

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE
INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO
NATURAL



Evaluación de la calidad del filete de lubina (Dicentrarchus labrax) alimentada con piensos ecológicos

PROYECTO FIN DE CARRERA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS
ALIMENTOS

ALUMNA: Clara Martínez García

TUTORAS: Ana Tomás Vidal y Silvia Martínez Llorens

Curso Académico: 2019-2020

VALENCIA, 27 de abril de 2020

RESUMEN

El pescado es uno de los alimentos más consumidos en muchos países y la lubina, en concreto, es uno de los pescados de producción acuícola más popular en Europa. Debido a la escasez cada vez mayor de harina y aceite de pescado y al mayor conocimiento de los impactos que su obtención puede causar al medio ambiente, existe una creciente demanda de subproductos más sostenibles para la formulación de piensos.

Así, en el presente trabajo se estudió el efecto de una alimentación ecológica y el nivel de inclusión de la harina de pescado en la calidad del filete de la lubina. Para ello, se realizó un experimento con una duración de 196 días, donde se alimentaron ejemplares de lubina con 4 piensos experimentales diferentes; en 3 de ellos se incluyó harina de pescado en un 25, 30, ó 35% e ingredientes vegetales ecológicos. Por otra parte, se utilizó un pienso control con un 30% de inclusión de harina de pescado y formulado con ingredientes convencionales. Para la sustitución de harina de pescado se utilizó principalmente torta de soja. Una vez finalizado el experimento se llevaron a cabo los análisis de los filetes de las lubinas: macronutrientes, aminoácidos libres y ácidos grasos para establecer diferencias entre las muestras correspondientes a los diferentes tratamientos. No se detectaron diferencias significativas en la composición proximal ni en el perfil de ácidos grasos, aunque sí las hubo en el perfil de aminoácidos libres. También se llevó a cabo una prueba CATA (*CheckAllThatApply*) con 100 jueces no entrenados para conocer las preferencias del consumidor. Cuando se preguntó a los jueces por su intención de compra, el tratamiento experimental más señalado fue el correspondiente al pienso ecológico con un nivel de inclusión de harina de pescado del 30%, y el menos señalado el correspondiente a un nivel de inclusión del 25%.

Palabras clave: Pienso, Ecológico, Harina de, Pescado, Lubina, Análisis sensorial, CATA, Aminoácidos libres, Ácidos grasos.

ABSTRACT

Fish is one of the most eaten food in all over the world and the sea bass is one of the main aquaculture production species in Europe. Due the reducing supplies of fish meal and fish oil and the greater knowledge of the impacts that the obtaining can cause to the environment, there is a growing demand for more sustainable by-products for feed formulation.

In the present project the effect of an organic diet and the inclusion levels of fishmeal on the quality of the sea bass flesh is studied. The experiment was performed for 196 days where sea bass were fed with three experimental feeds with an inclusion of 25, 30, or 35% of fishmeal and organic vegetable ingredients. Moreover, a control feed with a 30% inclusion of fishmeal and formulated with conventional ingredients was used. Soybean meal was mainly used to replace fishmeal. Once the experiment is completed the analysis of the sea bass flesh were carried out: dry matter, ash, crude protein, crude fat, free amino acids and fatty acids for making differences between the samples of different treatments. There were no significant differences in the proximal composition or in the fatty acid profile, although, there were in the free amino acid profile. A CATA test (*CheckAllThatApply*) was also carried out with 100 untrained judges to find out consumer preferences. When judges were asked about their intention to purchase the most chosen experimental treatment was the corresponding to a 30% inclusion level of fishmeal and the least indicated was the corresponding to a 25% inclusion level.

Key words: Feed, Organic, Meal, Fish, Sea bass, Sensory analysis, CATA, Free amino acids, Fatty acids.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 PANORAMA ACTUAL: PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE PESCADO	1
1.2 ALIMENTACIÓN EN ACUICULTURA	3
1.3 ACUICULTURA ECOLÓGICA.....	5
1.4 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL FILETE DE PESCADO	7
1.4.1 Composición nutricional de la lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>).....	8
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	11
3.1 CONDICIONES DEL EXPERIMENTO	11
3.2 PIENSOS EXPERIMENTALES	12
3.3 CONTROL DE CRECIMIENTO	15
3.4 PARÁMETROS BIOMÉTRICOS	16
3.5 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO	17
3.5.1 Preparación de muestras	17
3.5.2 Determinación materia seca.....	18
3.5.3 Determinación de cenizas	18
3.5.4 Determinación de grasa bruta	18
3.5.5 Determinación de ácidos grasos	19
3.5.6 Determinación de proteína bruta.....	19
3.5.7 Determinación de aminoácidos libres	19
3.6 ANÁLISIS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICA DEL FILETE DE LUBINA	19
3.6.1 Preparación de la CATA	20
3.6.2 Encuesta de consumidores	21
3.6.3 CATA (<i>CheckAllThatApply</i>)	21
3.6.4 <i>Mapping</i> (mapa proyectivo de preferencias)	21
3.6.5 Intención de compra.....	22
3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1 PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOMÉTRICOS	23
4.2 COMPOSICIÓN PROXIMAL	25
4.3 PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y AMINOÁCIDOS LIBRES	26

4.4 PRUEBA A CONSUMIDORES SOBRE LA CALIDAD ORGANOLÉPTICA DEL FILETE DE LUBINA	31
4.4.1 Encuesta de consumidores	31
4.4.2 CATA (<i>CheckAllThatApply</i>)	32
4.4.3 <i>Mapping</i> (mapa proyectivo de preferencias)	35
4.4.4 Intención de compra.....	36
5. CONCLUSIONES	38
6. REFERENCIAS	40
7. ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Producción y utilización de la pesca y la acuicultura a nivel mundial...	1
Tabla 2: Consumo aparente total y per cápita de pescado por región y grupo económico, 2015.....	2
Tabla 3: Valores medios para los parámetros del agua controlados durante el experimento	12
Tabla 4: Ingredientes y composición nutricional de los piensos.....	13
Tabla 5: Ácidos grasos en los piensos experimentales	14
Tabla 6: Tanques correspondientes a cada tratamiento	17
Tabla 7: Códigos para la identificación de cada muestra según el tratamiento en la prueba CATA.....	20
Tabla 8: Resultados de crecimiento y supervivencia de los peces al final del experimento	24
Tabla 9: Parámetros biométricos al final de la prueba de las lubinas alimentadas con los piensos experimentales	25
Tabla 10: Composición proximal de los filetes de lubina alimentada con los diferentes piensos experimentales.....	25
Tabla 11: Perfil de ácidos grasos del filete de lubina alimentada con los diferentes piensos experimentales.....	27
Tabla 12: Perfil de aminoácidos libres del filete de lubina alimentada con diferentes piensos experimentales	29
Tabla 13: Intención de compra (test de Kruskal-Wallis) de las muestras de lubina (incluyendo la referencia comercial).....	36
Tabla 14: Intención de compra (test de Kruskal-Wallis) de las muestras de lubina (excluyendo la referencia comercial)	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Producción mundial de harina de pescado y aceite de pescado, 1964-2011	4
Figura 2: Consumo de pescado ecológico en volumen	6
Figura 3: Tanques del Laboratorio de Acuicultura de la UPV	11
Figura 4: Sala de catas del Departamento de Ciencia Animal de la UPV	20
Figura 5: Mapa de preferencias para los tratamientos ensayados	33
Figura 6: Análisis de atributos necesarios y su influencia sobre la media del <i>liking</i>	34
Figura 7: Efectos sobre la media vs % consumidores que han utilizado cada atributo	34
Figura 8: Mapa proyectivo de preferencias considerando la referencia comercial (ideal).....	35

1. INTRODUCCIÓN

1.1 PANORAMA ACTUAL: PRODUCCIÓN Y CONSUMO DE PESCADO

El pescado se trata de uno de los alimentos más consumidos en muchos países. En 2015, representó alrededor del 17% de la proteína animal y el 7% de todas las proteínas consumidas por la población mundial, por ello, el sector acuícola crece a un ritmo elevado en comparación a otros sectores importantes de la producción de alimentos, alcanzando la producción mundial de acuicultura en el año 2016 el valor de 80,0 millones de toneladas de peces comestibles (FAO, 2018) (Tabla 1). Esto es debido, en parte, a la disminución de la pesca de captura a causa de la sobreexplotación, lo que ha producido un aumento de los precios en las especies objetivo. En estas condiciones, la acuicultura posee las condiciones para prosperar, reduciendo más aún el valor de la pesca de captura (Diana, 2009).

Tabla 1. Producción y utilización de la pesca y la acuicultura a nivel mundial (millones de toneladas) (FAO, 2018).

Categoría	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Producción						
Pesca de captura						
Continental	10,7	11,2	11,2	11,3	11,4	11,6
Marina	81,5	78,4	79,4	79,9	81,2	79,3
Pesca de captura total	92,2	89,5	90,6	91,2	92,7	90,9
Acuicultura						
Continental	38,6	42,0	44,8	46,9	48,6	51,4
Marina	23,2	24,4	25,4	26,8	27,5	28,7
Total de la acuicultura	61,8	66,4	70,2	73,7	76,1	80,0
Total de la pesca y la acuicultura a nivel mundial	154,0	156,0	160,7	164,9	168,7	170,9

China, con diferencia, fue el principal productor de pescado comestible en 2016. Este país ha producido una cantidad mayor que todo el resto del mundo cada año desde 1991. Los demás productores importantes en 2016 fueron la India, Indonesia, Vietnam, Bangladesh, Egipto y Noruega (FAO, 2018).

El pescado se trata de un alimento con un valor nutritivo muy elevado, ya que proporciona proteínas de gran calidad y una amplia diversidad de vitaminas y minerales. Además, las proteínas del pescado son de fácil digestión y alta calidad (Instituto de Salud Pública, 2005). En los últimos años ha crecido la

sensibilización pública acerca de estos beneficios para la salud, especialmente en los mercados desarrollados y de ingresos medios. En cuanto a los países de bajos ingresos, la importancia del pescado se ve acentuada por el hecho de que contiene muchos de los micronutrientes necesarios para subsanar algunas de las deficiencias nutricionales más generalizadas.

El consumo promedio de pescado per cápita varía de forma muy significativa entre los diferentes países y regiones debido a la influencia de factores económicos, culturales y geográficos. A pesar del consumo relativamente bajo de pescado, éste ha aumentado de forma continuada en zonas en desarrollo y en países de bajos ingresos, aunque sigue siendo considerablemente superior en los países desarrollados (FAO, 2018) (Tabla 2).

Tabla 1. Consumo aparente total y per cápita de pescado por región y grupo económico, 2015 (FAO, 2018)

Región/grupo económico	Consumo total de peces comestibles (millones de toneladas) (equivalente en peso vivo)	Consumo de peces comestibles (kg/año)
Mundo	148,8	20,2
Mundo (excepto China)	92,9	15,5
África	11,7	9,9
América del Norte	7,7	21,6
América Latina y el Caribe	6,2	9,8
Asia	105,6	24,0
Europa	16,6	22,5
Oceanía	1,0	25,0
Países desarrollados	31,4	24,9
Países menos adelantados	12,0	12,6
Otros países en desarrollo	105,4	20,5
Países de ingresos bajos y con déficit de alimentos	20,8	7,7

Aunque en España se comen menos productos acuícolas que hace algunos años, el consumo per cápita en 2017 fue de 23,73 kg, según el *Informe del consumo de alimentación de 2017* del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 2018).

1.2 ALIMENTACIÓN EN ACUICULTURA

La harina de pescado ha sido el ingrediente más utilizado como fuente proteica en los piensos acuícolas hasta hace escasos años debido a que se trata de una materia prima de origen animal con una elevada concentración proteica y con un valor nutritivo muy alto por su excelente equilibrio en la composición de aminoácidos y su adecuada composición en ácidos grasos para los peces (Robaina, 1998).

Actualmente, las especies más producidas en Europa son fundamentalmente carnívoras, por lo que los piensos deben tener un alto porcentaje de proteína y, hasta hace unos años, gran parte de la misma procedía de la harina de pescado (Arrijo, 2005). Además, los peces marinos son ricos en una gran variedad de ácidos grasos saturados y monoinsaturados los cuales sintetizan ellos mismos, mientras que los poliinsaturados tienen que ser introducidos en la dieta. El ácido araquidónico (ARA), el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) son los llamados ácidos grasos altamente poliinsaturados (HUFAs) y poseen un papel muy destacado en importantes funciones en especies marinas (Izquierdo, 2005). En ellas, los HUFAs se consideran esenciales por su gran importancia en la permeabilidad de las membranas y otros procesos relacionados con la osmorregulación (Hurtado, 2004).

Es por ello por lo que el aceite y la harina de pescado se consideran excelentes componentes de los piensos acuícolas, pero su uso presenta también una serie de problemas tanto económicos como medioambientales.

La producción de harina de pescado y aceite de pescado es una industria con una gran dependencia de la pesca de peces pelágicos. Estos suministros son limitados, por lo que se han ido reduciendo debido a la pesca masiva de este tipo de pescado (OECD, 2010). Por ello, tras alcanzarse unos máximos de producción de 7 millones de toneladas de harina y 1,5 millones de toneladas de

aceite de pescado en la década de los años noventa, la producción se ha reducido a unos 4 y 0,9 millones de toneladas respectivamente (Figura 1).

