

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



*Efecto de la composición de los piensos
sobre la calidad y vida útil de seriola (*Seriola
dumerili*)*

**TRABAJO FIN DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS**

Alumna: Cristina Marín Lora

Tutora: Isabel Fernández Segovia

Co-tutora: Ana Fuentes López

Curso académico: 2015-2016

Valencia, septiembre 2016.

Efecto de la composición de los piensos sobre la calidad y vida útil de seriola (*Seriola dumerili*)

RESUMEN:

El aumento en las demandas de aceite de pescado para la formulación de piensos en acuicultura, unido a la disminución de la oferta de los mismos, ha provocado un aumento en los precios, que conlleva la necesidad de buscar alternativas a esta fuente lipídica. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales en piensos destinados a la alimentación de seriola, sobre la evolución de su calidad y vida útil. Se partió de seriolas alimentadas con un pienso que contenía aceite de pescado (F100) y otro en el que se había sustituido por aceites vegetales (F0). Se evaluaron distintos parámetros físico-químicos y microbiológicos de seriola fresca, así como de seriola congelada-descongelada envasada a vacío a lo largo del almacenamiento en refrigeración. El incremento de los valores de nitrógeno básico volátil total (N-BVT) indicó una pérdida de frescura progresiva en seriola fresca y en la descongelada, tanto para F0 como para F100. La evolución del índice de ácido tiobarbitúrico (TBA) durante el almacenamiento indicó un escaso nivel de oxidación lipídica, en todas las muestras de seriola. Los cambios observados en los parámetros de textura pusieron de manifiesto la pérdida de elasticidad y firmeza del músculo de pescado durante el almacenamiento, para ambos tipos de dietas. Los recuentos microbiológicos aumentaron progresivamente a lo largo del periodo de estudio, tanto en seriola fresca como descongelada alimentada con ambos tipos de pienso. La congelación-descongelación provocó una pérdida de calidad inicial de las muestras descongeladas en comparación con las frescas. Sin embargo, el envasado a vacío contribuyó a su conservación, observándose un patrón de deterioro similar al que presentaron las muestras de seriola fresca. En base a los resultados obtenidos se podría establecer un periodo de vida útil próximo a 14 días, tanto para las muestras de seriola fresca como para las de seriola congelada-descongelada y envasada a vacío, alimentadas con la dieta F0 o con la F100. La sustitución de aceites de pescado por aceites vegetales no afectó a la calidad ni a la vida útil de seriola de piscifactoría fresca y congelada-descongelada.

Palabras clave:

Seriola, vida útil, aceite de pescado, aceites vegetales, piensos, acuicultura.

RESUM:

L'augment en les demandes d'oli de peix per a la formulació de pinsos en aquicultura, unit a la disminució de l'oferta dels mateixos, ha provocat un augment en els preus, que comporta la necessitat de buscar alternatives a esta font lipídica. L'objectiu d'este treball va ser avaluar l'efecte de la substitució d'oli de peix per olis vegetals en pinsos destinats a l'alimentació de seriola, sobre l'evolució de la seua qualitat i vida útil. Es va partir de seriolas alimentades amb un pinso que contenia oli de peix (F100) i un altre en el qual s'havia substituït per olis vegetals (F0). Es van avaluar distints paràmetres físicoquímics i microbiològics de seriola fresca, així com de seriola congelada-descongelada envasada a buit al llarg de l'emmagatzemament en refrigeració. L'increment dels valors de nitrogen bàsic volàtil total (N-BVT) va indicar una pèrdua de frescor progressiva en seriola fresca i en la descongelada, tant per a F0 com per a F100. L'evolució de l'índex d'àcid tiobarbitúric (TBA) durant

l'emmagatzemament va indicar un escàs nivell d'oxidació lipídica, en totes les mostres de seriola. Els canvis observats en els paràmetres de textura van posar de manifest la pèrdua d'elasticitat i fermesa del múscul de peix durant l'emmagatzemament, per a ambdós tipus de dietes. Els recomptes microbiològics van augmentar progressivament al llarg del període d'estudi, tant en seriola fresca com descongelaada alimentada amb ambdós tipus de pinso. La congelació-descongelació va provocar una pèrdua de qualitat inicial de les mostres descongelaades en comparació amb les fresques. No obstant açò, l'envasament a buit va contribuir a la seua conservació, observant-se un patró de deterioració similar al que van presentar les mostres de seriola fresca. Basant-se en els resultats obtinguts es podria establir un període de vida útil pròxima a 14 dies, tant per a les mostres de seriola fresca com per a les de seriola congelada-descongelaada i envasada a buit, alimentades amb la dieta F0 o amb la F100. La substitució d'olis de peix per olis vegetals no va afectar la qualitat ni a la vida útil de seriola de piscifactoria fresca i congelada- descongelaada.

Paraules clau:

Seriola, vida útil, oli de peix, olis vegetals, pinsos, aqüicultura.

ABSTRACT:

The increase in demand for fish oil for feed formulation in aquaculture, together with the decrease in the supply, has caused an increase in the prices, which implies the need to find alternatives to this lipid source. The aim of this work was to evaluate the effect of the fish oil replacement by vegetable oils in feed for yellowtail feeding on the evolution of their quality and shelf-life. Raw material was yellowtail fed a feed containing fish oil (F100) and another in which this had been replaced by vegetable oils (F0). Different physicochemical and microbiological parameters were evaluated in fresh and in frozen-thawed yellowtail vacuum packaged during cold storage. The increase of total volatile basic nitrogen (TVB-N) indicated a progressive loss of freshness in fresh and thawed yellowtail, in both F0 and F100. The evolution of the thiobarbituric acid (TBA) during storage showed a low level of lipidic oxidation in all samples. The changes observed in the textural parameters showed the loss of elasticity and firmness of fish muscle during storage, for both types of diets. Microbiological counts progressively increased throughout the study period, both in fresh and thawed yellowtail fed both types of feed. The freeze-thawing caused a loss of initial quality of thawed samples compared to fresh. However, the vacuum packaging contributed to its preservation, showing a spoilage pattern similar to that of fresh yellowtail. Based on the results it could be established a period of shelf-life close to 14 days, for both samples of fresh or frozen-thawed yellowtail, fed diet F0 or F100. Replacement of fish oils by vegetable oils did not affect the quality or shelf-life of farmed yellowtail fresh or frozen-thawed.

Keywords:

Yellowtail, shelf-life, fish oil, vegetable oils, feed, aquaculture.

Autor: Cristina Marín Lora

Tutora: Isabel Fernández Segovia

Cotutora: Ana Fuentes López

Valencia, septiembre 2016

Agradecimientos:

Al Grupo de Acuicultura y Biodiversidad del Dpto. de Ciencia Animal de la UPV, en especial a las profesoras Ana Tomás y Silvia Martínez, así como a Davide Bisson, por su colaboración en la realización de este trabajo.

A Isabel, tutora de este proyecto, por darme la oportunidad de realizarlo y por haberme enseñado tanto durante estos meses.

