP	200 g 100 g	Bacalao, aceite, sal fina, azúcar blanquilla, humo de maderas nobles	R	11/10/03	Bandeja de plástico con tapa
Taquitos de bacalao ahumado	Skandia	Carrefour	V+caja		Bacalao ahumado (97%), sal, azúcar y humo maderas nobles	R	20/10/03	
Hígado de bacalao ahumado en su propio aceite	Ubago	Mercadona	Lata	121 g	Hígado de bacalao, aceite, sal	T _{amb}		1,34 €
Trucha								
Trucha ahumada	Benfumat	Supercor El Corte Inglés	V	100 g	Trucha, sal, azúcar y humo natural	R	9/10/03	3,39 €
	La balinesa	Supercor El Corte Inglés	V	100 g	Trucha, sal, azúcar y humo natural	R	14/0/03	2,67 €
	El Corte Inglés	Supercor El Corte Inglés	V	100 g	Trucha, sal, azúcar y humo natural	R	29/09/03	Horno artesano 2,60 €
	Hacendado	Mercadona	V	100 g	Trucha, sal, azúcar y humo natural	R	27/10/03	1,90 € Fabricado por Vensy España
	Eurosalmón	El Corte Inglés	V	100 g	Trucha arco iris, sal, azúcar y humo natural	R	03/10/03	2,45 € Trucha de Noruega
	Royal	Carrefour	V	100 g	Trucha, sal y humo natural	R	17/10/03	2,90 €
	Ahumados Domínguez	Supercor El Corte Inglés	Lata	190 g 125 g	Trucha arcoiris, aceite vegetal, sal, azúcar y humo natural	R	1/10/03	3,87 € Trucha de acuicultura

Continuación tabla VIII.1.

Anchoa								
Anchoa ahumada	Royal	Carrefour	V	100 g	Anchoa, sal y humo	R	20/10/03	4,55 €
Anchoa ahumada en aceite	Gimar	El Corte Inglés	Tarrina plástico	150 g 100 g	Anchoa, aceite vegetal, sal, azúcar y humo	R	20/10/03	3,25 €
Anchoa ahumada en filetes	Ahumados Domínguez	Supercor El Corte Inglés	Lata	190 g 125 g	Boquerón, sal, aceite vegetal y humo natural	R	2/10/03	5,90 € Pesca extractiva (Atlántico Norte y otras zonas)
Anguila								
Anguila ahumada	Benfumat	Supercor El Corte Inglés	V	100 g	Anguila, sal, azúcar y humo natural	R	3/10/03	7,45 €
	Sabal	El Corte Inglés	V	100 g	Anguila, sal, azúcar y humo natural	R	17/10/03	4,75 €
Arenque								
Arenque ahumado	Hacendado	Mercadona	V	125 g	Arenque, sal, azúcar, conservantes E-211, antiox E-300, humo madera haya	R	27/10/03	1,95 €
Arenque salado ahumado	Ricardo Fuentes e hijos	Mercadona	V	262 g	Arenque, sal, humo natural	R	10/11/03	1,42 € Pieza entera
Atún								
Atún ahumado	Hacendado	Mercadona	V	100 g	Atún, sal, azúcar, humo madera haya	R	3/10/03	2,25 € Océano Pacífico Fabricado por Vensy España
	Skandia	Carrefour	V + caja	100 g	Atún, sal, azúcar y humo natural	R	6/10/03	2,95 €
Esturión								
Esturión ahumado	Sabal	El Corte Inglés	V	100 g	Esturión, sal, azúcar, hierbas aromáticas, humo natural	R	24/10/03	3,19 €

Continuación tabla VIII.1.

Lubina								
Lubina ahumada	Sabal	El Corte Inglés	V	100 g	Lubina, sal, azúcar, y humo natural	R	10/10/03	2,55 €
Palometa								
Palometa ahumada	Hacendado	Mercadona	V	100 g	Palometa ahumada, sal, azúcar, color E-124, E-110, con E-210 y humo de haya	R	24/10/03	2,04 € Vensy España
	Skandia	Carrefour	V	100g	Palometa, sal, azúcar, colorantes E-124, E-110 y conservantes E-211	R	6/10/03	2,40 €
	Hacendado	Mercadona	Lata	180g 100g	Palometa, aceite girasol, sal, azúcar, col E-124, E-110, con E-211, humo de haya	R	13/10/03	2,25 €
Pez espada								
Pez espada ahumado	Benfumat	Supercor El Corte Inglés	V	100g	Pez espada, sal, azúcar y humo natural	R	30/09/03	4,90 €
	Skandia	Carrefour	V + caja	100g	Pez espada, sal, azúcar y humo natural	R	6/10/03	4,40 €
Tablas de ahumados								
Surtido de ahumados	Ahumados Domínguez El Corte Inglés	Supercor	V	250g	Salmón, trucha arcoiris, sal, azúcar, humo natural y aceite vegetal	R	4/10/03	6,27 € Salmón: acuicult Noruega Trucha : Francia y otras zonas
Tabla de ahumados	Skandia	El Corte Inglés	V	140g	Salmón, atún, bacalao, anchoas, sal, azúcar y humo natural	R	20/10/03	5,69 €
Tabla de ahumados	Hacendado	Mercadona	V	140g	Salmón, atún, bacalao, anchoas, sal, azúcar y humo de madera de haya	R	15/10/03	4,77 €