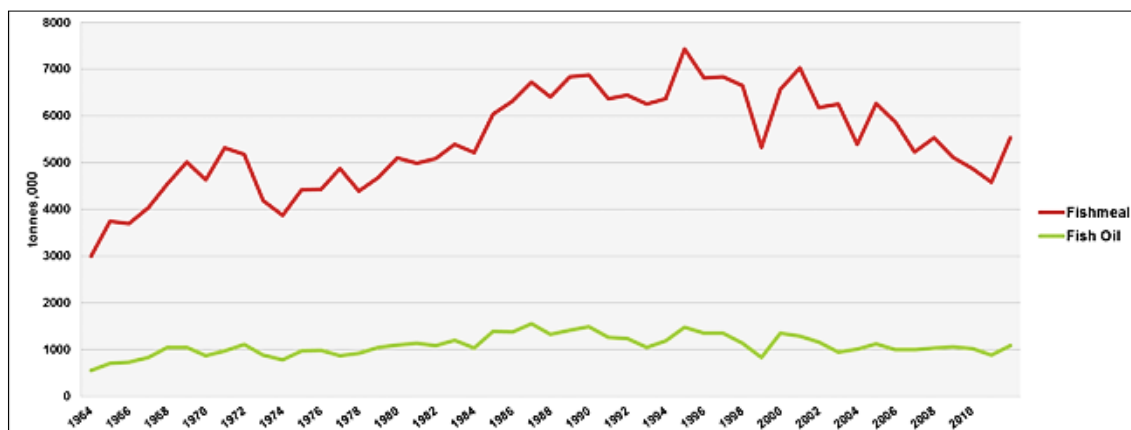


Figura 1. Producción mundial de harina de pescado y aceite de pescado, 1964-2011 (millones de toneladas) (IFFO)

Esta escasez de las materias primas de origen marino, junto con el incremento de la demanda como consecuencia del aumento de la producción acuícola mundial, ha originado un considerable incremento del precio de la harina y del aceite de pescado (Jover, 2012).

Al inconveniente del elevado costo de los derivados de pescado habría que sumar los problemas añadidos por su variabilidad en cuanto a disponibilidad y a composición a lo largo del año, y entre unos años y otros (Robaina, 1998), así como los problemas medioambientales que puede causar la pesca intensiva de peces pelágicos. El colapso en las reservas de pequeños peces pelágicos no sólo es un problema para la acuicultura. Estas especies, utilizadas para la obtención de harina y aceite de pescado, son vitales para el ecosistema marino, pues son alimento para otros peces, aves y mamíferos (Benigno, 2003).

En los próximos años, la producción de aceite y harina de pescado puede no alcanzar las cantidades requeridas para la acuicultura, lo que significa que las pesquerías que los proporcionan habrán alcanzado su límite de sostenibilidad (Nasopoulou y Zabetakis, 2012). Por ello, el principal objetivo de la acuicultura en los últimos años es reducir los niveles de estos derivados de pescado en los piensos para peces, por lo que se han realizado diversas investigaciones en las que se han estudiado ingredientes alternativos para su utilización en piensos acuícolas, principalmente de origen vegetal.

En consecuencia, la creciente demanda de nuevos subproductos para fabricar piensos y disminuir la cantidad de pescado de captura para la producción de harina y aceite de pescado ha contribuido al pensamiento de una nueva solución que sea más respetable con el medio ambiente y con los recursos pesqueros.

1.3 ACUICULTURA ECOLÓGICA

Según el Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, la producción ecológica, también llamada biológica u orgánica, es un sistema de gestión y producción agroalimentaria que combina las mejores prácticas ambientales junto con un elevado nivel de biodiversidad y de preservación de los recursos naturales, así como la aplicación de normas exigentes sobre bienestar animal, con la finalidad de obtener una producción conforme a las preferencias de determinados consumidores por los productos obtenidos a partir de sustancias y procesos naturales (MAPA).

La acuicultura ecológica se basa en la ausencia de deterioro del medio en el que se ubican las explotaciones; la utilización de agua sin contaminantes; la preferencia por el policultivo; la ausencia de organismos genéticamente modificados (OGM); la baja densidad de cultivo; el mantenimiento del comportamiento típico de las especies; la sanidad animal basada en medidas de prevención; el uso del oxígeno para la mejora del bienestar animal, la densidad de cultivo controlada; la alimentación basada en pienso de fuentes sostenibles y sin productos químicos de síntesis; el bienestar animal y la producción de alimentos de calidad con todas las garantías sanitarias (COMITÉ DE AGRICULTURA ECOLÓGICA DE LA COMUNIDAD VALENCIANA).

El interés por los productos alimenticios con características y certificaciones ecológicas ha crecido en las últimas décadas por parte de los consumidores de los países industrializados. Además de la creciente preocupación de la sociedad por la contaminación y el medio ambiente, la mayoría de los consumidores perciben que estos productos son poco procesados, cultivados naturalmente y más saludables que los productos alimenticios convencionales, lo que ha supuesto un aumento de la demanda de productos ecológicos (Ricci et al., 2018).

En Alemania, España, Francia, Italia y el Reino Unido se consumieron 45.000 toneladas de pescado y productos pesqueros no procesados en 2018 procedentes de la producción ecológica. Esto supuso un aumento del 4% con respecto a 2017, pero, en comparación con 2014, representó un aumento del 28%, registrando un incremento del porcentaje de productos ecológicos dentro del consumo general de productos pesqueros no procesados (Figura 2) (EUMOFA, 2019).

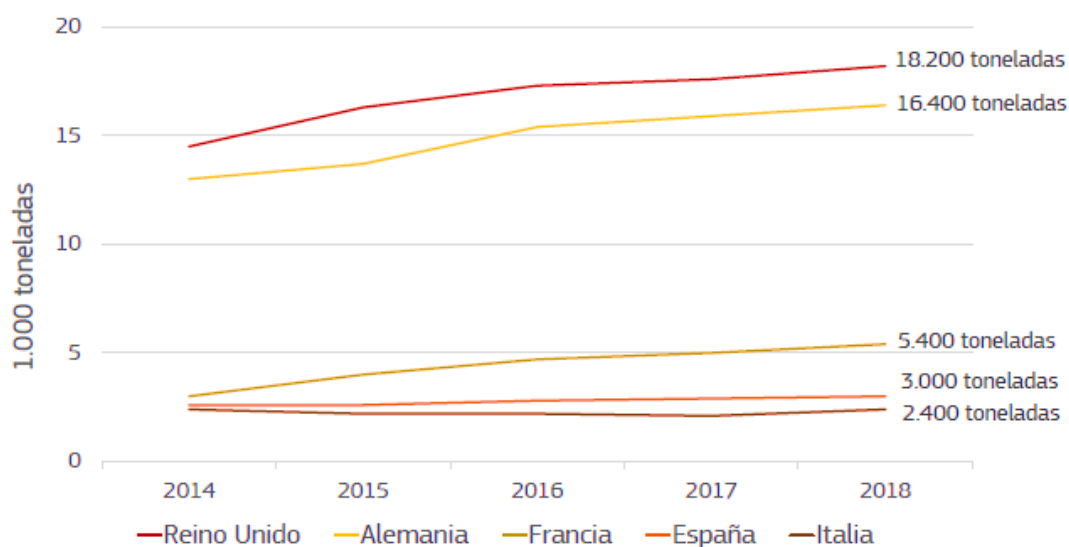


Figura 2: Consumo de pescado ecológico, en volumen (EUMOFA, 2019)

A pesar de esto, existen ciertos desafíos para el desarrollo de la acuicultura ecológica en Europa. Por una parte, es necesario desarrollar y armonizar estándares para la certificación ecológica y garantizar que se aplique solo a los sistemas de pesca y acuicultura bien administrados y que cumplan con todos los criterios de sostenibilidad apropiados, ya que desde mediados de la década de 1990 se han desarrollado diversos programas de certificación y estándares independientes, nacionales y privados para la acuicultura ecológica (Mente et al., 2011).

Por otra parte, las reglamentaciones de la Unión Europea imponen importantes restricciones, por ejemplo, al origen y al procesamiento de los ingredientes de los piensos (Berge y Jokumsen, 2015). Para que un pienso destinado a la acuicultura sea considerado ecológico, la fracción vegetal de éste debe ser ecológica y la fracción derivada de animales acuáticos debe proceder de la

acuicultura ecológica o de pesquerías cuya sostenibilidad haya sido certificada. Además, no está permitido utilizar factores de crecimiento ni aminoácidos sintéticos, lo que limita mucho a la hora de su formulación si se quieren cubrir las necesidades de ciertos nutrientes esenciales para los peces. El resto de materias primas, así como aditivos y coadyuvantes, solo se pueden utilizar si han sido autorizados para su uso en la producción ecológica. Todas estas normativas se encuentran reflejadas en el Reglamento (UE) 2018/848 (Diario Oficial De La Unión Europea, 2018).

Los principales desafíos para el suministro de ingredientes alimenticios para la producción ecológica de peces carnívoros son aumentar la diversidad de ingredientes disponibles para equilibrar el perfil de aminoácidos sin el uso de aminoácidos sintéticos e identificar nuevas fuentes adecuadas para el suministro de EPA y DHA (Berge y Jokumsen, 2015).

1.4 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DEL FILETE DE PESCADO

Según la FAO (1998), la variación normal de cada uno de los componentes del filete de pescado es: agua (66-81%), proteína (16-21%), lípidos (0,2-21%), carbohidratos (<0,5%) y cenizas (1,2-1,5%).

El pescado es, además, una fuente importante de ácidos grasos poliinsaturados esenciales (PUFA). La grasa de pescado contiene cantidades significativas de ácidos grasos omega-3, como el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5*n*-3) y docosahexaenoico (DHA, C22:6*n*-3), y omega-6, como el ácido araquidónico (ARA, C20:4*n*-6). Estos ácidos no se sintetizan en el cuerpo humano pero su inclusión en dietas humanas es esencial (Jabeen y Shakoory Chaudhry, 2011).

La importancia de los PUFA radica en la capacidad de transformarse dentro del organismo en otras formas biológicamente activas (Luchini, 2010). Tras ser ingeridos, se incorporan rápidamente a los fosfolípidos de las membranas celulares donde pueden ser liberados por enzimas lipooxigenasas y ciclooxigenasas, originando productos con potentes propiedades citoprotectoras y especialmente antiinflamatorias (Valenzuela et al., 2011).

Por otra parte, en el pescado se encuentran cantidades relevantes de minerales como el fósforo, potasio, sodio, magnesio, hierro, yodo y cloro. Además, aquellos que se ingieren con espinas aportan una elevada cantidad de calcio.

Con relación a las vitaminas, destacan las del grupo B (B1, B2, B6 y B12), la A, D y en menor proporción la E. El aceite de hígado de pescado constituye la fuente natural más concentrada de vitamina A y de vitamina D (MINISTERIO DE SALUD PROTECCIÓN SOCIAL DE COLOMBIA, 2012).

La composición nutricional del pescado (de diferentes especies o incluso de diferentes ejemplares de una misma especie) se ve alterada por diversos factores como edad, sexo, estación del año, alimentación y otros factores relacionados con el medio (FAO, 1998).

En la producción acuícola, a pesar de que existen otros factores que afectan a la calidad del pescado, como lo es el sacrificio, la alimentación se considera la causante principal de las variaciones en la composición proximal del pescado. Existe una relación directa entre la ingesta lipídica y proteica en el almacén de grasa corporal, al menos en el músculo, aunque en otras partes se producen los mayores acúmulos: en el hígado si el pescado es magro o en la cavidad visceral si es graso.

Los estudios avalan que la composición de ácidos grasos en el músculo está directamente relacionada con el perfil de éstos en la dieta. Por ello, se ha demostrado que el hecho de utilizar fuentes de ácidos grasos de origen vegetal en sustitución del aceite de pescado en la alimentación de los peces origina una variación en su perfil lipídico (García-Ortega et al., 2016), concretamente, se han encontrado mayores cantidades de 18:1 n -9 (ácido oleico), 18:2 n -6 (ácido linoleico) y 18:3 n -3 (ácido linolénico), además de una disminución de ácidos grasos altamente insaturados n -3 y ácidos grasos saturados. (Benedito-Palos et al., 2008). Dicha variación en el perfil lipídico puede afectar a la calidad del filete y a las características organolépticas de éste.

1.4.1 Composición nutricional de la lubina (*Dicentrarchus labrax*)

En lo que se refiere a la acumulación de lípidos, la lubina se trata de un pescado semigraso, ya que almacena los lípidos en el hígado y en las vísceras, y su

porcentaje de lípidos a nivel muscular es moderado. Posee una elevada cantidad de proteínas y un bajo contenido en grasas saturadas, aunque es alta en ácidos grasos omega-3. En cuanto a las vitaminas destaca el contenido en vitamina B6 y vitamina B12. Por otra parte, la lubina es fuente de fósforo y contiene altas cantidades de manganeso y selenio (MAPA, 2012).

Debido a que la lubina es uno de los peces más producidos en acuicultura en Europa, son diversos los estudios existentes que relacionan la alimentación, sobre todo dependiendo de las fuentes proteica y lipídica utilizada, con la calidad final (Ballestrazzi et al., 1994; Kaushik et al., 2004; Lanari et al., 1999).

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La lubina es una de las especies más consumidas en todo el Mediterráneo y su producción está basada principalmente en la acuicultura, lo cual hace de esta especie una buena candidata para producir de forma ecológica, lo que mejoraría en gran medida la sostenibilidad, rentabilidad e incluso la popularidad dentro de la acuicultura mediterránea.

Por ello, y debido a la gran influencia que tiene la alimentación de los peces en la calidad del filete, el objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del nivel de harina de pescado y la utilización de ingredientes ecológicos en el filete de lubina europea. Así, los objetivos parciales del mismo fueron la evaluación del efecto de este tipo de alimentación sobre:

- Crecimiento, supervivencia y parámetros nutritivos.
- Parámetros biométricos.
- Composición nutricional del filete: macronutrientes, ácidos grasos y aminoácidos libres.
- Calidad organoléptica del filete de lubina e intención de compra.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 CONDICIONES DEL EXPERIMENTO

El experimento se llevó a cabo en las granjas del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València (Figura 3). Se inició en mayo de 2018 y se prolongó hasta marzo de 2019, cuando las lubinas alcanzaron el peso medio comercial de aproximadamente 350 gramos. Cada uno de los piensos se ensayaron en tres tanques elegidos al azar. Cada uno de estos tanques (12 en total) contenía 50 lubinas de aproximadamente 40 gramos de peso medio inicial, siendo 600 el total de ejemplares del experimento.