A Cristina y Ana Fuentes, por ayudarme siempre que lo necesitaba.

A mis padres, por ser los pilares básicos de mi vida. Gracias.

A mis abuelas, por cuidarme y enseñarme tanto.

A Carlos, por hacer que siempre me ilusione por lo que hago.

A Sergio, mi alegría, por no dejarme caer nunca.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	<i>Seriola</i>	1
1.1.1	Características morfológicas	1
1.1.2	Hábitat.....	2
1.1.3	Comportamiento.....	2
1.1.4	Reproducción	2
1.1.5	Cultivo.....	3
1.2	<i>La acuicultura</i>	3
1.2.1	Alimentación piscícola.....	3
1.2.2	Harinas y aceites de pescado	4
1.2.2.1	Sustitución de aceites de pescado por aceites vegetales	5
2	OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	7
2.1	<i>Objetivos</i>	7
2.2	<i>Plan de trabajo</i>	7
3	MATERIAL Y MÉTODOS	8
3.1	<i>Equipos</i>	8
3.2	<i>Preparación de la muestra</i>	8
3.2.1	Preparación de las dietas	9
3.3	<i>Caracterización de la muestra</i>	9
3.4	<i>Estudio de vida útil</i>	10
3.4.1	Determinaciones de parámetros físico-químicos	10
3.4.1.1	Determinación de humedad, proteína, grasa y cenizas.....	10
3.4.1.2	Determinación de pH	10
3.4.1.3	Determinación de nitrógeno básico volátil total (N-BVT).....	11
3.4.1.4	Determinación del índice de TBA.....	11
3.4.1.5	Determinación de metabolitos de degradación de ATP y valor K_1	12
3.4.1.6	Análisis de textura	13
3.4.2	Análisis microbiológicos	15
3.4.2.1	Análisis de microorganismos aerobios totales.....	15
3.4.2.2	Análisis de enterobacterias	16
3.5	<i>Análisis estadístico</i>	16
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17

4.1	<i>Caracterización de la muestra</i>	17
4.2	<i>Estudio de vida útil de seriola fresca</i>	18
4.2.1	Evolución de parámetros físico-químicos durante el almacenamiento.....	18
4.2.1.1.	pH	18
4.2.1.2.	Humedad	18
4.2.1.3.	Nitrógeno básico volátil total (N-BVT).....	19
4.2.1.4.	Índice del ácido tiobarbitúrico (TBA).....	20
4.2.1.5.	Metabolitos de degradación de ATP y valor K_1	21
4.2.1.6.	Textura	23
4.2.2	Evolución microbiológica	25
4.2.2.1.	Microorganismos aerobios totales.....	25
4.2.2.2.	Enterobacterias	25
4.3	<i>Estudio de vida útil de seriola descongelada</i>	26
4.3.1	Evolución de parámetros físico-químicos durante el almacenamiento.....	26
4.3.1.1.	pH	26
4.3.1.2.	Humedad	27
4.3.1.3.	Nitrógeno básico volátil total (N-BVT).....	27
4.3.1.4.	Índice del ácido tiobarbitúrico (TBA).....	28
4.3.1.5.	Metabolitos de degradación de ATP y valor K_1	29
4.3.1.6.	Textura	31
4.3.2	Evolución microbiológica durante el almacenamiento.....	32
4.3.2.1.	Microorganismos aerobios totales.....	32
4.3.2.2.	Enterobacterias	33
5	CONCLUSIONES	34
6	BIBLIOGRAFÍA	35
7	ANEXO I	40

Índice de Tablas

Tabla 3.1. Formulación (g/kg) de cada una de las dietas.....	9
Tabla 4.1. Caracterización físico-química de seriola alimentada con dos formulaciones diferentes (F0 y F100) (Valor medio \pm desviación estándar, n=2).	17
Tabla I. 1. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el pH de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	40
Tabla I. 2. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de humedad de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	40
Tabla I. 3. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de nitrógeno básico volátil total de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	40
Tabla I. 4. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el índice de TBA de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	41
Tabla I. 5. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino), hipoxantina (Hx) y valor K_1 de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).	41
Tabla I. 6. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para los parámetros de textura de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).	42
Tabla I. 7. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para mesófilos y enterobacterias de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	42
Tabla I. 8. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el pH de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	43
Tabla I. 9. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de humedad de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	43
Tabla I. 10. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de nitrógeno básico volátil total de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).....	43

Tabla I. 11. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el índice de TBA de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t)..... 44

Tabla I. 12. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino), hipoxantina (Hx) y valor K_1 de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t)..... 44

Tabla I. 13. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para los parámetros de textura de seriola en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t)..... 45

Tabla I. 14. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para mesófilos y enterobacterias de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t). 45

Índice de Figuras

Figura 1.1. Ejemplar de <i>Seriola dumerili</i> o pez amarillo o pez limón (Gándara, 2003).....	1
Figura 1.2. Evolución de la utilización y suministro de pescado (acuicultura más pesca de captura) durante el período 1950-2014 (FAO, 2014).....	4
Figura 3.1. Ensayo de textura de una muestra de seriola.	14
Figura 3.2. Curva tipo para el Análisis de Perfil de Textura (TPA) (Bourne, 1978).	15
Figura 4.1. Evolución del pH durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	18
Figura 4.2. Evolución del contenido de humedad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	19
Figura 4.3. Evolución del contenido de nitrógeno básico volátil total (NBVT) durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	20
Figura 4.4. Evolución del índice de TBA durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). MDA: Malonaldehído (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	20
Figura 4.5. Evolución de inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) (μmol/g), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con el pienso F0. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n=2). Código F0 en Tabla 3.1.	22
Figura 4.6. Evolución de inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) (μmol/g), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con el pienso F100. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n=2). Código F100 en Tabla 3.1.	22
Figura 4.7. Evolución del valor K_1 durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	22
Figura 4.8. Curva obtenida en el Análisis de Perfil de Textura (TPA) para una muestra de seriola fresca.	23
Figura 4.9. Evolución de la dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y adhesividad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 (línea azul) y F100 (línea roja)). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	24

Figura 4.10. Evolución del recuento de mesófilos durante durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).	25
Figura 4.11. Evolución del recuento de enterobacterias durante durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).....	26
Figura 4.12. Evolución del pH durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	27
Figura 4.13. Evolución del contenido de humedad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	27
Figura 4.14. Evolución del contenido de nitrógeno básico volátil total (NBVT) durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	28
Figura 4.15. Evolución del índice de TBA durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. MDA: Malonaldehído. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n=2).	28
Figura 4.16. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) ($\mu\text{mol/g}$), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con el pienso F0. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n=2)...	29
Figura 4.17. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) ($\mu\text{mol/g}$), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con el pienso F100. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n=2).	30
Figura 4.18. Evolución del valor K_1 durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n=2).....	30
Figura 4.19. Evolución de la dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y adhesividad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 (línea azul) y F100 (línea roja)). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.	31
Figura 4.20. Evolución del recuento de mesófilos durante durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).	32

Figura 4.21. Evolución del recuento de enterobacterias durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2)..... 33

1 INTRODUCCIÓN

1.1 *Seriola*

1.1.1 Características morfológicas

El género *Seriola* pertenece a la familia *Carangidae* que incluye 47 especies. La seriola mediterránea (*Seriola dumerili*) es un pez con un cuerpo alargado, aplanado lateralmente y fusiforme, con el dorso más prominente que el vientre (Figura 1.1). Los ojos son relativamente pequeños. Tiene una cabeza grande con un perfil redondeado. La boca es ancha y las comisuras alcanzan la vertical del centro del ojo. Posee un supramaxilar tan ancho como el diámetro del ojo y presenta pequeños dientes.