¹ Env (tipo de envasado): V: Envasado a vacío; MAP: Envasado en atmósfera modificada

² Pn: peso neto del envase

³ Cons (temperatura de almacenamiento): R: Refrigeración (4 °C); T_{amb}: conservación a temperatura ambiente

ANEXO B

Tabla VIII.2. Nomenclatura utilizada en el capítulo IV. Abreviaturas empleadas para los términos citados a lo largo de trabajo así como sus unidades correspondientes.

<i>Nombre</i>	<i>Definición</i>	<i>Unidades</i>
L	Longitud del pescado (incluyendo cabeza)	cm
a	Anchura o grosor del pescado entero	cm
M	Peso del pescado entero	g
P ₁	Pieza del filete cercana a la cabeza	-
P ₂	Pieza centro del filete	-
P ₃	Cola	-
A	Superficie de contacto pescado-sal	cm ²
e	Espesor de las piezas o filetes de lubina	cm
V	Volumen de las piezas o filetes de lubina	cm ³
M ₀ ^o	Peso inicial del filete	g
M ^o	Peso del filete después tras el proceso de salado, los subíndices t y j indican tiempo de salado y nivel de sal objetivo, respectivamente	g
x ₀ ^w	Fracción másica de agua del pescado fresco	g H ₂ O/g pescado
x ^w	Fracción másica de agua del pescado tras el proceso de salado, los subíndices t y j indican tiempo de salado y nivel de sal objetivo, respectivamente	g H ₂ O/g pescado
x ₀ ^{NaCl}	Fracción másica de cloruro sódico del pescado fresco	g NaCl/g pescado
x ^{NaCl}	Fracción másica de cloruro sódico del pescado tras el proceso de salado, los subíndices t y j indican tiempo de salado y nivel de sal objetivo, respectivamente	g NaCl/g pescado
χ ^{NaCl}	razón másica de cloruro sódico, los subíndices t y j indican tiempo de salado y nivel de sal objetivo, respectivamente	g NaCl/g materia seca

z_0^{NaCl}	Fracción másica de cloruro sódico inicial en la fase líquida de la muestra	g NaCl/g fase líquida
z_t^{NaCl}	fracción másica de sal en la fase líquida de la muestra tras el proceso de salado	g NaCl/g fase líquida
z_e^{NaCl}	fracción másica de sal en la fase líquida de la muestra en equilibrio con el entorno.	g NaCl/g fase líquida
Y_t^{NaCl}	fuerza impulsora calculada con la fracción másica de sal en la fase líquida	
D_e	difusividad efectiva de la sal	m^2/s
t	tiempo	
l	Espesor (e)	mm
ΔM_t^o	Variación de masa total, en el estudio cinético de salado	
ΔM_t^w	Variación de masa de agua, en el estudio cinético de salado	
ΔM_t^{NaCl}	Variación de masa de cloruro sódico, en el estudio cinético de salado	
ΔM_j^o	Variación de masa total, en el estudio cinético de salado	
ΔM_j^w	Variación de masa de agua, en el estudio termodinámico de salado	
ΔM_j^{NaCl}	Variación de masa de cloruro sódico, en el estudio termodinámico de salado	
ΔM_j^{ss}	Variación de masa de sólidos solubles, en el estudio termodinámico de salado	
x^{ss}	Fracción másica de sólidos solubles en el pescado tras el proceso de salado	g ss/g pescado
X^{ss}	razón másica de sólidos solubles	g ss/g materia seca

ANEXO C**Tabla VIII.3.**

Puntuaciones de los atributos evaluados obtenidas en el análisis sensorial de lubina ahumada y salada con 4 formulaciones diferentes de sales. Puntuaciones promedio \pm SD (n=50).

Mezcla de sales	Olor	Aspecto	Color	Sabor	Apreciación global
100% NaCl	3,5 \pm 0,8 a	3,4 \pm 0,8 a	3,4 \pm 0,8 a	3,6 \pm 0,8 a	3,7 \pm 0,6 a
75% NaCl-25% KCl	3,8 \pm 0,8 a	3,4 \pm 0,8 a	3,4 \pm 0,8 a	3,5 \pm 0,9 a	3,6 \pm 0,8 a
50% NaCl-50% KCl	3,5 \pm 0,9 a	3,5 \pm 0,9 a	3,5 \pm 0,8 a	3,3 \pm 0,9 ab	3,4 \pm 0,8 ab
25% NaCl-75% KCl	3,5 \pm 0,8 a	3,3 \pm 0,9 a	3,4 \pm 0,9 a	3,0 \pm 1,1 b	3,2 \pm 0,9 b
α	ns	ns	ns	**	*

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): n.s: no significativo, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

ANEXO C

Tabla VIII.4. Resultados de los ANOVAS realizados para los parámetros físico-químicos en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. CRA: capacidad de retención de agua (g H₂O retenida/100g H₂O). Valores promedio ± SD (n=12).