Figura 3: Tanques del Laboratorio de Acuicultura de la UPV

Para la realización del experimento se utilizaron ejemplares juveniles de lubina (*Dicentrarchus labrax*) ecológica procedentes de la piscifactoría Sonrionansa, perteneciente al grupo Naturix y situada en Pesues (Cantabria).

Antes del comienzo del experimento se realizó un periodo de adaptación donde las lubinas fueron alimentadas con pienso ecológico comercial. Una vez comenzado el experimento, la alimentación se realizó dos veces al día de forma manual, hasta saciedad aparente, con el pienso correspondiente para cada tanque, a excepción de los sábados que solo se alimentaban por la mañana y los domingos que ayunaban.

Durante el experimento se realizó un seguimiento periódico de la temperatura del agua, el oxígeno disuelto, la salinidad, el pH y el nivel de amonio, nitratos y nitritos (éstos nunca alcanzaron valores tóxicos para los peces) (Tabla 3).

Tabla 3: Valores medios para los parámetros del agua controlados durante el experimento

Temperatura (°C)	21,5 ± 2,2
Oxígeno disuelto (mg/L)	7,6 ± 0,4
Salinidad (g/L)	16,1 ± 2,2
pH	7,0 ± 0,3
Amonio (mg/L)	0,18 ± 0,24

3.2 PIENSOS EXPERIMENTALES

Para la realización del experimento, se formularon cuatro piensos diferentes (Tabla 4):

- Tres piensos ecológicos: FM 35 ECO, FM 30 ECO, FM 25 ECO, con un 35, 30 y 25% respectivamente de harina de pescado en su composición y cumpliendo la normativa ecológica.
- Un pienso control, denominado FM 30 CONTROL, con un 30% de harina de pescado, pero sin ingredientes ecológicos y con ciertos aditivos añadidos (Tabla 4), los cuales en este caso sí están permitidos como, por ejemplo, aminoácidos libres.

Todos los piensos fueron formulados en las instalaciones de la UPV mediante un proceso de cocción-extrusión utilizando el extruder semi-industrial Clextal BC45, el cual se encuentra situado en una de las naves de las granjas.

En la siguiente tabla se muestran los porcentajes de cada ingrediente en cada uno de los piensos, así como sus valores nutricionales (Tabla 4).

Tabla 4: Ingredientes y composición nutricional de los piensos

	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
Materias primas (g/kg)				
Harina de pescado	250	300	350	300
Harina de trigo	-	-	-	179
Gluten	-	-	-	122
Harina de trigo ecológica	-	22	47	-
Torta de soja	-	-	-	218
Aceite de soja	-	-	-	72
Harina de soja ecológica	586	504	420	-
Harina de maíz eco	-	8	15	-
Harina de espelta eco	-	10	20	-
Aceite de soja eco	55	59	62	-
Aceite de Pescado	72	67	63	71
Fosfato de Calcio	27	20	13	20
Vitaminas ¹	10	10	10	10
Taurina	-	-	-	5
Metionina	-	-	-	3
Composición nutricional (% MS)				
Materia seca (%MS)	92,0	92,0	92,0	92,0
Proteína bruta (%PB)	46,1	46,7	47,1	47,2
Grasa bruta (%GB)	17,1	17,1	16,8	15,4
Cenizas (%C)	9,3	9,2	9,2	8,1
Carbohidratos (%CHO)	27,5	27,0	26,9	29,3

1: Corrector vitamínico y mineral: 25; Colina, 10; DL-a-tocoferol, 5; ascorbicacid, 5; (PO⁴)₂Ca₃, 5. Composición premezcla: acetato de retinol, 1 000 000 UI kg⁻¹; calciferol, 500 UI kg⁻¹, DL-a-tocoferol, 10, bisulfito de sodio menadiona, 0.8; clorhidrato de tiamina, 2.3, rivoftamina, 2.3, clorhidrato de piridoxina, 15; cianocobalamina, 25, nicotinamida, 15, ácido pantoténico, 6, ácido fólico, 0.65; biotina, 0.07; ácido ascórbico, 75, inositol, 15; betaína, 100; 12 polipéptidos.

Por otra parte, se analizaron los ácidos grasos que contenía cada pienso (Tabla 5).

Tabla 5: Ácidos grasos (g/100g) en los piensos experimentales

Ácidos grasos	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
12:0	0,004	0,006	0,004	0,004
13:0	0,350	0,350	0,345	0,325
14:0	0,244	0,245	0,249	0,239
14:1	0,004	0,002	0,002	0,002
15:0	0,046	0,043	0,044	0,041
16:0	2,46	2,37	2,36	2,02
16:1	0,281	0,280	0,286	0,277
17:0	0,068	0,066	0,068	0,064
17:1	0,035	0,030	0,035	0,035
18:0	0,823	0,786	0,764	0,620
18:1n-7	0,542	0,529	0,537	0,463
18:1n-9c	3,23	3,16	3,03	2,65
18:1n-9t	0,018	0,017	0,018	0,016
18:2n-6c	5,43	5,36	5,04	4,21
18:3n-3	0,950	0,933	0,862	0,646
18:3n-6	0,017	0,016	0,016	0,026
20:0	0,052	0,051	0,049	0,039
20:1	0,188	0,179	0,178	0,188
20:2	0,114	0,112	0,118	0,112
20:3n-3	0,024	0,023	0,022	0,021
20:3n-6	0,009	0,008	0,009	0,009
20:4n-6 (ARA)	0,087	0,085	0,087	0,086
20:5n-3 (EPA)	0,383	0,498	0,421	0,404
22:0	0,057	0,051	0,050	0,035
22:1n-9	0,038	0,034	0,037	0,036
22:2	0,042	0,043	0,043	0,042
22:4n-6	0,063	0,060	0,070	0,064
22:5n-3 (DPA)	0,117	0,119	0,120	0,119
22:6n-3 (DHA)	1,28	1,36	1,40	1,34
24:0	0,031	0,033	0,033	0,023
24:1	0,063	0,057	0,068	0,063
∑ Saturados	4,13	4,00	3,97	3,41
∑ Monoinsaturados	4,40	4,29	4,19	3,73
∑ Poliinsaturados	8,51	8,51	8,20	7,08
∑ n-6	5,60	5,53	5,22	4,40
∑ n-3	2,75	2,83	2,82	2,53
n-3 HUFAS	1,78	1,87	1,94	1,87

<i>n-3/n-6</i>	0,491	0,511	0,541	0,576
EPA/DHA	0,299	0,293	0,302	0,300

Los valores presentados en la tabla son la media \pm SD, (n = 3). Superíndices con diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas con una $p < 0.05$. ARA: ácido araquidónico; EPA: ácido eicosapentaenoico; DPA: ácido docosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; HUFAS: ácidos grasos altamente saturados; *n-3* HUFAS: EPA+DPA+DHA

3.3 CONTROL DE CRECIMIENTO

Durante el desarrollo experimental, se llevó a cabo un control mensual del peso de los peces, con el fin de conocer el crecimiento a lo largo de la prueba. Para ello, los peces se sometían a ayuno durante 24 horas antes del pesaje. Para facilitar la extracción de los peces, se bajaba el nivel de agua de los tanques y con salabres se colocaban los peces en cubos que contenían agua con unas gotas de aceite de clavo, un anestésico natural utilizado para reducir el estrés durante el muestreo. A continuación, se pesaban y se transferían a un tanque de recuperación con agua con oxígeno y, posteriormente, a su tanque original.

En estos muestreos se obtenía el peso medio de los peces, el número de peces y la biomasa total de cada tanque para así poder obtener los siguientes parámetros nutritivos y de crecimiento:

$$\text{Tasa de alimentación diaria (TAD(g))} = 100 * \text{Ingesta} / \left(\frac{B_f - B_i}{2} \right) / t$$

Donde Bf: Biomasa final; Bi: Biomasa inicial; t: Tiempo (días).

$$\text{Tasa de crecimiento instantáneo (TCI)} = \frac{\ln(P_f) - \ln(P_i)}{t} * 100$$

Donde Pf: Peso medio final (g); Pi: Peso medio inicial (g); t: Tiempo (días).

$$\text{Índice de conversión de alimento (ICA)} = \frac{\text{Ingesta}}{B_f - B_i}$$

Donde Bf: Biomasa final; Bi: Biomasa inicial.

3.4 PARÁMETROS BIOMÉTRICOS

Una vez alcanzado el tamaño comercial, las lubinas se sacrificaron, parte de ellas, con un exceso de aceite de clavo disuelto en agua y, con agua y hielo, aquellos peces cuyos filetes eran destinados a pruebas de CATA (3 lubinas por tanque), para que el clavo no afectara a las características organolépticas.

Posteriormente, se realizó la disección y las biometrías de las lubinas, se extrajeron los filetes y se clasificaron en bolsas de plástico con una etiqueta que informaba del tipo de tratamiento y el tanque y se le otorgaba un número al filete (del 1 al 6 para cada tanque). Estos filetes se almacenaron en el congelador a una temperatura de -30°C.

Para la obtención de los parámetros biométricos se utilizaron cinco peces aleatorios de cada tanque. La longitud total (cm), peso total (g), peso de la canal (g), peso del hígado (g) y peso de la grasa visceral (g) se midieron para calcular el factor de condición (FC), el índice viscerosomático (IVS), el índice de grasa visceral (IGV) y el índice hepatosomático (IHS) como se muestra a continuación:

$$\text{Factor de conversión (FC)} = \frac{\text{Peso total}}{\text{Longitud total}^3} * 100$$

$$\text{Índice viscerosomático (IVS)} = \frac{\text{Peso total} - \text{Peso canal}}{\text{Peso total}} * 100$$

$$\text{Índice de grasa visceral (IGV)} = \frac{\text{Peso grasa visceral}}{\text{Peso total}} * 100$$

$$\text{Índice hepatosomático (IHS)} = \frac{\text{Peso hígado}}{\text{Peso total}} * 100$$

3.5 PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

3.5.1 Preparación de muestras

Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València.

Para la realización, se extrajeron tres lubinas de cada tanque (nueve de cada tratamiento) para realizar los análisis (Tabla 6).

Tabla 6: Tanques correspondientes a cada tratamiento

TRATAMIENTO	TANQUE
FM 30 CONTROL	2-2
	2-7
	2-16
FM 35 ECO	2-12
	2-15
	2-19
FM 30 ECO	2-4
	2-5
	2-10
FM 25 ECO	2-3
	2-6
	2-11

Para la obtención de las muestras se utilizaron los filetes, los cuales fueron triturados con un molino para asegurar su homogeneidad y almacenados en diferentes botes identificados con el tratamiento, el tanque y el número de filete correspondiente (filete 1, 2 ó 3).

Una parte de cada una de las muestras fue liofilizada, es decir, éstas fueron congeladas y posteriormente deshidratadas por sublimación al someterse a vacío. Para ello, se colocó una fina capa del filete triturado en placas Petri y éstas se introdujeron en un congelador a -80°C . Una vez congeladas se introdujeron en el liofilizador durante 24 horas para eliminar la humedad. Una vez obtenidas las muestras liofilizadas éstas se trituraron individualmente y se guardaron en

botes previamente identificados. Estas muestras se utilizaron para realizar los análisis de grasa bruta, ácidos grasos, proteína bruta y aminoácidos libres. Por otra parte, la muestra fresca se utilizó para determinar materia seca y cenizas del producto en fresco y el sobrante se almacenó en un congelador para poder disponer de más cantidad si fuera necesario.

Todos los análisis se realizaron por triplicado para asegurarnos que los resultados obtenidos eran correctos, siguiendo los protocolos incluidos en el Manual de prácticas de laboratorio en nutrición animal (Moya Salvador et al., 2016).

3.5.2 Determinación materia seca

La materia seca, tanto de la muestra en fresco como del liofilizado, se determinó por deshidratación a 105°C en estufa hasta peso constante (Anexo I).

3.5.3 Determinación de cenizas

Tras obtener la materia seca de las muestras, éstas se introdujeron en una mufla a 500°C durante 5 horas para obtener la cantidad de cenizas (Anexo II).

3.5.4 Determinación de grasa bruta

La determinación de grasa bruta se realizó a través de la extracción de la grasa de las muestras con el sistema *Ankom Technology Method 2* (2009) (Anexo III).

3.5.5 Determinación de ácidos grasos

Para la determinación del perfil de ácidos grasos se realizó la síntesis directa de ésteres metílicos (FAME) siguiendo el protocolo adaptado de O'Fallon et al. (2007) y la cantidad de dichos ácidos grasos presentes en la muestra se obtuvo por cromatografía de gases (Anexo IV).

3.5.6 Determinación de proteína bruta

La proteína bruta se determinó con el método Dumas, el cual mide el nitrógeno de la muestra (Anexo V).

3.5.7 Determinación de aminoácidos libres

El contenido de aminoácidos libres en el filete fue determinado usando cromatografía de líquidos (HPLC) (Anexo VI).

3.6 ANÁLISIS DE CALIDAD ORGANOLÉPTICA DEL FILETE DE LUBINA

Para determinar la calidad sensorial de los filetes de lubina de los diferentes tratamientos se procedió a realizar una prueba CATA (*CheckAllThatApply*) para conocer la aceptación por parte de los consumidores. Esta prueba fue llevada a cabo de acuerdo con la norma UNE-EN ISO 4120/2004 (UNE, 2008) donde se describe la metodología para realizar una prueba triangular en un análisis sensorial.

En total se utilizaron 3 lubinas aleatorias de cada tanque (9 de cada tratamiento). Además, se añadió una muestra de lubina congelada (para que las condiciones fueran iguales en todos los tratamientos) comprada en un supermercado local, posteriormente descongelada y cocinada en las mismas condiciones que el resto de las muestras. Cada una de ellas tenía asignado un código de tres dígitos para su identificación y para que los jueces no pudieran conocer que muestra estaban catando (Tabla 7).