Figura 1.1. Ejemplar de *Seriola dumerili* o pez amarillo o pez limón (Gándara, 2003.)

El cuerpo está cubierto de pequeñas escamas cicloideas. La línea lateral arqueada, que sigue el perfil dorsal del pez, está formada por escamas no modificadas. La primera espina de la primera aleta dorsal se encuentra recubierta por tejido epitelial en los ejemplares grandes.

Tiene dos aletas dorsales, la primera más baja que la segunda, y tanto la segunda aleta dorsal como la aleta anal, tienen el primer radio más largo. Las aletas pectorales son más cortas que las ventrales, y tiene una aleta caudal ahorquillada y muy potente, con el pedúnculo estrecho (MAGRAMA, 2015).

El color del pez de limón es variable según la edad del ejemplar. Los adultos presentan un color oliva en el dorso, los flancos son más claros con brillos plateados y el vientre es blanco metalizado. Son características las bandas doradas que atraviesan oblicuamente los ojos. Los jóvenes pueden exhibir unas anchas y oscuras bandas verticales, aunque sólo cuando se hallan excitados. Los alevines son de color amarillo y siempre presentan estas bandas.

Su máximo intervalo de longitud registrado es de 180-190 cm con un peso de aproximadamente 80 kg; sin embargo, sus medidas habituales son de 110 cm de longitud y un peso entre 25-40 kg. La temperatura más adecuada para su crecimiento está entre 20 y 24 °C siendo temperaturas inferiores a los 9 °C mortales, los límites más bajos de salinidad que tolera son de 16 ‰ (Suz-Conejos, 2014).

1.1.2 Hábitat

La seriola es una especie teleóstea cosmopolita, encontrada en aguas cálidas por todo el mundo. Es un pez tanto epibéntico como pelágico, con frecuencia encontrado en zonas de coral o en agujeros de grandes profundidades en alta mar. Normalmente, habita en la plataforma entre 50 y 150 m de profundidad. En primavera migra hacia aguas costeras para reproducirse y pasar el verano. Los juveniles se encuentran agregados bajo objetos flotantes, en donde permanecen de 3 a 5 meses, hasta que alcanzan los 35 cm y abandonan estos refugios y se vuelven de hábitos costeros (MAGRAMA, 2015). Hasta los dos años de edad se mantienen cerca de la costa, a poca profundidad y se mantienen agrupados, formando bancos ocasionalmente densos o nadan en solitario mezclándose con otras especies.

Es una especie común en el Mediterráneo. En el Atlántico oriental se encuentran desde las islas Británicas hasta las costas de Marruecos. En el Atlántico occidental se encuentra desde Canadá hasta Brasil, incluido el golfo de Méjico y el Caribe. Está presente en el océano Índico y el Pacífico occidental (Fernández-Caballero, 2014).

1.1.3 Comportamiento

Es un buen nadador y alcanza grandes velocidades. Se alimenta de peces como la boga, la sardina o la alacha, entre otras muchas especies. Completa la dieta con moluscos cefalópodos. La estrategia de caza de los ejemplares juveniles de seriola es muy interesante: se mezclan entre los grupos de salemas (*Sarpa salpa*), un pez herbívoro e inofensivo, para poder acercarse a los bancos de peces pequeños sin provocar su huida. Cuando ya están bastante cerca del banco de peces, surgen todos a la vez de en medio de las salemas, atacando al máximo número de peces posible. A continuación, proceden a devorar los ejemplares muertos o heridos (MAGRAMA, 2015).

1.1.4 Reproducción

La seriola es un pez con sexos separados, diferenciables precozmente. La diferenciación sexual se expresa de forma clara en juveniles a partir de 24 - 25,5 cm de longitud, entre 4 y 5 meses de edad (Marino et al., 1995).

El periodo natural de puesta en el Mediterráneo se establece entre los meses de mayo y julio, cerca de la costa (Lazzari y Barbera 1988; Grau, 1992). Maduran entre los 4 y 5 años, cuando miden entre 75-80 cm. La primera época de reproducción para ambos sexos es a los cuatro años de edad. El crecimiento es muy rápido: en seis meses pueden llegar a medir hasta 40 cm y alcanzar 1 kg de peso al año (MAGRAMA, 2015).

1.1.5 Cultivo

Seriola dumerili tiene un alto potencial para la acuicultura, debido principalmente a su rápido crecimiento, presentando una tasa de crecimiento muy superior a la de la lubina y dorada (Cruz-Castellón, 2015; Gándara, 2006). Otra característica fundamental es su buena adaptación a la cautividad, aceptando una alimentación artificial (García-Gómez, 2000). Finalmente, su alta demanda y valor comercial hacen de ella una especie con grandes posibilidades en el cultivo intensivo.

1.2 La acuicultura

La elevada demanda mundial de productos del mar, ha hecho que la piscicultura haya aumentado de forma importante en los últimos años. La acuicultura presentó una tasa de crecimiento anual del 10,8% en la década de 1980 y de un 9,5% anual en la década de 1990, según estadísticas de la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO). Sin embargo, esta tasa bajó a un promedio de 5,8% en el periodo comprendido entre 2005 y 2014, pasando de 44,3 millones de toneladas en 2005 a 73,8 millones de toneladas en 2014, sin incluir la producción de plantas acuáticas (principalmente algas marinas), que supuso 28,5 millones de toneladas en 2014. De la producción acuícola de 2014, el 68% fueron peces, el 22% moluscos, el 9% crustáceos y el 1% otras especies de animales acuáticos (FAO, 2014).

En la Figura 1.2 se muestra la evolución del uso y suministro del pescado de captura y de acuicultura. Cabe destacar que en el año 2014 se empleó un 87% para consumo humano directo, mientras que el resto se destinó fundamentalmente a la fabricación de harinas y aceites de pescado (FAO, 2014).

España es el Estado Miembro de la UE con mayor volumen de producción en acuicultura. Sin embargo, cuando se considera el valor de lo producido, ocupa la quinta posición. El principal cultivo en España es el mejillón (APROMAR, 2015).