	100% NaCl	50% NaCl-50% KCl	α
Humedad (g/100 g)	67 ± 3	66 ± 3	ns
Cenizas (g/100 g)	5,6 ± 0,5	7,2 ± 0,2	***
Na ⁺ (mg/100 g)	1279 ± 116	926 ± 75	***
K ⁺ (mg/100 g)	467 ± 24	1653 ± 35	***
Mg ²⁺ (mg/100 g)	34 ± 4	52 ± 9	***
Cl ⁻ (mg/100 g)	1741 ± 167	1907 ± 298	**
pH	6,04 ± 0,08	6,23 ± 0,06	***
a _w	0,958 ± 0,002	0,956 ± 0,003	ns
CRA	88 ± 2	87 ± 2	ns

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas. Nivel de significación (α): n.s: no significativo, ** p<0,01, *** p<0,001.

Tabla VIII.5. Resultados de los ANOVAS realizados para los parámetros químicos indicadores del deterioro, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio ± SD (n=12).

	100% NaCl	50% NaCl-50% KCl	α
N-BVT (mg N/100 g)	12,6 ± 0,4	11,8 ± 0,7	ns
N-TMA (mg N/100 g)	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,3	ns
TBA (mg malonaldehído/Kg)	0,26 ± 0,02	0,28 ± 0,03	ns

Nivel de significación (α): n.s: no significativo.

Tabla VIII.6. Resultados de los ANOVAS realizados para el contenido en aminas biógenas, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	100% NaCl	50% NaCl-50% KCl	α
Histamina	2,7 \pm 0,72	1,21 \pm 1,68	ns
Triptamina	ND	ND	-
Tiramina	1,93 \pm 0,79	1,75 \pm 1,08	ns
Putrescina	ND	ND	-
Cadaverina	ND	ND	-
Espermidina	4,31 \pm 0,78	3,98 \pm 0,58	ns
Espermina	4,08 \pm 2,67	3,18 \pm 1,13	ns

¹ND: no detectado

Letras diferentes en una misma fila indican la existencia de diferencias significativas.
Nivel de significación (α): n.s: no significativo.

Tabla VIII.7. Resultados de los ANOVAS realizados para las coordenadas de color, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	100% NaCl	50% NaCl-50% KCl	α
L*	46,1 \pm 2,0	45,8 \pm 1,7	ns
a*	-0,8 \pm 0,1	0,03 \pm 0,8	*
b*	9,4 \pm 1,5	6,23 \pm 0,06	ns
C _{ab} *	9,5 \pm 1,5	10,4 \pm 2,1	ns
h _{ab} *	96,3 \pm 6,5	91,1 \pm 5,3	*
ΔE	7,6 \pm 1,9	6,7 \pm 1,8	ns

Nivel de significación (α): n.s: no significativo, * p<0,5.

Tabla VIII.8. Resultados de los ANOVAS realizados para los parámetros mecánicos, en la caracterización inicial de las muestras de lubina ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	100% NaCl	50% NaCl-50% KCl	α
D (N)	44 \pm 3	39 \pm 1	ns
C	0,55 \pm 0,01	0,59 \pm 0,01	ns
A (g/s)	-164 \pm 11	-140 \pm 25	ns
E	0,87 \pm 0,04	0,85 \pm 0,03	ns
G (N)	24,4 \pm 1,2	21,8 \pm 0,9	*
M (N)	21,2 \pm 1,8	18,6 \pm 0,2	ns
F _{max} (N)	2,8 \pm 0,3	2,7 \pm 0,3	ns

Nivel de significación (α): n.s: no significativo, * p<0,5.

Tabla VIII.9. Resultados de los ANOVAS realizados para los recuentos microbiológicos de lubina fresca y de lubina recién ahumada, salada con 100% NaCl y con 50% NaCl-50% KCl. Valores promedio \pm SD (n=12).

	100% NaCl	50% NaCl-50% KCl	α
Mesófilos*	3,3 \pm 0,6	3,7 \pm 0,3	ns
Mohos y levaduras*	3,6 \pm 0,3	3,3 \pm 0,3	ns
Enterobacterias*	< 1	< 1	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (NMP/g)	< 3	< 3	-
<i>Clostridium</i> sulfito-reductores*	< 1	< 1	-
<i>Salmonella</i>	Ausencia/25 g	Ausencia/25g	-
<i>Streptococcus faecalis</i> *	< 1	< 1	-
Bacterias productoras H ₂ S*	< 2	< 2	-