Tabla 7: Código para la identificación de cada muestra según el tratamiento en la prueba CATA

Tratamiento	Código
FM 30 CONTROL	354
FM 25 ECO	768
FM 30 ECO	129
FM 35 ECO	401
COMERCIAL	930

La CATA se realizó en una sala de catas en el Departamento de Ciencia Animal de la UPV (Figura 4) con la ayuda de profesores del Instituto Universitario de Investigación Mixto Agroalimentario de Aragón de la Universidad de Zaragoza. Participaron 100 jueces no profesionales en diferentes sesiones de 10-17 personas cada una. Los catadores eran personas seleccionadas aleatoriamente entre estudiantes y trabajadores de la misma universidad.



Figura 4: Sala de catas del Departamento de Ciencia Animal de la UPV

3.6.1 Preparación de la CATA

Las muestras se encontraban congeladas, por lo que se procedió a su previa descongelación durante 24 horas a temperatura ambiente. Una vez las muestras estaban descongeladas, los filetes se cortaron en porciones iguales (de aproximadamente un centímetro) y se introdujeron en botes marcados con su correspondiente código. A continuación, se cocinaron en un microondas a 800W durante 2 minutos.

Cada juez cataba 5 porciones de filete: una de cada tratamiento experimental más la muestra comercial.

3.6.2 Encuesta de consumidores

En primer lugar, se procedió a repartir entre los consumidores una encuesta, la cual consistía en dos partes. La primera proporcionaba información sobre el tipo de consumo de pescado de cada persona (si es comprador habitual de lubina fresca, si tiene preferencia por el origen de ésta...) y la segunda sobre sus variables sociodemográficas (Anexo VII).

3.6.3 CATA (*CheckAllThatApply*)

Tras la encuesta de consumidores, los jueces cataron las muestras codificadas de una en una y evaluaron el alimento según el olor, el color del músculo, el sabor y la textura que habían percibido. Los catadores disponían de una lista de

46 atributos en total. Posteriormente, en una escala del 1 al 5, debían seleccionar el nivel de satisfacción con la muestra catada (Anexo VIII).

3.6.4 Mapping (mapa proyectivo de preferencias)

Conforme se probaban las muestras, los consumidores debían ir organizando los botes codificados de cada muestra dentro de un recuadro en un papel en blanco (Anexo IX) basándose en las diferencias o similitudes apreciadas entre ellas. No se daba más información acerca de cómo debían colocar los botes. Generalmente, las muestras que se consideraban más parecidas estaban más cerca dentro del recuadro y las más diferentes más alejadas. De esta misma forma, por lo común, se colocaban en la parte más alta del recuadro las muestras que más habían gustado y en la parte de abajo las que menos. Una vez finalizada la parte de CATA, se debía marcar con lápiz el lugar donde se había colocado cada bote y el código correspondiente. En este método las muestras se comparan entre ellas, por tanto, se nos proporciona información sobre las preferencias del consumidor

3.6.5 Intención de compra

En último lugar, se entregó a los jueces un cuestionario sobre la intención de compra de cada una de las muestras. Esto nos proporcionó información sobre qué muestras estarían dispuestos a comprar, si conocían qué es un alimento ecológico y qué consideraban ellos como tal, y si estarían dispuestos a pagar una cantidad mayor por alguna de las lubinas catadas, si estas fueran ecológicas, que por una lubina no ecológica (Anexo X).

3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de crecimiento, índices biométricos, aminoácidos libres y ácidos grasos se estudiaron mediante un análisis de varianza con el programa Statgraphics 5.1 usando las dietas como factor de variabilidad. Las variaciones estadísticamente significativas se fijaron en $P < 0,05$.

En cuanto a los análisis de CATA, la prueba de Friedman se llevó a cabo para cada uno de los atributos de CATA (olor, color, sabor y textura) seleccionados por los jueces para evaluar la lubina. Esta prueba se realizó para comprobar si la CATA era capaz de detectar diferencias en la percepción de los consumidores sobre las muestras.

El análisis factorial múltiple permite un análisis comparativo de un grupo de tablas referidas a los mismos individuos (Moncada, 2007) y se utilizó para analizar los datos de CATA de la frecuencia de uso de los diferentes atributos y la puntuación de gusto (*liking*).

Los datos del *mapping* se analizaron según lo propuesto por Danzart et al. (2004) usando XLStat (Addinsoft® 2019). Se realizó un mapa proyectivo de preferencias considerando la referencia comercial (alimento ideal).

Por último, se analizaron los datos de preferencia (intención de compra) mediante la prueba de Kruskal-Wallis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOMÉTRICOS

En la Tabla 8 se muestran los resultados de crecimiento, supervivencia y aprovechamiento nutritivo de los peces al finalizar el experimento. Los peces alimentados con el pienso FM 30 CONTROL presentaron el mayor peso (340,5 g) seguido por los piensos ecológicos con un 30 (FM 30 ECO) y un 35% (FM 35 ECO) de harina de pescado, aunque sin diferencias estadísticas. Los peces alimentados con el pienso FM 25 ECO, presentaron significativamente un peso más bajo (306,5 g), así como menor Tasa de Crecimiento Instantáneo (TCI) que los peces alimentados con el pienso FM 30 CONTROL (1,09%/día).

Por otra parte, los resultados obtenidos para la Tasa de Alimentación Diaria (TAD) y para el Índice de Conversión de Alimento (ICA) correspondientes a los peces alimentados con el pienso FM 25 ECO, fueron significativamente superiores al resto de piensos (ecológicos y control), lo cual podría ser debido a posibles deficiencias nutricionales de este pienso, por lo que los peces intentaron compensarlo con una mayor ingesta que no mejoró el crecimiento.

Por último, no hubo diferencias significativas en la mortalidad de los peces según el tipo de tratamiento seguido, que fue en todos los casos inferior al 5% (Tabla 8).

Tabla 8: Resultados de crecimiento y supervivencia de los peces al final del experimento

TRATAMIENTO	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
Peso inicial (g)	40,4 ± 1,3	38,6 ± 0,2	40,5 ± 0,8	40,5 ± 0,9
Peso final (g)	307 ^b ± 21	333 ^{ab} ± 6	318 ^{ab} ± 14	341 ^a ± 20
Mortalidad (%)	3,30 ± 1,20	3,60 ± 1,20	3,30 ± 1,20	3,30 ± 1,20
TCI ¹ (%/día)	1,04 ^b ± 0,02	1,07 ^a ± 0,01	1,06 ^{ab} ± 0,01	1,10 ^a ± 0,03
TAD ² (g/100 g pez día)	1,35 ^b ± 0,03	1,27 ^a ± 0,05	1,24 ^a ± 0,03	1,19 ^a ± 0,02
ICA ³	1,73 ^b ± 0,06	1,59 ^a ± 0,09	1,58 ^a ± 0,04	1,47 ^a ± 0,04

Los valores presentados en la tabla son la media ± SD, (n = 3). Superíndices con diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas con una p<0.05. ¹TCI (%): Tasa de crecimiento instantáneo. ²TAD: Tasa de alimentación diaria. ³ICA: Índice de conversión de alimento.

En la siguiente tabla (Tabla 9) se muestran los parámetros biométricos al final del experimento. En ésta se muestra que el Factor de Condición (FC) fue significativamente menor en los peces alimentados con los piensos FM 30 ECO y FM 30 CONTROL. Este parámetro muestra la relación entre el peso final del animal y la longitud de éste, por lo que indica el estado de gordura de los peces. El mayor FC se obtuvo con los peces que habían consumido el pienso FM 25 ECO, siendo éstos los de menor crecimiento, por lo tanto, con un menor tamaño corporal, es decir, peces de menor longitud, por lo que parecerían peces más cortos pero más gordos.

En cuanto al Índice Vicerósomático (IVS) y el Índice Hepatosomático (IHS), se hallaron diferencias significativas entre los piensos ecológicos y el pienso control, como se puede observar en la Tabla 9. El IVS relaciona el peso total de las vísceras con el peso total del organismo, y el IHS relaciona el peso del hígado del pez con el peso total del individuo (Jerusalén, 2017).

Los peces alimentados con el pienso FM 30 CONTROL presentaron un menor índice viscerósomático y un mayor tamaño de hígado, lo que indica que las diferencias en el peso de las vísceras son consecuencia de la cantidad de grasa visceral, como puede comprobarse al observar el último de los parámetros de la tabla, el IGV. Este menor contenido de grasa visceral podría ser debido al mayor

peso de estos peces, ya que en este peso comienza la formación de las gónadas en la lubina y esta grasa visceral se va transformando en gónadas

Tabla 9: Parámetros biométricos al final de la prueba de las lubinas alimentadas con los piensos experimentales

TRATAMIENTO	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
FC ¹ (g cm ⁻³)	1,55 ^c ± 0,13	1,43 ^b ± 0,12	1,59 ^c ± 0,12	1,33 ^a ± 0,14
IVS ² (%)	13,8 ^b ± 1,7	13,3 ^b ± 1,7	13,8 ^b ± 1,6	11,8 ^a ± 1,9
IHS ³ (%)	1,6 ^b ± 0,3	1,6 ^b ± 0,4	1,8 ^b ± 0,3	2,2 ^a ± 0,3
IGV ⁴ (%)	6 ^b ± 2	6,3 ^{ab} ± 1,3	7,6 ^b ± 1,8	5,3 ^a ± 1,8

Los valores presentados en la tabla son la media ± SD, (n = 15). Superíndices con diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas con una p<0.05. ¹FC (g cm⁻³): Factor de Condición. ²IVS (%): Índice Viscerosomático. ³IHS (%): Índice Hepatosomático. ⁴IGV (%): Índice de Grasa Visceral.

4.2 COMPOSICIÓN PROXIMAL

La Tabla 10 muestra la composición proximal de los filetes de lubina alimentadas con diferentes piensos al final del experimento. Se muestran los resultados de materia seca, cenizas, proteína y grasa brutas. No hubo diferencias significativas entre estos parámetros a excepción de la cantidad de cenizas, que fue significativamente menor en el tratamiento FM 35 ECO.

Tabla 10: Composición proximal de los filetes de lubina alimentada con los diferentes piensos experimentales

TRATAMIENTO	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
Materia seca (%)	28 ±4	28 ±3	31 ±2	29 ±2
Cenizas (% MS)	6,4 ^a ±1,4	6,1 ^a ±1,2	4,5 ^b ±0,5	5,7 ^a ±0,9
Proteína bruta (% MS)	67 ±9	71 ±7	65 ±6	70 ±7
Grasa bruta (% MS)	28 ±10	24 ±7	33 ±6	27 ±7

Los valores presentados en la tabla son la media ± SD, (n = 9). Superíndices con diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas con una p<0.05.

4.3 PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y AMINOÁCIDOS LIBRES

El perfil de ácidos grasos del filete de lubina al finalizar el tratamiento está recogido en la Tabla 11. Los ácidos grasos están agrupados según sean saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (un doble enlace) o poliinsaturados (más de un doble enlace).

A pesar de que existen diferencias en algunos ácidos grasos de manera individual, la cantidad total en cada uno de los grupos no presentó diferencias significativas según el tratamiento. Las diferencias más importantes en el perfil de ácidos grasos saturados se dan en el ácido palmítico (C 16:0), entre las muestras de FM 30 ECO y FM 35 ECO. En el grupo de ácidos grasos monoinsaturados, las diferencias significativas que más afectan a la cantidad final se deben al ácido oleico (C 18:1 n -9c) y se dan también entre las muestras de FM 30 ECO y FM 35 ECO. Por último, el mayor aporte en el grupo de los ácidos grasos poliinsaturados, con diferencias significativas según el tratamiento, es debido al ácido linoleico (C 18:2 n -6c). La cantidad de este ácido graso es significativamente superior en las muestras de FM 25 y FM 35 ECO que en las del pienso FM 30 CONTROL.

Aunque entre las muestras correspondientes a los piensos FM 30 ECO y FM 35 ECO se muestran diferencias en algunos ácidos grasos, las principales diferencias entre ellos se deben realmente al contenido en grasa del músculo (24,13% frente a 32,80%), como se puede observar en la Tabla 10, y no a la diferente composición de ácidos grasos de las dietas.

Por último, no existen diferencias significativas en el total de ácidos grasos omega-3, omega-6, en la proporción n -3/ n -6 y el en la proporción EPA/DHA según tratamientos.