1.2.1 Alimentación piscícola

El desarrollo sostenible de la piscicultura intensiva depende de la utilización óptima de los nutrientes por las especies cultivadas y del mantenimiento de la calidad del agua. La acuicultura intensiva de especies carnívoras, tiene una alta demanda de alimentos de alto coste, ricos en proteína y lípidos. Los salmónidos y los peces marinos cultivados son, en su mayoría, carnívoros y se alimentan en la naturaleza de las presas vivas que capturan. Por lo tanto, su aparato digestivo y todas sus funciones relacionadas con la digestión, absorción y utilización metabólica se encuentran orientadas, de forma natural, al tipo de alimento que habitualmente consumen.

Cabe mencionar que las harinas y aceites de pescado, tradicionalmente fueron la base de la alimentación de las especies acuícolas hasta hace unas décadas, debido a que eran accesibles en precio, cantidad y calidad, además de presentar una buena digestibilidad (Herrera-Castillo, 2015).

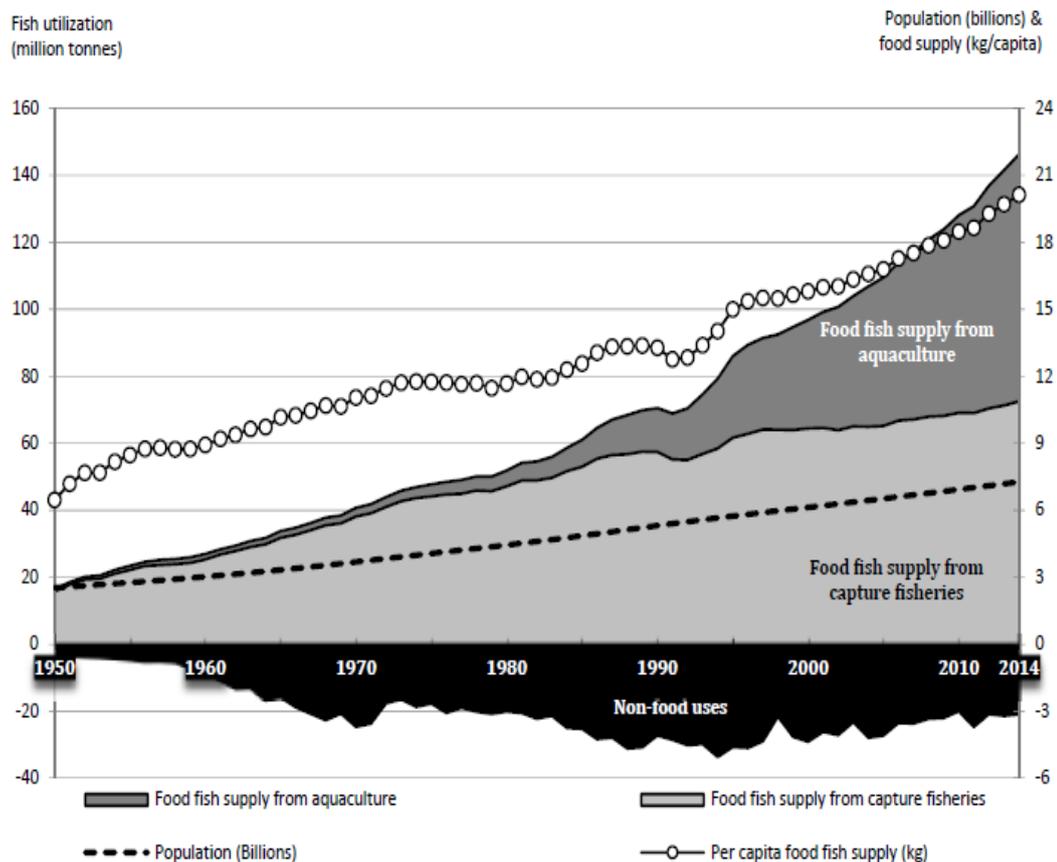


Figura 1.2. Evolución de la utilización y suministro de pescado (acuicultura más pesca de captura) durante el período 1950-2014 (FAO, 2014)

1.2.2 Harinas y aceites de pescado

Las harinas y aceites de pescado son utilizados en la elaboración de alimentos balanceados para la nutrición animal, ya sea de productos acuícolas, de aves, de rumiantes, de cerdos o de animales domésticos (IFFO, 2013).

La harina de pescado es un producto obtenido del procesado de pescados, eliminando su contenido de agua y aceite. Esta proporciona una fuente concentrada de proteína de alta calidad, ya que contiene una gran proporción de aminoácidos esenciales en una forma altamente digerible, particularmente metionina, cisteína, lisina, treonina y triptófano. Además es fuente de vitaminas del complejo B y ácido fosfórico (Hardy, 1988).

El aceite de pescado es el ingrediente principal en piensos de peces marinos carnívoros, debido a que es una importante fuente de energía, a su alta digestibilidad y a que

aporta ácidos grasos esenciales, concretamente los ácidos grasos omega-3, como el ácido docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) (Nasopoulou y Zabetakis, 2012).

En los últimos años, la demanda de harina y aceite de pescado ha ido aumentando, especialmente por las economías emergentes como la de China (Herrera-Castillo, 2015). Esto unido a que su producción ha disminuido, ha provocado un aumento importante en los precios de ambos productos. Por ello, los aceites y harinas de pescado se han convertido en uno de los ingredientes más caros, que se utilizan en altos porcentajes para la fabricación de piensos. Concretamente, en el caso del aceite de pescado, se prevé que en la próxima década, su producción no pueda cumplir con las cantidades requeridas para la alimentación piscícola (Nasopoulou y Zabetakis, 2012).

A este problema hay que sumar que en las últimas décadas, se ha detectado contaminación de harinas y aceites de pescado por contaminantes orgánicos (policlorobifenilos o PCBs, policlorodibenzodioxinas o PCDDs, policlorodibenzofuranos o PCDFs y plaguicidas organohalogenados), lo que estaría dando lugar a pescado de piscifactoría con niveles considerables de estos contaminantes (Bell et al., 2005; Bell y Waagbø, 2008), amenazando de esta manera la producción acuícola. Esto ha hecho que en los últimos años, muchos investigadores han tratado de conseguir diferentes dietas empleando ingredientes alternativos, que pudieran sustituir total o parcialmente a la harina y aceite de pescado. Sobre todo se ha estudiado la sustitución por fuentes vegetales.

1.2.2.1 Sustitución de aceites de pescado por aceites vegetales

La necesidad de identificar y utilizar fuentes lipídicas alternativas al aceite de pescado ha dado lugar a un gran número de investigaciones en los últimos años, como ya se ha comentado. Se han evaluado aceites vegetales como sustitutos de los aceites de pescado, abundantes en el mercado y con precios más bajos, tales como el aceite de colza, lino, soja, palma, oliva, girasol, maíz y canola (Nasopoulou y Zabetakis, 2012), entre otros.

Los resultados de numerosas investigaciones evidencian que altos niveles de sustitución de aceite de pescado por esos aceites vegetales no afectan al crecimiento de los peces ni a otros parámetros, como el índice de conversión del alimento (Mourente y Bell, 2006; Piedecausa et al., 2007; Díaz-López et al., 2009; Fountoulaki et al., 2009). Sin embargo, dicha sustitución sí que tiene un efecto importante sobre el perfil de ácidos grasos. Los piensos elaborados con aceites vegetales conllevan un incremento en los niveles de C18 PUFA (ácidos grasos poliinsaturados 18:2 n-6, 18:3 n-3 y 18:1 n-9) del pescado, así como una reducción en los niveles de n-3 HUFA (ácidos grasos altamente insaturados de las series n-3), concretamente el ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico (22:6 n3) sólo presente en aceites de pescado. Esto deriva en un incremento en la proporción de ácidos grasos n-6/n-3 (Turchini et al., 2009). Estos cambios tienen un impacto nefasto en la calidad nutricional del pescado como alimento para consumo humano. Los ácidos grasos altamente insaturados n-3, tienen una importancia relevante para la salud humana, especialmente el EPA y DHA. Además, algunos estudios también han demostrado que la alta proporción de ácidos grasos n-6/n-3 en la actual dieta humana es un factor de riesgo que

puede tener consecuencias adversas, mientras que una proporción más equilibrada tiene efectos positivos en la salud humana. Por todo lo expuesto y teniendo en cuenta que la única fuente natural de n-3 HUFA son los alimentos marinos, la composición de lípidos y ácidos grasos que contiene el pescado tiene una importancia decisiva en el conjunto de la alimentación.

Por otra parte, los cambios en la composición de los ácidos grasos en la dieta de los peces, originados cuando se utilizan niveles altos de sustitución por aceites vegetales, pueden afectar el metabolismo y la salud del pez (Hosfeld et al., 2009; Kunttu et al., 2009). Sin embargo, cuando se utilizan niveles bajos de sustitución del aceite de pescado con un perfil de ácidos grasos equilibrado, el contenido de lípidos de los filetes de pescado no aumenta, si se compara con peces alimentados solo con aceites de pescado (Díaz-López et al., 2009, 2010). Por ello, actualmente se están llevando a cabo investigaciones dirigidas principalmente a encontrar la mejor combinación de aceites y su óptimo nivel de sustitución, para cada especie en particular, para que los peces producidos puedan tener proporciones de ácidos grasos en los tejidos lo más similares posibles a los peces salvajes, unido a un buen crecimiento y con unas condiciones saludables.

En un estudio llevado a cabo recientemente en el Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València, se evaluó el efecto de la sustitución de aceite de pescado en piensos por una mezcla de aceites vegetales (linaza, girasol y palma), sobre el crecimiento, composición proximal, perfil de ácidos grasos y calidad sensorial de seriola (*S. dumerili*) (Cruz-Castellón, 2015). En el estudio se concluyó que la sustitución de hasta el 100% de aceite de pescado no afectaba al crecimiento de los juveniles de seriola ni a la composición proximal, pero sí que afectaba a la supervivencia de los mismos. El empleo de aceites vegetales como sustitutos de aceites de pescado se reflejó en el perfil de ácidos grasos de seriola. Los aceites vegetales provocaron un mayor nivel de C18 PUFA (ácidos grasos poliinsaturados 18:2 n-6, 18:3 n-3 y 18:1 n-9) y niveles reducidos de n-3 HUFA, especialmente EPA y DHA, con el consiguiente aumento en la relación de ácidos grasos n-6/n-3. Como se ha comentado anteriormente, estos resultados se han observado también en otros estudios. En cuanto a la calidad sensorial, la sustitución no afectó a las propiedades organolépticas del pescado. Estos resultados evidencian que sería posible sustituir el 100% de aceite de pescado por las mezclas de aceites vegetales evaluadas en la alimentación de seriola. Sin embargo, es necesario complementar dicho trabajo con el estudio del efecto de esta sustitución sobre la calidad y vida útil durante el almacenamiento del pescado.

2 OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

2.1 Objetivos

El objetivo general de este trabajo es evaluar el efecto de la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales en piensos destinados a la alimentación de seriola, sobre la evolución de su calidad y vida útil.

Para alcanzar este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar la evolución de diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos de seriola fresca durante su almacenamiento en refrigeración.
- Evaluar la evolución de diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos de seriola sometida a un proceso de congelación-descongelación, durante su almacenamiento en refrigeración.

2.2 Plan de trabajo

Para cumplir los objetivos propuestos se planteó el siguiente plan de trabajo:

- Revisión bibliográfica para establecer los parámetros más adecuados y los métodos de análisis.
- Preparación de las muestras, envasado y almacenamiento en refrigeración o en congelación.
- Análisis de parámetros que determinan la calidad y vida útil de seriola fresca almacenada en refrigeración.
- Análisis de parámetros que determinan la calidad y vida útil de seriola descongelada almacenada en refrigeración.
- Tratamiento estadístico de los datos e interpretación de resultados.

3 Material y métodos.

3.1 Equipos

Los equipos utilizados en este trabajo fueron:

- pH-metro Crisson Instruments, S.A. (Alella, Barcelona, España).
- Agitador magnético con calefacción STIRRER, modelo FB1 5001.
- Balanza Kern modelo EW 1500-2M (Balingen, Alemania).
- Balanza analítica Mettler Toledo AB 204-S.
- Envasadora de campana Tecnotrip mod. EV-25-CD (Barcelona, España).
- Centrífuga refrigerada. Medifriger BL, JP Selecta, S.A. (Barcelona, España).
- Baño termostático SBS Instruments modelo BT-4, con temperatura regulable desde ambiente a 100°C (Barcelona, España).
- Autoclave P-selecta (Barcelona, España).
- Stromacher, IUL instruments, (Barcelona, España).
- Estufas P. Selecta rango 0-80 °C con capacidad de 50 L (Barcelona, España).
- Estufa Binder GMBH, modelo FD 115, temperatura máxima 300° C, (Tuttlingen, Alemania).
- Extractor de grasa Soxtec Avanti 2055 Foss Analytical A.B. (Höganäs, Suecia).
- Frigorífico Liebherr, modelo Profiline, ventilado, (Alemania).
- Congelador Liebherr, temperatura que puede variar entre -14 y -28 ° C (Austria).
- Homogeneizador Ultraturrax, modelo IKA T-25 digital (Staufen, Alemania).
- Mufla JP-Selecta modelo 367 PE (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España).
- Unidad de destilación por arrastre de vapor Pro Nitro M, SELECTA (Barcelona, Spain).
- Unidad de digestión JP-Selecta Bloc Digest 6 (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España).
- Texturómetro Stable Micro Systems modelo TEXTURE ANALYZER-TA-XT2 (Surrey, Reino Unido).
- Cabina de flujo laminar Telstar AH-100 (Barcelona, España).
- Espectrofotómetro Thermo Fisher Scientific, Helios Zeta UV-VIS (UK).
- Cromatógrafo líquido de Alta Resolución Hitachi LaChrom Elite (Hitachi Ltd., Tokio, Japón) con bomba (modelo L-2130), automuestreador (modelo L-2200) y detector UV (modelo L-2400).