Tabla 11: Perfil de ácidos grasos (g/100g) del filete de lubina alimentada con los diferentes piensos experimentales

Ácidos grasos	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
C 12:0	0,005 ± 0,001	0,004 ± 0,002	0,005 ± 0,001	0,005 ± 0,002
C 13:0	0,80 ^{ab} ± 0,18	0,65 ^b ± 0,19	0,88 ^a ± 0,16	0,73 ^{ab} ± 0,21
C 14:0	0,45 ± 0,09	0,4 ± 0,1	0,47 ± 0,09	0,44 ± 0,13
C 14:1	0,005 ^{ab} ± 0,001	0,004 ^b ± 0,001	0,005 ^{ab} ± 0,002	0,006 ^a ± 0,002
C 16:0	4,46 ^{ab} ± 1,01	3,64 ^b ± 1,01	5 ^a ± 1	4,6 ^{ab} ± 1,5
C 16:1	0,66 ^{ab} ± 0,14	0,51 ^b ± 0,15	0,66 ^{ab} ± 0,14	0,69 ^a ± 0,24
C 17:1	0,084 ^a ± 0,020	0,065 ^b ± 0,017	0,079 ^{ab} ± 0,018	0,077 ^{ab} ± 0,022
C 18:0	1,36 ± 0,25	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,4
C 18:1 _{n-7}	1,12 ± 0,25	0,92 ± 0,25	1,09 ± 0,22	1,0 ± 0,3
C 18:1 _{n-9c}	7,0 ^{ab} ± 1,6	5,6 ^b ± 1,5	7,2 ^a ± 1,5	6,3 ^{ab} ± 2,0
C 18:1 _{n-9t}	0,062 ^a ± 0,009	0,038 ^b ± 0,010	0,058 ^a ± 0,011	0,041 ^b ± 0,014
C 18:2 _{n-6c}	9,2 ^a ± 1,9	7,4 ^{ab} ± 2,1	8,9 ^a ± 1,6	6,7 ^b ± 1,8
C 18:3 _{n-3}	1,4 ^a ± 0,3	1,1 ^{ab} ± 0,4	1,3 ^a ± 0,3	0,9 ^b ± 0,3
C 18:3 _{n-6}	0,082 ± 0,021	0,065 ± 0,023	0,076 ± 0,016	0,080 ± 0,024
C 20:0	0,061 ^{ab} ± 0,010	0,050 ^b ± 0,010	0,066 ^a ± 0,010	0,060 ^{ab} ± 0,015
C 20:1	0,58 ^a ± 0,12	0,41 ^b ± 0,17	0,50 ^{ab} ± 0,13	0,45 ^{ab} ± 0,20
C 20:2	0,42 ^a ± 0,08	0,33 ^b ± 0,09	0,37 ^{ab} ± 0,10	0,32 ^b ± 0,10
C 20:3 _{n-3}	0,044 ± 0,008	0,037 ± 0,013	0,040 ± 0,008	0,035 ± 0,010
C 20:3 _{n-6}	0,019	0,018	0,020	0,018

	± 0,008	± 0,005	± 0,004	± 0,005
C 20:4 <i>n</i> -6	0,187 ^a ± 0,022	0,16 ^b ± 0,03	0,189 ^a ± 0,020	0,18 ^{ab} ± 0,03
C 20:5 <i>n</i> -3 (EPA)	0,68 ± 0,13	0,55 ± 0,17	0,69 ± 0,16	0,63 ± 0,20
C 22:0	0,047 ^a ± 0,008	0,039 ^{ab} ± 0,008	0,046 ^a ± 0,009	0,037 ^b ± 0,008
C 22:2	0,091 ± 0,022	0,073 ± 0,020	0,088 ± 0,020	0,080 ± 0,026
C 22:4 <i>n</i> -6	0,11 ^{ab} ± 0,04	0,089 ^b ± 0,024	0,115 ^{ab} ± 0,022	0,12 ^a ± 0,03
C 22:5 <i>n</i> -3 (DPA)	0,24 ± 0,06	0,19 ± 0,06	0,24 ± 0,05	0,21 ± 0,06
C 22:6 <i>n</i> -3 (DHA)	2,8 ± 0,6	2,3 ± 0,7	2,9 ± 0,6	2,6 ± 0,7
C 24:0	0,027 ^b ± 0,007	0,025 ^b ± 0,006	0,034 ^a ± 0,005	0,030 ^{ab} ± 0,006
C 24:1	0,116 ^a ± 0,018	0,097 ^b ± 0,015	0,117 ^a ± 0,013	1,101 ^{ab} ± 0,021
Σ saturados	7,4 ± 1,5	6,0 ± 1,2	7,8 ± 1,6	7,4 ± 1,6
Σ monoinsaturados	9,7 ± 2,4	7,7 ± 1,9	9,8 ± 2,4	9,8 ± 2,2
Σ poliinsaturados	15 ± 2	12,3 ± 2,1	15 ± 2	11,9 ± 2,0
Σ <i>n</i> -6	10 ± 4	8 ± 3	9 ± 4	7 ± 3
Σ <i>n</i> -3	5,2 ± 1,1	4,2 ± 0,9	5,1 ± 1,1	4,4 ± 1,0
<i>n</i> -3 HUFAS	3,7 ± 1,3	3,0 ± 1,0	3,8 ± 1,3	3,5 ± 1,2
<i>n</i> -3/ <i>n</i> -6	0,540 ± 0,005	0,54 ± 0,03	0,552 ± 0,005	0,62 ± 0,03
EPA/DHA	0,242 ± 0,011	0,241 ± 0,009	0,242 ± 0,005	0,242 ± 0,005

Los valores presentados en la tabla son la media ± SD, (n = 9). Superíndices con diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas con una p<0.05. ARA: ácido araquidónico; EPA: ácido eicosapentaenoico; DPA: ácido docosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico; HUFAS: ácidos grasos altamente saturados; *n*-3 HUFAS: EPA+DPA+DHA

La Tabla 12 muestra los resultados obtenidos para el perfil de aminoácidos libres en el filete de lubina según el tratamiento. En total, fueron detectados 27 aminoácidos.

Tabla 12: Perfil de aminoácidos libres (mg/100g) del filete de lubina alimentada con diferentes piensos experimentales

Aminoácidos	FM 25 ECO	FM 30 ECO	FM 35 ECO	FM 30 CONTROL
Ácido aspártico	0,54 ^b ± 0,22	0,9 ^{ab} ± 0,4	1,0 ^a ± 0,4	0,8 ^{ab} ± 0,4
Ácido glutámico	23 ± 5	28 ± 4	25 ± 8	27 ± 4
Alanina	26 ± 7	27 ± 3	29 ± 6	25 ± 5
β-Alanina	0,40 ^a ± 0,16	0,29 ^{ab} ± 0,08	0,26 ^b ± 0,15	0,33 ^{ab} ± 0,11
Anserina	0,9 ^a ± 0,4	0,2 ^b ± 0,4	0,2 ^b ± 0,4	0,1 ^b ± 0,3
Arginina	6 ^b ± 4	6,7 ^{ab} ± 1,6	9 ^a ± 3	3,1 ^c ± 1,9
Asparagina	0,20 ± 0,19	0,14 ± 0,20	0,16 ± 0,20	0,14 ± 0,21
Cisteína	14,9 ^a ± 1,6	10,5 ^b ± 2,0	10,4 ^b ± 2,2	11,9 ^b ± 2,3
Citrulina	1,4 ± 0,5	2,5 ± 2,4	3 ± 3	1,8 ± 1,5
Fenilalanina	2,0 ^{ab} ± 0,7	1,9 ^b ± 0,3	2,3 ^a ± 1,2	1,6 ^b ± 0,3
Glicina	51 ± 17	57 ± 7	52 ± 13	56 ± 15
Glutamina	9 ^b ± 8	9 ^b ± 5	19 ^a ± 9	7 ^b ± 5
Hidroxiprolina	2,5 ^b ± 1,0	4,6 ^a ± 1,3	3,8 ^{ab} ± 1,6	4,3 ^a ± 2,1
Histidina	20 ^c ± 10	38 ^{ab} ± 12	25 ^{bc} ± 11	52 ^a ± 20
Isoleucina	2,1 ± 0,9	2,5 ± 1,6	2,6 ± 1,4	3 ± 3
Leucina	4,0 ^{ab} ± 1,7	3,1 ^{bc} ± 0,5	4,4 ^a ± 1,8	2,7 ^c ± 0,5
Lisina	63 ^{ab} ± 27	43 ^{bc} ± 22	67 ^a ± 20	22 ^c ± 16
Metionina	2,3 ^a ± 0,7	2,0 ^{ab} ± 0,5	2,3 ^{ab} ± 0,5	1,82 ^b ± 0,24

Ornitina	7 ± 5	8 ± 3	8 ± 5	7 ± 3
Prolina	2,8 ^b ± 0,6	2,6 ^b ± 0,6	2,3 ^b ± 0,6	7 ^a ± 4
Serina	7,6 ^a ± 1,9	7,5 ^a ± 1,8	8,3 ^a ± 1,4	5,8 ^b ± 1,6
Taurina	338 ^{ab} ± 24	312 ^b ± 32	370 ^a ± 67	365 ^{ab} ± 70
Tirosina	2,0 ^{ab} ± 0,8	1,90 ^{ab} ± 0,23	2,4 ^a ± 0,7	1,8 ^b ± 0,4
Treonina	5,4 ^{bc} ± 1,2	7,1 ^{ab} ± 1,8	4,6 ^c ± 2,0	8 ^a ± 3
Triptófano	0,6 ^a ± 0,3	0,3 ^b ± 0,4	0,3 ^{ab} ± 0,4	0,15 ^b ± 0,24
Valina	3 ^{ab} ± 1	2,51 ^b ± 0,21	3,3 ^a ± 1,0	2,3 ^b ± 0,4

Los valores presentados en la tabla son la media ± SD, (n = 9). Superíndices con diferentes letras indican diferencias estadísticas significativas con una $p < 0.05$.

Cuando se habla de aminoácidos libres, se sabe que hay una relación entre éstos y su biodisponibilidad en la dieta (Gómez-Requeni et al., 2004; Martínez-Llorens et al., 2007).

El aminoácido libre presente en mayor cantidad en todos los filetes es la taurina. La taurina es un sulfoácido que no forma parte de las proteínas, por lo cual siempre se encuentra altas concentraciones en forma libre. Es muy abundante en animales, especialmente en los marinos, y muy reducida en otros organismos, excepto ciertas bacterias, por lo que los piensos con alto contenido en materias primas vegetales, presenta muy baja concentración. A pesar de que el único tratamiento que lleva añadido este aminoácido es el FM 30 CONTROL, éste aparece en mayores cantidades en la muestra de FM 35 ECO. La Taurina, no es esencial, ya que en muchas especies se puede sintetizar a partir de otros precursores, como son la metionina y la cisteína, por lo que un adecuado nivel de éstos puede favorecer la aparición de taurina, sin haberla incluido en la alimentación. El filete correspondiente al FM 30 ECO es el que posee menores cantidades de taurina, presentando una diferencia significativa con el FM 35 ECO.

El segundo aminoácido libre con mayor presencia en la mayoría de filetes es la lisina. Este aminoácido presenta grandes diferencias entre las muestras, encontrándose en mayor cantidad en la correspondiente al pienso FM 35 ECO y en menor cantidad en la correspondiente al FM 30 CONTROL.

Aparecen también en cantidades significativas los aminoácidos libres glicina, alanina y ácido glutámico, pero ninguno de ellos presenta diferencias significativas entre los diferentes piensos. En cambio, si hablamos de la histidina, ésta es superior en el filete perteneciente al tratamiento FM 30 CONTROL y mucho más baja en FM 25 ECO.

Los aminoácidos libres tienen una gran importancia en las características organolépticas del producto, principalmente en el sabor. Se consideran en muchos alimentos pilares fundamentales tanto del sabor como en el aroma, así como sus estructuras hidrocarbonadas diversas, y son precursores de metabolitos secundarios como es el caso de los compuestos volátiles (Ojeda-Real et al., 2008). La lisina aporta un gusto amargo-dulce que se considera placentero. La glicina también posee un sabor dulce, así como la alanina. Por otra parte, el ácido glutámico contribuye al sabor umami (Risso y Carelli, 2012). Éste se define como un sabor cárnico (FOOD INGREDIENTS BRASIL). Es por ello por lo que, según la concentración de cada aminoácido, la calidad sensorial del filete de lubina puede verse alterada.

4.4 PRUEBA A CONSUMIDORES SOBRE LA CALIDAD ORGANOLÉPTICA DEL FILETE DE LUBINA

Para conocer la calidad organoléptica de los filetes de lubina según el tratamiento recibido se organizó una prueba CATA donde participaron 100 jueces no profesionales.

4.4.1 Encuesta de consumidores

Según los datos obtenidos en la encuesta de consumidores se caracterizó la muestra por *clusters*, pero dado que estos resultaron bastante similares en composición y características, se procedió a realizar un único análisis global para los aspectos sociodemográficos.

La muestra estaba compuesta de un 40% de mujeres y un 60% de hombres. La nacionalidad era bastante equilibrada entre española y extranjeros, representando un 40% y un 60% respectivamente. En el rango de edades predominaba la fracción de 18 a 24 (27%) y de 25 a 34 (34%). Este último dato es debido a que la mayor parte de la muestra correspondía a estudiantes, representando un 56% del total. Debido a ello encontramos un sesgo en la muestra, ya que no se consideraría representativa de la sociedad. Lo mismo ocurre con el grado de formación, siendo el 93% formación universitaria, es decir, el nivel formativo de la muestra es mucho mayor que la media nacional, lo que constituye una limitación para este estudio.

Por otra parte, los hogares con 3-4 miembros representaron el 70% de la muestra. Además, el 82% de la muestra no tiene ningún niño en el hogar. En cuanto a los ingresos en el hogar, el 70% de los hogares considerados en el estudio presentaron ingresos superiores a los 1800 euros al mes. Estos datos también pueden constituir una limitación al estudio al no ser la muestra lo suficientemente heterogénea.

En cuanto a los datos generales de compra y consumo de lubina, el 41% de los encuestados se declaró comprador de lubina fresca y un 36% (del total) comprador de lubina en supermercados. Solo un 2 y 3% compra lubina en hipermercados o mercados respectivamente. Sobre la frecuencia de compra, solo en 1% compra lubina más de una vez a la semana (compradores asiduos), el 13% lo hace una vez por semana (consumidores frecuentes), el 16% menos de una vez a la semana (consumidores eventuales) y el 11% menos de una vez al mes (consumidores esporádicos).

4.4.2 CATA (*CheckAllThatApply*)

Para el análisis de datos de la prueba CATA, se contaron el número de veces que se utilizó cada término por parte de los jueces para describir la textura, el color, el sabor y el olor de cada una de las muestras correspondientes a los distintos tratamientos. Así se determinó la frecuencia de uso de cada palabra. A continuación, se realizó la prueba de Friedman para cada uno de los atributos para para evaluar si la prueba CATA fue capaz de detectar diferencias en la percepción de los consumidores de cada muestra de lubina. Posteriormente, se

realizó un análisis factorial múltiple (AFM) mediante el cual se obtuvo un mapa de preferencias para los tratamientos ensayados teniendo en cuenta la referencia comercial (ideal) (Figura 5). Cada muestra y cada atributo se encuentran en una posición diferente según el componente principal 1 (F1), que explica el 66,84% de la variabilidad de los datos, y el componente principal 2 (F2) que explica el 17,96% de la varianza.