3.2 Preparación de la muestra

Para el estudio se emplearon 2 lotes diferentes de seriolas criadas en el Laboratorio de Acuicultura del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de Valencia. Los peces de partida (juveniles de *Seriola dumerili*) fueron adquiridos en la empresa Futuna Blue, S.L. (Cádiz). Los peces fueron distribuidos en 4 tanques de hormigón de 400 L de capacidad y alimentados con dos formulaciones diferentes de piensos (2 tanques por formulación), que se detallan más adelante, durante 5 meses y medio (desde el 08/09/2015 hasta el 22/02/2016), alcanzando un peso medio de 1150 g.

Las seriolas fueron sacrificadas, evisceradas y fileteadas, obteniendo 2 filetes por cada pescado. Esta parte del estudio la llevó a cabo personal del Departamento de Ciencia Animal.

Una vez obtenidos los filetes, las muestras fueron trasladadas a los laboratorios pertenecientes al Departamento de Tecnología de Alimentos, en neveras con hielo. Cada filete fue cortado transversalmente obteniendo dos piezas por filete (4 piezas por pescado). Las piezas obtenidas fueron envasadas aleatoriamente de 2 en 2 en bolsas de plástico y almacenadas a dos temperaturas: 4 °C o a -18 °C.

3.2.1 Preparación de las dietas

Se evaluaron dos dietas, cuya diferencia era la composición cualitativa del aceite. La formulación F100 contenía 95 g/kg de aceite de pescado y en la F0 el aceite de pescado se había sustituido por una mezcla de aceites vegetales (linaza, girasol y palma), tal y como se muestra en la Tabla 3.1. La dieta F100 se utilizó como dieta control, estando compuesta por diferentes ingredientes proteicos, como harina de pescado, gluten de trigo, harina de soja y harina de carne, mezcla proteica con la que se han obtenido los mejores resultados de crecimiento y aprovechamiento nutritivo en ensayos anteriores. Sin embargo, en esta formulación el aceite de pescado era la única fuente lipídica.

Las dietas fueron preparadas en la fábrica de piensos del Departamento de Ciencia Animal de la Universitat Politècnica de València.

Tabla 3.1. Formulación (g/kg) de cada una de las dietas.

	F ₁₀₀	F ₀
Harina de pescado	350	350
Harina de trigo	100	100
Gluten de trigo	140	140
H. soja desengrasada	185	185
H. de carne de Ibérico	110	110
Aceite de pescado	95	0
Aceite de linaza	-	38
Aceite de girasol	-	28
Aceite de palma	-	29
* Mix de multivitaminas y minerales	20	20

* Las vitaminas y la mezcla mineral (los valores son g kg⁻¹, excepto aquellos en paréntesis): Pre mezcla: 25; Colina, 10; DL- α -tocoferol, 5; ácido ascórbico, 5; (PO4) 2Ca3, 5. Composición Pre mezcla: acetato de retinol, 1000000 IU kg⁻¹; calcipherol, 500 UI kg⁻¹; DL- α -tocoferol, 10; menadiona sodio bisulfito, 0,8; hidroclorehidrato de tiamina, 2,3; riboflavina, 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; polipéptidos 12.

3.3 Caracterización de la muestra

Se llevó a cabo la caracterización físico-química de los filetes de seriola en el día 0 de su almacenamiento. Para ello se determinó su composición centesimal (humedad, proteína, grasa y cenizas), además del pH.

3.4 Estudio de vida útil

Se realizaron dos estudios de vida útil, uno de ellos en pescado fresco y el otro en pescado congelado-descongelado.

El pescado fresco envasado en bolsas de plástico fue almacenado a 4 °C durante 14 días, realizándose análisis a los días 0, 3, 7, 10 y 14 de almacenamiento. Cada día de análisis se tomaban aleatoriamente 2 bolsas de cada lote (F0 y F100). A las muestras se les realizaban análisis físico-químicos (contenido en humedad, pH, nitrógeno básico volátil total (N-BVT), metabolitos de degradación de ATP, índice de TBA y textura) y microbiológicos (recuento de microorganismos aerobios mesófilos y enterobacterias). Todas las determinaciones analíticas fueron realizadas por duplicado, excepto el pH que se midió por triplicado.

Dado que la congelación es una técnica de conservación muy empleada en los productos de la pesca, y que parte de los mismos se comercializan descongelados, se procedió a evaluar la vida útil de seriola después de ser sometida a un proceso de congelación-descongelación, considerando la posibilidad de que pueda ser comercializada de esta forma. Para ello, las bolsas con las piezas de pescado fueron congeladas a -18°C. Se mantuvieron congeladas durante 1 mes y medio, y posteriormente fueron descongeladas durante 48 h a 4 °C. Las piezas descongeladas se envasaron a vacío para permitir una mejor conservación y se almacenaron a 4 °C durante 18 días, realizándose análisis a los días 0, 4, 7, 11 y 18 de almacenamiento. Los análisis físico-químicos y microbiológicos fueron los descritos para pescado fresco. Todas las determinaciones analíticas fueron realizadas por duplicado, excepto el pH que se midió por triplicado.

3.4.1 Determinaciones de parámetros físico-químicos

3.4.1.1 Determinación de humedad, proteína, grasa y cenizas

El análisis del contenido de humedad se llevó a cabo por desecación en estufa a $103 \pm 2^\circ\text{C}$ siguiendo el método de la AOAC 950.46 (1997). La determinación de proteínas se realizó mediante el método de Kjeldahl descrito en el método 928.08 de la AOAC (1997). La determinación de grasa se llevó a cabo con una extracción en Soxhlet con éter de petróleo siguiendo el método 991.36 de la AOAC (1997). Para el análisis del contenido en cenizas se siguió el método 920.153 de la AOAC (1997) de calcinación en mufla a 550 °C.

3.4.1.2 Determinación de pH

El pH de las muestras se midió directamente sobre éstas empleando un pH-metro Crison micropH 2001 (Crison Instruments S.A., Alella, Barcelona, España) con electrodo de punción acoplado. De cada una de las muestras se tomaron 3 lecturas en puntos diferentes de la misma y a partir de las lecturas se calculó el valor de pH promedio.

3.4.1.3 Determinación de nitrógeno básico volátil total (N-BVT).

El contenido en nitrógeno básico volátil total se determinó siguiendo el método descrito por Malle y Tao (1987), mediante destilación por arrastre de vapor. Se pesaron 15 g de muestra y se homogeneizaron durante 1 min en Ultra-Turrax con 30 mL de disolución de ácido tricloroacético (TCA) al 7,5% (p/v). A continuación se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min y luego se filtró el sobrenadante con papel de filtro Whatman nº 1. De esta manera se obtuvo el extracto de la muestra.

El filtrado obtenido se introdujo en los tubos de destilación junto con 5 mL de una disolución de NaOH al 10% (p/v). Los tubos se llevaron a la unidad de destilación, y el destilado fue recogido sobre 15 mL de una disolución de ácido bórico al 4% (p/v), junto con unas gotas del indicador Shiro T-Shiro, destilándose hasta obtener un volumen final de 150 mL. La disolución obtenida se valoró con ácido sulfúrico 0,05 N. Paralelamente se realizó un ensayo en blanco de la misma forma, sustituyendo el extracto de la muestra por TCA al 7,5% (p/v).

La concentración de N-BVT se expresó como mg N/100 g muestra.

3.4.1.4 Determinación del índice de TBA

Con el objeto de evaluar la oxidación lipídica se realizó la determinación del índice del TBA, mediante la medida de la absorbancia del cromógeno formado en la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBA) con el malonaldehído (componente mayoritario formado en la oxidación de las grasas).

Los reactivos empleados en este análisis fueron los siguientes:

- *Disolución antioxidante*: 0,5 g de galato de propilo y 0,5 g de EDTA en una mezcla etanol/agua 1:1 (v/v) aforado a 100 mL.
- *Disolución HCl 4 N*
- *Disolución de TBA* (ácido tiobarbitúrico) 0,02 M
- *Disolución B* [TEP 20 mM (1,1,3,3-tetraetoxipropano o malonaldehído)]
- *Disolución C* (0,1 mL de disolución B aforada a 100 mL).

Todos estos reactivos se guardaron en la nevera, no más de 24 h y en frasco topacio tapado.

Se pesaron 15 g de muestra, se añadieron 45 mL de agua destilada y se homogeneizó en el Ultra-Turrax. El contenido se pasó a un tubo de destilación Kjeldahl y se añadieron 2,5 mL de HCl 4 N y 2,5 mL de la disolución antioxidante. A continuación se llevó a cabo la destilación en un destilador por arrastre de vapor hasta recoger 50 mL de destilado. Una vez obtenido el extracto, se pusieron 5 mL del mismo en un tubo de ensayo con tapón de rosca y se añadieron 5 mL de TBA. De forma paralela se preparó una recta de calibrado con patrones de malonaldehído a diferentes concentraciones, tal y como se detalla a continuación:

- *Patrón 1*: 0,05 mL de disolución C + 4,95 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

MATERIAL Y MÉTODOS

- *Patrón 2:* 0,1 mL de disolución C + 4,9 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.
- *Patrón 3:* 0,25 mL de disolución C + 4,75 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.
- *Patrón 4:* 0,5 mL de disolución C + 4,5 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.
- *Patrón 5:* 1 mL de disolución C + 4 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.
- *Patrón 6:* 2 mL de disolución C + 3 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.
- *Blanco:* 5 mL de disolución antioxidante + 5 mL de disolución de TBA.

Todos los tubos tapados se introdujeron en un baño a 80 °C durante 40 min. A continuación se enfriaron agitando ligeramente en agua del grifo y se midió la absorbancia a 530 nm.

La recta de calibrado se construyó representando los valores de absorbancia frente a la concentración de malonaldehído de cada patrón, obteniendo la ecuación de la recta correspondiente. 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. El valor del índice del TBA fue expresado como mg de malonaldehído/kg de muestra.

3.4.1.5 Determinación de metabolitos de degradación de ATP y del valor K_1

El análisis de inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) en las muestras de seriola se realizó por cromatografía líquida de alta resolución. El método de determinación utilizado fue el descrito por Barat et al. (2008) con alguna modificación.

El método de extracción fue similar al descrito por Burns y Kee (1985). Todo el proceso de extracción fue llevado a cabo a 4 °C. Se pesaron 2,5 g de muestra, se mezclaron con 25 mL de HClO_4 0,6 M y se homogeneizaron durante 4 min en un Stomacher (IUL Masticator, Barcelona, España). A continuación, el extracto fue centrifugado a 10000 g durante 10 min en una centrífuga a 4 °C. El sobrenadante fue filtrado a través de filtros Whatman nº 2, llevado a pH 7 utilizando carbonato de potasio y se dejó reposar en hielo durante 5 min. El extracto obtenido fue centrifugado de nuevo a 10000 g durante 10 min. El sobrenadante fue almacenado a -20 °C hasta su análisis.

La columna empleada para la separación de los analitos fue una columna de fase reversa C18 150×4,6 mm (Análisis Vínicos, S.L., Tomelloso, España).

Las condiciones cromatográficas empleadas fueron las siguientes:

- Volumen de inyección: 20 μL
- Fases móviles:
 - Fase móvil A: K_2HPO_4 0,01M, en agua ultrapura a pH=4,5
 - Fase móvil B: 60% Acetonitrilo (calidad HPLC) en agua ultrapura

- Flujo de la fase móvil: 0,9 mL/min.
- Temperatura de la columna: 25 ± 1 °C
- Detector de ultravioleta, $\lambda = 254$ nm

El programa de elución en gradiente fue el siguiente:

- Composición inicial (t = 0 min): 98% fase móvil A y 2% fase móvil B
- t = 6 min: 95% fase móvil A y 5% fase móvil B
- t = 7 min: 0% fase móvil A y 100% fase móvil B
- t = 10 min: 0% fase móvil A y 100% fase móvil B
- t = 11 min: 98% fase móvil A y 2% fase móvil B
- t = 21 min: 98% fase móvil A y 2% fase móvil B

El análisis cualitativo se realizó inyectando en el cromatógrafo disoluciones de los patrones de cada uno de los analitos (IMP, Ino, Hx). La identificación se llevó a cabo comparando los tiempos de retención de estos patrones con los correspondientes picos obtenidos en el cromatograma de la muestra y se confirmó con la técnica de adición de patrón.

Para el análisis cuantitativo se construyeron las rectas de calibrado para cada uno de los analitos, representando el área del pico (obtenidas de los cromatogramas) frente a la concentración de patrón. A partir de las ecuaciones de las rectas de calibrado, se calculó la concentración de analito en el extracto de la muestra. Los resultados se expresaron como $\mu\text{mol/g}$ de muestra.

El valor K_1 fue calculado según la Ecuación 1.

$$K_1(\%) = \left(\frac{[\text{Ino}] + [\text{Hx}]}{[\text{IMP}] + [\text{Ino}] + [\text{Hx}]} \right) \cdot 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

3.4.1.6 Análisis de textura

Para el estudio de las propiedades mecánicas de las piezas de seriola se realizó un ensayo de doble compresión o TPA (Textura Profile Análisis), empleando una prensa universal, con una célula de carga de 250 N. 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 de cada una de las piezas, tomando porciones rectangulares de dimensiones 3 x 3 cm aproximadamente (Figura 3.1).

En este ensayo se utilizó un émbolo (P/75, ANAME) plano y circular de 7.5 cm de diámetro, que comprimió dos veces consecutivas la muestra hasta un 50% de su altura y a una velocidad de 0,8 mm/s, para simular el movimiento de la mandíbula durante la masticación (Bourne, 1978).