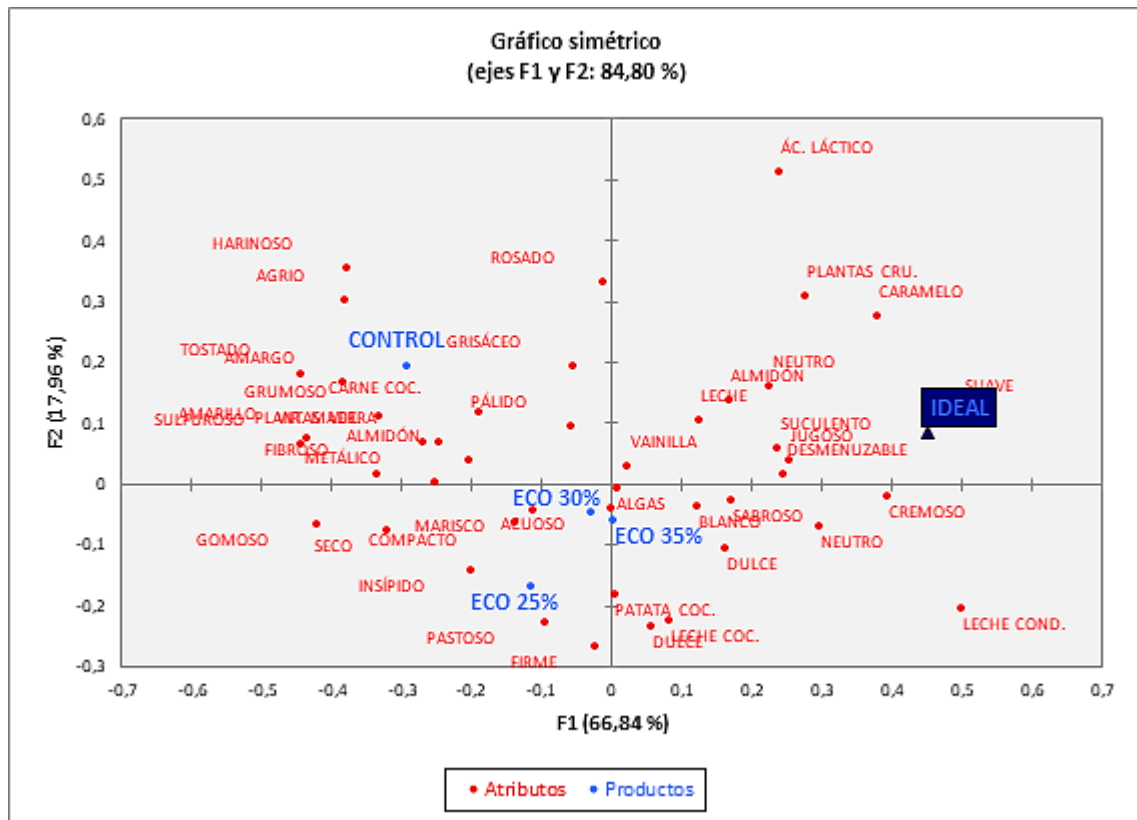


Figura 5: Mapa de preferencias para los tratamientos ensayados

Por otra parte, algunos de los atributos usados para describir cada una de las muestras resultaron relevantes en la elección del *liking* de los consumidores (Figura 6).

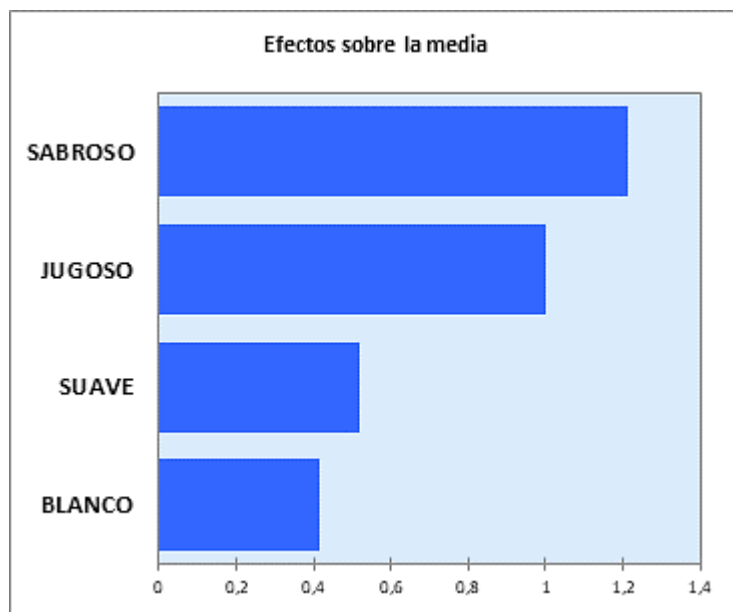


Figura 6: Análisis de atributos necesarios y su influencia sobre la media del liking

Para obtener dichos atributos con mayor influencia en la media del *liking* se realizó un análisis *penalty* (Figura 7).

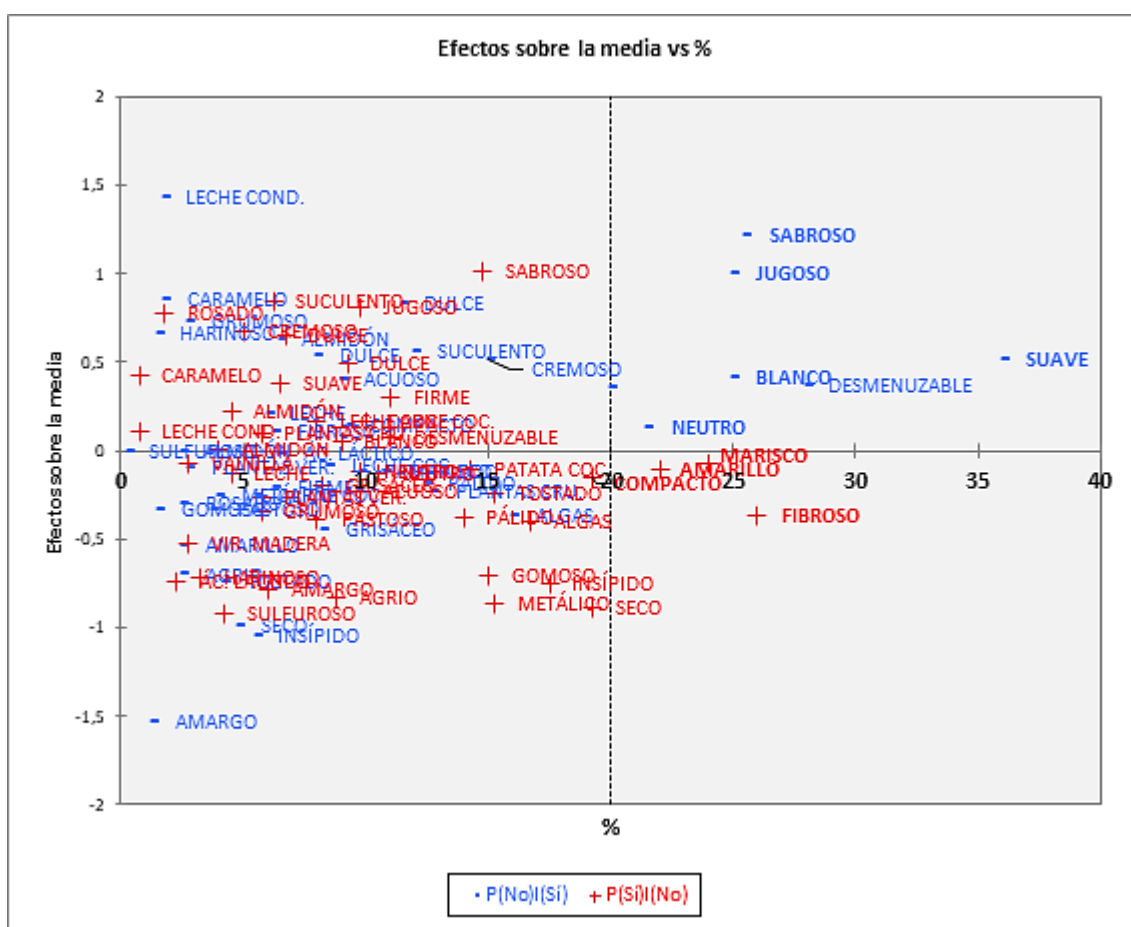


Figura 7: Efectos sobre la media vs % consumidores que han utilizado cada atributo

Para la realización de dicho análisis se representó gráficamente el efecto de cada atributo sobre la media (variación) vs el % de consumidores que utilizaron cada uno de los atributos para describir las muestras.

En la Figura 6 podemos observar cómo los atributos sabroso, jugoso, suave y blanco son los que tienen una mayor influencia sobre la media, teniendo en cuenta solo los descriptores que se ubican por encima del 20%. Por debajo de dicho 20% se ubican la mayoría de descriptores, pero la muestra o tamaño del grupo es importante: grupos más pequeños pueden llevar a conclusiones erróneas, por tanto, no se tendrán en cuenta. Los atributos representados en color azul son aquellos que han sido utilizados por los consumidores para describir muestras con un *liking* alto, mientras que los atributos en color rojo han sido utilizados para describir muestras con un *liking* bajo.

4.4.3 Mapping (mapa proyectivo de preferencias)

Para el análisis del mapa proyectivo de preferencias se realizó un análisis de factores múltiples para un nivel de confianza del 95% (Figura 8).

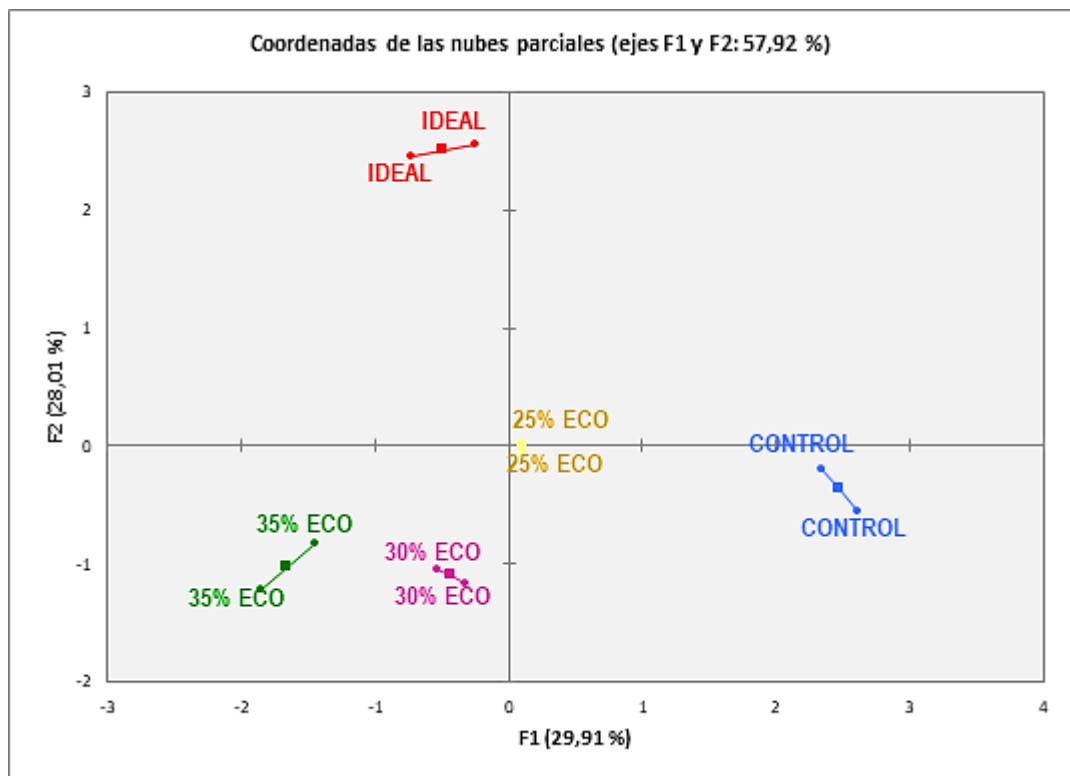


Figura 8: Mapa proyectivo de preferencias considerando la referencia comercial (ideal)

En dicho mapa observamos que la muestra comercial (ideal) fue claramente identificada y separada del resto de tratamientos. En el primer eje (F1) destaca

el tratamiento FM 30 ECO como el más parecido al ideal. Por su parte, el tratamiento FM 25 ECO se ubica en el centro del biplot indicando su poca relevancia para los consumidores.

4.4.4 Intención de compra

Para analizar los resultados obtenidos sobre la intención de compra de cada uno de los filetes por parte de los jueces se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para un nivel de confianza de 95% (Tabla 13).

Tabla 13: Intención de compra (test de Kruskal-Wallis) de las muestras de lubina (incluyendo la referencia comercial)

Muestra	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos
FM 25 ECO	100	21590	215	A
FM 30 CONTROL	99	22170	223	A
FM 35 ECO	100	24335	243	A
FM 30 ECO	100	25832	258	A
COMERCIAL	100	30822	308	B

En la tabla anterior se observa que la muestra comercial resultó ser la más preferida por los jueces, obteniendo el mayor valor en cuanto a intención de compra.

Posteriormente, se realizó otra prueba de Kruskal-Wallis sin tener en cuenta la muestra comercial. La tabla obtenida (Tabla 14) refleja que la muestra correspondiente al tratamiento FM 25 ECO, resultó ser la menos preferida, al contrario que la correspondiente al tratamiento FM 30 ECO, que fue la preferida en cuanto a intención de compra de las formulaciones experimentales, incluyendo el tratamiento control.

Tabla 14: Intención de compra (test de Kruskal-Wallis) de las muestras de lubina (excluyendo la referencia comercial)

Muestra	Frecuencia	Suma de rangos	Media de rangos	Grupos	
FM 25 ECO	100	18440	184	A	
FM 30 CONTROL	99	18892	190	A	B
FM 35 ECO	100	20635	206	A	B
FM 30 ECO	100	21832	218		B

Observando el perfil de aminoácidos del filete (Tabla 12) y comparando las muestras correspondientes a los piensos FM 25 ECO y FM 30 ECO, ya que son significativamente diferentes, comprobamos que no existen muchas diferencias significativas entre los aminoácidos que se encuentran en cantidades más elevadas y que tienen mayor influencia en el sabor, aunque sí existieron pequeñas diferencias en la glicina y en el ácido glutámico que, teniendo en cuenta todas las muestras, en ambos casos se encontraron en mayor cantidad en la muestra correspondiente al tratamiento FM 30 ECO y en menor cantidad en la de FM 25 ECO. Estos dos aminoácidos, se corresponden al sabor a marisco y al umami respectivamente, por ello, es posible que esas diferencias, a pesar de ser pequeñas, hayan tenido un cierto impacto en las preferencias de los consumidores. Por el contrario, parece que las diferencias existentes entre los ácidos grasos de las muestras correspondientes a los distintos tratamientos experimentales (Tabla 11) no tienen una relación directa con la preferencia mostrada por cada una de ellas por parte de los catadores.

5. CONCLUSIONES

El factor más decisivo en la calidad final del pescado de acuicultura es la alimentación. Actualmente, existen una gran cantidad de estudios que relacionan las características organolépticas y nutricionales del pescado final con la dieta seguida, aunque son menos los que se centran en dicha relación cuando el pienso es ecológico.

Por ello, con este trabajo se ha querido investigar cómo afecta el nivel de inclusión de harina de pescado y la utilización de ingredientes ecológicos, siguiendo además la normativa de formulación de piensos ecológicos, en la calidad final del filete de lubina europea, llegando según los resultados obtenidos, a las siguientes conclusiones:

- El nivel mínimo de harina de pescado que no afecta al crecimiento y parámetros nutritivos de la lubina es del 30%, independientemente de que los ingredientes sean convencionales o ecológicos.
- Los parámetros biométricos se ven influenciados por el nivel de la harina de pescado o el origen de las materias primas, siendo el mayor factor de condición en los peces que menos crecieron (alimentados con el pienso FM 25 ECO) y la menor cantidad de grasa visceral en los peces alimentados con FM 30 CONTROL.
- La composición proximal del filete de lubinas alimentadas con diferentes porcentajes de harina de pescado y con ingredientes ecológicos es similar.
- El tipo de ingredientes y el nivel de harina de pescado en los piensos no influye en las cantidades totales de ácidos grasos, aunque sí se pueden encontrar diferencias en alguno de ellos de forma individual
- Los diferentes tratamientos usados en el presente proyecto afectan al perfil de aminoácidos libres, lo que pudo ocasionar diferencias en las características organolépticas del filete.
- La muestra comercial se identifica claramente y es la más señalada en el apartado de intención de compra, siendo las más similares a ella, las correspondientes a los tratamientos FM 30 y FM 35 ECO. Las menos preferidas y seleccionadas en intención de compra son las muestras

correspondientes a FM 30 CONTROL y FM 25 ECO. Por lo que podemos concluir que la muestra experimental preferida por los consumidores fue la correspondiente a una inclusión del 30% de harina de pescado e ingredientes ecológicos.

6. REFERENCIAS

- ARRIJO, S. (2005). La acuicultura. *El Ecologista*, 43.
- BALLESTRAZZI, R., LANARI, D., D'AGARO, E., MION, A. (1994). The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 127 (2-3). 197-209.
- BENEDITO-PALOS, L., NAVARRO, J. C., SITJÀ-BOBADILLA, A., GORDON, J., KAUSHIK, S., PÉREZ-SÁNCHEZ, J. (2008). High levels of vegetable oils in plant protein-rich diets fed to gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.): growth performance, muscle fatty acid profiles and histological alterations of target tissues. *British Journal of Nutrition*, 100 (5). 992-1003.
- BENIGNO, E. (2003). Acuicultura sostenible. *Trofeo Pesca*, 123. 106-107
- BERGE, G. M., JOKUMSEN, A. (2015). Challenges in sourcing of feed ingredients for organic production of carnivorous fish. *Aquaculture Europe 2015*. Rotterdam.
- COMITÉ DE AGRICULTURA ECOLÓGICA DE LA COMUNIDAD VALENCIANA (Sin fecha). *Producción acuícola*. Recuperado de <https://www.caecv.com/produccion-agraria/>
- DANZART, M., SIEFFERMANN, J. M., DELARUE, J. (2004). New developments in preference mapping techniques: finding out a consumer optimal product, its sensory profile and the key sensory attributes. *The 7th Sensometrics Conference*. Davis, CA.
- DIANA, J.S. (2009). Aquaculture production and biodiversity conservation. *BioScience*, 59. 27-38.
- DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. (2018). Reglamento (UE) 2018/848 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre producción ecológica y etiquetado de los productos ecológicos y por el que se deroga el Reglamento (CE) nº834/2007 del Consejo. Recuperado de <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R0848&from=ES>

EUMOFA (2019). *El mercado pesquero de la UE. Edición 2019*. Luxemburgo: Oficina de Publicaciones de la Unión Europea.

FAO (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. *Informe técnico de pesca*, 348. Dinamarca.

FAO. (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. Roma.

FAO (Sin fecha) *Focus. Pesca y seguridad alimentaria*. Recuperado de <http://www.fao.org/focus/s/fisheries/nutr.htm>

FAO (Sin fecha) *Programa de información de especies acuáticas. Dicentrarchus labrax*. Recuperado de http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax/es

FOOD INGREDIENTS BRASIL (Sin fecha). *Los aminoácidos y el sabor*. Recuperado de <https://revista-fi.com.br/artigos/alimentos/los-aminoacidos-y-el-sabor>

GARCÍA-ORTEGA, A., KISSINGER, J. T., TRUSHENSKI, J. T. (2016). Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Aquaculture*, 452. 1-8.

GÓMEZ-REQUENI, P., MINGARRO, M., CALDUCH-GINER, J. A., MÉDALE, F., MARTIN, S. A., HOULIHAN, D. F., KAUSHIK, S., PÉREZ-SÁNCHEZ, J. (2004). Protein growth performance, amino acid utilisation and somatotropic axis responsiveness to fish meal replacement by plant protein sources in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 232(1-4). 493-510.

HURTADO, M. A. (2004). Efecto de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en los mecanismos de osmorregulación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone) expuestos a estrés hipo e hipersalino a corto y largo plazo.

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA. (2005). *Nutrición y salud. El pescado en la dieta*. Madrid: NUEVA IMPRENTA S.A.

IZQUIERDO, M. S. (2005). Essential fatty acid requirements in Mediterranean fish species. En: Montero, D. (ed.), Basurco, B. (ed.), Nengas, I. (ed.), Alexis, M.

(ed.), Izquierdo, M. (ed.). *Mediterranean fish nutrition* (pp. 91-102) Zaragoza: CIHEAM.

JABEEN, F., SHAKOOR CHAUDHRY, A. (2011). Chemical compositions and fatty acid profiles of three freshwater fish species. *Food Chemistry*. 125(3). 991-996.

JERUSALÉN, E. (2017). Efecto de la sustitución de harina de pescado por una mezcla de turtó de soja y gluten de trigo en piensos para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).

JOVER, M. (2012). Futuro de la alimentación de los peces en granjas marinas. *Revista AquaTIC*, 37. 78-89.

KAUSHIK S. J., COVES D., DUTTO G., BLANC D. (2004). Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European sea bass, (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 230(1-4). 391–404.

LANARI, D., POLI, B. M., BALLESTRAZZI, R., LUPI, 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 (1-4). 351-364.

LUCHINI, L. (2010). Beneficios nutricionales y de salud del producto "pescado".

MAPA. (2012). *Guía de las cualidades nutricionales de los productos de la pesca extractiva y de la acuicultura: binomio riesgo-beneficio*. Recuperado de: https://www.mapa.gob.es/es/pesca/temas/calidad-seguridad-alimentaria/14-GuiaCualidades_Nutricionales_tcm7-248651_tcm30-285799.pdf

MAPA. (2018). *Informe del consumo de alimentación en España en 2017*. Madrid.

MAPA (Sin fecha). *La producción ecológica*. Recuperado de <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/produccion-ecologica/>

MARTÍNEZ-LLORENS, S., VICENTE MOÑINO, A., TOMÁS VIDAL, A., MOYA SALVADOR, V. J., PLA TORRES, M., JOVER CERDÀ, M. (2007). Soybean meal

as a protein source in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) diets: effects on growth and nutrient utilization. *Aquaculture Research*, 38(1).

MENTE, E., KARALAZOS, V., KARAPANAGIOTIDIS, IT., PITA, C. (2011). Nutrition in organic aquaculture: an inquiry and a discourse. *Aquaculture nutrition*, 17(4). 798-817.

MINISTERIO DE SALUD PROTECCIÓN SOCIAL DE COLOMBIA (2012). *El pescado, alimento con altos componentes nutricionales*. Recuperado de <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/El%20pescado,%20alimento%20con%20altos%20componentes%20nutricionales.aspx>

MONCADA, J. (2007). El Análisis Factorial Múltiple: Un paso más en la superación de la dicotomía cualitativo-cuantitativo. *VI Congreso Chileno de Antropología*. Colegio de Antropólogos de Chile.

MOYA SALVADOR, V. J., RÓDENAS MARTÍNEZ, L., MARTÍNEZ PAREDES, E. (2016). *Manual de prácticas de laboratorio en nutrición animal. Análisis de piensos y materias primas*. Ed. Universitat Politècnica de València.

NASOPOULOU, C., ZABETAKIS, I. (2012). Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. *LWT-Food Science and Technology*, 47. 217-224.

OECD. (2010). *Advancing the Aquaculture Agenda: Workshop Proceedings*. Paris: OECD.

O'FALLON, J. V., BUSBOOM, J. R., NELSON, M. L., GASKINS, C. T. (2007) A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *Journal of Animal Science*, 85 (6). 1511-1521.

OJEDA-REAL, L. A., CÁRDENAS-NAVARRO, R., LOBIT, P., GRAGEDA-CABRERA, O., VALENCIA-CANTERO, E., MACÍAS-RODRÍGUEZ, L. (2008). Efecto de la nutrición nítrica y sistemas de riego en el sabor de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(1).

RICCI, E. C., BANTERELE, A., STRANIERI, S. (2018). Trust to go green: an exploration of consumer intentions for eco-friendly convenience food. *Ecological Economics*, 148. 54-65.

RISSE, S., CARELLI, A. A. (2012). Evaluación de carne de centolla *Lithodes santolla*. *VIII Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar. XVI Coloquio de Oceanografía*. Comodoro Rivadavia.

ROBAINA, L. (1998). Utilización nutritiva de fuentes de proteína alternativas a la harina de pescado en dietas de engorde para dorada (*Sparus aurata*). *Informes Técnicos del Instituto Canario de Ciencias Marinas*, 4.

UNE. (2008). Norma Española ISO 4120/2004. Análisis sensorial. Metodología. Prueba Triangular. AENOR. Madrid.

VALENZUELA R, TAPIA G, GONZÁLEZ M, VALENZUELA A. (2011). Ácidos grasos omega -3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Revista Chilena de Nutrición*, 38 (3). 356-367.

7. ANEXOS

Anexo I: Protocolo para el análisis de materia seca

Material:

- Estufa de desecación.
- Crisoles de porcelana.
- Pinzas metálicas.
- Desecador de cloruro cálcico o similar.
- Balanza de precisión 0,0001 g.

Procedimiento:

Deshidratar crisoles de porcelana (comprobar que los crisoles están numerados en su base) en estufa a 105°C durante 10 a 12 horas.

Dejar enfriar en el desecador y pesar los crisoles vacíos (A).

Introducir en cada crisol 3 gramos de muestra y pesar el crisol con la muestra (B).

Llevar a la estufa y deshidratar a una temperatura de 105°C durante al menos 24 horas.

Dejar enfriar en el desecador y pesar de nuevo (C1).

Cálculo:

Conociendo la diferencia de peso entre la muestra húmeda y la seca podemos saber el porcentaje de materia seca.

$$\text{Peso muestra húmeda (D)} = B - A$$

$$\text{Peso muestra seca (E1)} = C1 - A$$

$$\% MS = \frac{E1}{D} \times 100$$

Anexo II: Protocolo para el análisis de cenizas

Material:

- Placa calefactora en campana de humos
- Mufla de incineración.
- Estufa de desecación.
- Crisoles de porcelana.
- Pinzas metálicas.
- Desecador de cloruro cálcico o similar.
- Balanza de precisión 0,0001 g.

Procedimiento:

Una vez obtenida la materia seca, llevar estas mismas muestras a una placa calefactora para realizar una pre-combustión hasta que cese la emisión de humos.

Llevar a una mufla y calcinar 550°C durante 5 horas.

Una vez la mufla este fría, sacar los crisoles y dejar enfriar en el desecador.

Pesar de nuevo los crisoles (C2).

Cálculos:

$$\text{Peso cenizas (E2)} = C2 - A$$

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{E2}{\frac{D \times MS}{100}} \times 100$$

Anexo III: Protocolo para el análisis de grasa bruta

Material:

- Balanza analítica.
- Estufa 105°C.
- Equipo de extracción XT10 Ankom.
- Bolsas filtro XT14 Ankom.
- Sellador de calor (Ankom 1915).
- Desecador.

Procedimiento:

Numerar las bolsas XT14 y pesar cada una de ellas (A).

Introducir 0,5 gramos de muestra liofilizada y sellar las bolsas.

Colocar las bolsas en la estufa durante 24h.

Sacar las bolsas y dejar enfriar en el desecador

Pesar la bolsa con la muestra (B).

Colocar las bolsas en el Sistema ANKOM e iniciar el proceso.

Una vez colocar los sobres de nuevo en la estufa durante 24h.

Tras este tiempo, pesar el sobre con la muestra desengrasada (C).

Cálculos:

$$\% GB = \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - A)} \times 100$$

Anexo IV: Protocolo de análisis de ácidos grasos

Materiales:

- Homogeneizador
- Tubos de borosilicato tipo Pyrex ® (15-25 ml) con tapón de svl
- Estufa de desecación
- Agitador de tubos tipo vórtex

Procedimiento:

Pesar las muestras liofilizadas en función del % de grasa bruta: pesar lo correspondiente a 20 mg de grasa.

Introducir la muestra en un tubo Pyrex ® de 15 ml con tapón de teflón añadiendo 0,7 ml de KOH 10N en agua y 5,3 ml de MeOH y 1 ml de la solución de patrón interno (0,5 mg/ml de C13:0 en MeOH) y mezclar con vórtex.

Incubar en termoblock a 55°C durante 1,5h, agitando con vórtex durante 5s cada 20 minutos.

Enfriar hasta temperatura ambiente con agua corriente del grifo y añadir 0,6 ml de H₂SO₄ 24N.

Mezclar con vórtex e incubar en termoblock durante 55°C durante 1,5h, agitando con vórtex 5s cada 20 minutos.

Enfriar con agua corriente del grifo hasta temperatura ambiente, añadir 1,5 ml de hexano (calidad HPLC) y agitar en vórtex durante 5 minutos.

Centrifugar a 3000 rpm durante 5 minutos, recoger la fase orgánica superior e introducirla en un vial.

Pinchar 0,5 µl en el cromatógrafo de gases según condiciones para la columna SP-2560.

Anexo V: Protocolo de análisis de proteína bruta

Materiales:

- Analizador elemental LECO CN 628
- Espátula
- Balanza de precisión 0,00001g
- Papeles de estaño

Procedimiento:

Para determinar el contenido en proteína de una muestra utilizamos el analizador LECO CN628. Ésta utiliza el método Dumas para obtener la cantidad de nitrógeno que contiene la muestra.

Pasar el blanco para que el analizador aplique la corrección en los cálculos.

Pesar las muestras en función de la proteína esperada (generalmente pesar 0,2-0,18 gramos). Las muestras se pesan usando los papeles de estaño.

Situar las muestras en el carro de muestras y empezar el análisis. El equipo nos da directamente el %N de la muestra o el % de proteína bruta si le introducimos el factor de corrección de 6,25.

Anexo VI: Protocolo para el análisis de aminoácidos libres

Materiales:

- Tubos de vidrio 15 ml
- Homogeneizador Ultraturrax ®
- Filtros PVDF 0,45 micras
- Eppendorf 2 ml
- Agitador de tubos tipo vórtex

Procedimiento:

Pesar 2 gramos de muestra en un tubo de vidrio de 15 ml y añadir 10 ml de HCl 0,1 N.

Homogeneizar con Ultraturrax ® durante 4 minutos.

Centrifugar en frío a 4500 rpm durante 20 minutos.

Pasamos el sobrenadante de cada tubo a 2 Eppendorf de 2 ml y volvemos a centrifugar en frío a 13000 rpm durante 20 minutos.

Filtrar el sobrenadante a un Eppendorf de 2 ml a través de un filtro PVDF de 0,45 micras y añadir 300 µl de sobrenadante, 50 µl de solución de patrón interno (2,5 mM de alfa-aminobutírico) y 875 µl de ACN.

Reposar en refrigeración durante mínimo 4 horas y centrifugar a 10000 rpm durante 5 minutos.

En un Eppendorf de 1,5 ml introducir 300 µl de sobrenadante y evaporar a sequedad en evaporador centrífugo durante 45 minutos aproximadamente a 42°C y 1750 rpm.

Añadir 20 µl de reactivo de secado, agitar y volver a evaporar a sequedad durante aproximadamente 20 minutos.

Añadir 15 µl de reactivo de derivatización, agitar, dejar reposar 20 minutos y evaporar a sequedad 20 minutos más.

Rediluir en 250 µl de reactivo de dilución, agitar, centrifugar, coger 200 µl y pinchar µl en HPLC.

Anexo VII: Encuesta de consumidores

ENCUESTA DE CONSUMIDORES

Fecha: _____ Lugar: _____

Número de JUEZ: _____

Fuente de información al momento de la compra

1. ¿Es usted comprador de lubina fresca? : Sí (1) No (0) -Rellenar a partir del nº 7-
2. Lugar de compra habitual: (1) Tienda tradicional de barrio (pescadería)
 (2) Tienda tradicional en mercado (puesto)
 (3) Supermercados
 (4) Hipermercados
3. Usted compra lubinas frescas: (1) más de 1 vez a la semana
 (2) 1 vez a la semana
 (3) menos de 1 vez a la semana
 (4) menos de una vez al mes
4. En el momento de la compra usted prefiere la lubina: Entera (1) Eviscerada (2)
5. Al momento de la compra usted prefiere lubinas de tamaño: (1) Grande ($\geq 400g$)
 (2) Mediano (300-399g)
 (3) Pequeño ($\leq 299g$)
6. En el momento de la compra usted prefiere lubina de origen (1) Nacional (2) Importada

Variables socio-demográficas

7. Género: (1) Hombre (2) Mujer
8. Edad: 18-24 (1) 25-34 (2) 35-44 (3) 45-54 (4) 55-65 (5) >65 (6)
9. Nacionalidad: (1) Española (2) Extranjera (Indicar cuál _____)
10. Incluido usted, señale el número de miembros que conforman su núcleo familiar y que convivan en la misma vivienda:
Total de miembros: _____

Desglose por edad dichos miembros de su núcleo familiar:
 ≤ 6 años (1) 7 a 14 años (2) 15 a 24 años (3) 25 a 34 años (4) 35 a 49 años (5)
50 a 64 años (6) ≥ 65 años (7)
11. Actividad profesional:
 (1) Autónomo (2) Empleado asalariado (3) En paro (4) Estudiante (5) Jubilado
 (6) Otros, especificar _____
12. Nivel de Estudios:
 (1) Sin estudios/primaria (2) ESO (3) Bachiller/FP/BUP (4) Universitaria
13. Lugar de Residencia: Ciudad _____ Distrito Postal _____
14. Aproximadamente ¿en qué rango se encuentra la renta mensual neta en su hogar?
 (1) menos de 900 € (2) entre 901-1800€ (3) entre 1801-3000€ (4) más de 3000€

Anexo VIII: Prueba CATA (CheckAllThatApply)

Check All That Apply (CATA)






Número de JUEZ:

Evalúe el alimento (Observar, Oler y Saborear), y marque con una X solo en aquellos descriptores que usted crea se ajusten al producto.

MUESTRA NÚMERO _____

OLOR		SABOR	
<input type="checkbox"/>	Dulce	<input type="checkbox"/>	Acuoso
<input type="checkbox"/>	Leche cocida	<input type="checkbox"/>	Metálico
<input type="checkbox"/>	Almidón	<input type="checkbox"/>	Almidón
<input type="checkbox"/>	Marisco	<input type="checkbox"/>	Dulce
<input type="checkbox"/>	Algas	<input type="checkbox"/>	Sabroso
<input type="checkbox"/>	Carne cocida	<input type="checkbox"/>	Cremoso
<input type="checkbox"/>	Plantas crudas	<input type="checkbox"/>	Plantas verdes
<input type="checkbox"/>	Neutro	<input type="checkbox"/>	Neutro
<input type="checkbox"/>	Virutas madera	<input type="checkbox"/>	Insípido
<input type="checkbox"/>	Vainilla	<input type="checkbox"/>	Agrio
<input type="checkbox"/>	Caramelo	<input type="checkbox"/>	Amargo
<input type="checkbox"/>	Leche condensada	<input type="checkbox"/>	Sulfuroso
<input type="checkbox"/>	Patata cocida		
<input type="checkbox"/>	Leche		
<input type="checkbox"/>	Ácido láctico		
COLOR del MUSCULO		TEXTURA	
<input type="checkbox"/>	amarillo	<input type="checkbox"/>	compacto
<input type="checkbox"/>	blanco	<input type="checkbox"/>	suculento
<input type="checkbox"/>	tostado	<input type="checkbox"/>	grumoso
<input type="checkbox"/>	pálido	<input type="checkbox"/>	pastoso
<input type="checkbox"/>	rosado	<input type="checkbox"/>	jugoso
<input type="checkbox"/>	grisáceo	<input type="checkbox"/>	fibroso
		<input type="checkbox"/>	seco
		<input type="checkbox"/>	suave
		<input type="checkbox"/>	desmenuzable
		<input type="checkbox"/>	harinoso
		<input type="checkbox"/>	gomoso
		<input type="checkbox"/>	firme

Finalmente, marque en la siguiente escala su grado de satisfacción respecto a a la muestra, desde me agrada mucho hasta me desagrada mucho.

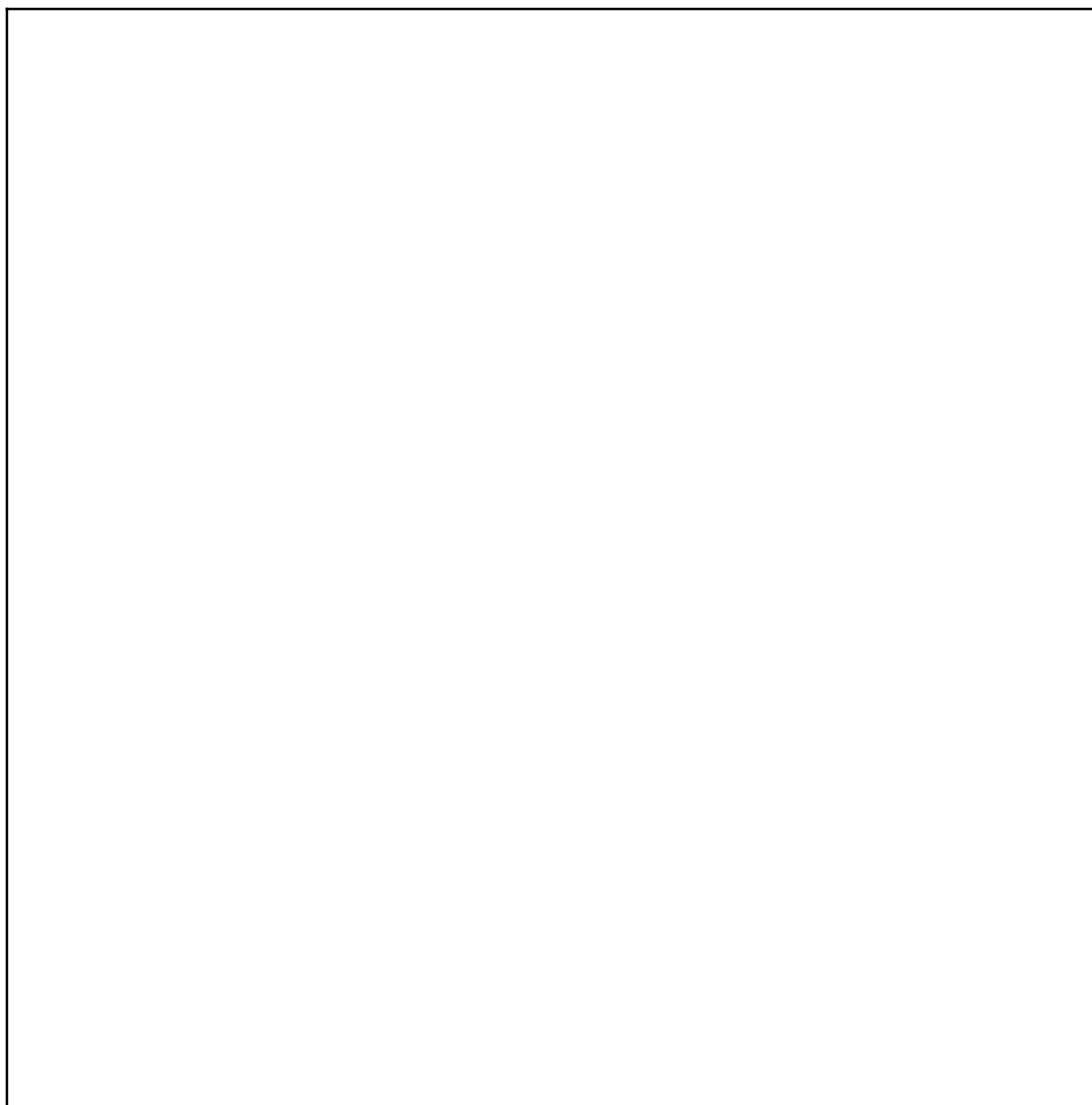
				
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Anexo IX: Mapping

MAPPING

Número de JUEZ

Una vez probada cada muestra, sitúela en el siguiente recuadro según sus similitudes o sus diferencias.

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for mapping samples based on their similarities or differences. The box is currently blank.

Anexo X: Test de intención de compra

INTENCIÓN DE COMPRA

Número de JUEZ

1.- Indique cuál o cuáles de las muestras degustadas estaría dispuesto a comprar.

2.- ¿Sabe usted qué es un alimento ecológico?

SI NO

3.- Si ha contestado afirmativamente la anterior pregunta, usted cree que un alimento ecológico resulta: (marque todas las que considere)

Más saludable Más fresco Con mayor calidad
Más nutritivo Mejor sabor Con mejor textura
Más seguro Más amigable con el medio ambiente
Libre de antibióticos Supone un mejor bienestar animal
Mejor precio (más económico) Mejor disponibilidad

4.- Si supiera que las muestras corresponden a lubinas ecológicas, ¿estaría dispuesto a pagar más?

SI NO

¿Cuánto más? _____ euros/kg