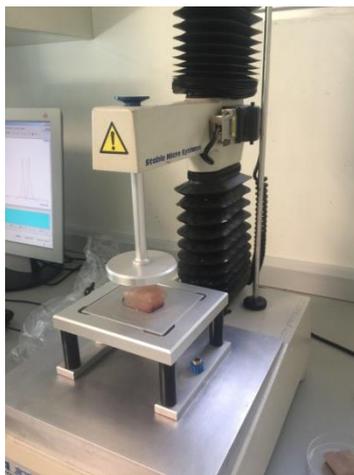


Figura 3.1. Ensayo de textura de una muestra de seriola.

El análisis de las curvas fuerza-desplazamiento (Figura 3.2) obtenidas en el ensayo de TPA permitió obtener los parámetros texturales de dureza, elasticidad, cohesividad, adhesividad, masticabilidad y resiliencia.

- *Dureza (N)*: Pico de fuerza durante el primer ciclo de compresión (Bourne, 1978).

- *Cohesividad*: Relación de áreas originadas en los dos ciclos de compresión (A_2/A_1); representa el trabajo necesario para comprimir la muestra por segunda vez, respecto al que ha sido necesario para comprimir la primera vez (Bourne, 1978).

- *Elasticidad*: Altura que la muestra recupera durante el tiempo que transcurre entre el final del primer ciclo y el comienzo del segundo (Bourne, 1978). Este parámetro fue definido originalmente por Szczesniak (1973) como “la velocidad a la que el material deformado vuelve a su condición de no deformado después de ser retirada la fuerza”.

- *Masticabilidad (N)*: Energía requerida para desintegrar un producto alimenticio sólido a un estado listo para ser tragado (Bourne, 1978). Resulta del producto entre los parámetros dureza, cohesividad y elasticidad.

- *Resiliencia*: Es una medida de elasticidad (Hultmann y Rustad, 2002) que considera, no sólo la distancia, sino también la fuerza y velocidad con que el filete se recupera después de la primera compresión (Veland y Torrissen, 1999). Se calcula como el cociente entre el área correspondiente a la relajación y compresión en el primer ciclo.

- *Adhesividad*: Es el área negativa del primer ciclo completo de compresión, que representa el trabajo necesario para despegar el émbolo de la superficie de la muestra. Este parámetro fue definido originalmente por Szczesniak (1973) como “el trabajo necesario para superar las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto (lengua, paladar, dientes, etc.), por lo que la adhesividad es una propiedad de superficie”.

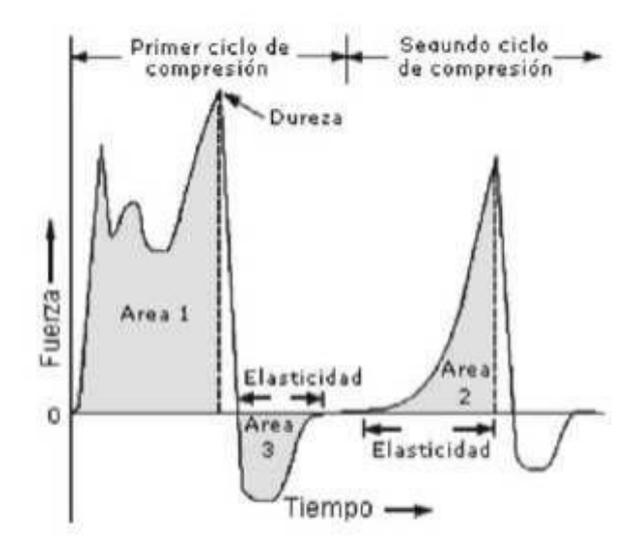


Figura 3.2. Curva tipo para el Análisis de Perfil de Textura (TPA) (Bourne, 1978).

3.4.2 Análisis microbiológicos

Para llevar a cabo los análisis microbiológicos, se prepararon diluciones decimales a partir de las muestras, tal y como se describe en la Norma UNE EN-ISO 6887-3 (AENOR, 2004). Se pesaban 10 g de muestra en una bolsa de stomacher a la que se añadían 90 mL de agua de peptona tamponada estéril y se homogeneizaban durante 1 min en el stomacher, correspondiendo el contenido de la bolsa a la dilución 10^{-1} . De esta 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} . Así sucesivamente se preparaban las diluciones correspondientes. A partir de estas diluciones se hicieron análisis de microorganismos aerobios totales y de enterobacterias.

Las determinaciones microbiológicas se realizaron por duplicado en las muestras.

3.4.2.1 Análisis de microorganismos aerobios totales

El recuento de mesófilos se llevó a cabo siguiendo el método descrito en la Norma UNE-EN ISO 4883 (AENOR, 2003). Se hicieron siembras en profundidad de 1 mL de cada una de las diluciones, en placas Petri a las que se añadió 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.

3.4.2.2 Análisis de enterobacterias

El análisis de enterobacterias se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la Norma ISO 21528-2 (AENOR, 2004). A partir de cada una de las series de diluciones decimales, se realizaron siembras en doble capa. En placas petri se sembraron 1 mL de cada una de las diluciones y se vertió el medio de cultivo, agar Violeta Rojo Bilis Glucosa atemperado a 45-47 °C. Tras la solidificación del medio, se volvió a verter sobre cada placa 3-4 mL del mismo medio. 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 ufc/g.

3.5 Análisis estadístico.

Se llevaron a cabo ANOVAs multifactor para comprobar la existencia de diferencias significativas entre las dos formulaciones de los piensos y el tiempo de almacenamiento, en el estudio de vida útil de seriola fresca y en el de seriola descongelada. Por otra parte, se realizó un ANOVA simple con cada uno de los parámetros evaluados en la caracterización de la materia prima para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los distintos tipos de piensos al inicio del estudio. Se utilizó el procedimiento LSD (least significant difference) para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%. Para realizar el tratamiento de datos estadísticos se usó el programa Statgraphics Centurion XVI (Manugistics Inc., Rockville, MD, EE.UU.).

4 Resultados y discusión

4.1 Caracterización de la muestra

En la Tabla 4.1 se muestran los datos obtenidos en la caracterización físico-química de los filetes de seriola alimentadas con los diferentes piensos experimentales.

Tabla 4.1. Caracterización físico-química de seriola alimentada con dos formulaciones diferentes (F0 y F100) (Valor medio \pm desviación estándar, n=2).

	F0	F100	
Humedad (g/100 g)	74,2 \pm 0,8 ^a	73,6 \pm 0,7 ^a	ns
Proteínas (g/100 g)	18,3 \pm 0,5 ^a	19,9 \pm 0,9 ^a	ns
Grasa (g/100 g)	4,2 \pm 0,5 ^a	4,6 \pm 1,1 ^a	ns
Cenizas (g/100 g)	2,00 \pm 0,11 ^a	1,84 \pm 0,02 ^a	ns
pH	6,22 \pm 0,03 ^a	6,23 \pm 0,04 ^a	ns

Letras iguales indican la pertenencia a grupos homogéneos.
 Nivel de significación (p-valor): ns: no significativo ($p > 0,05$)
 Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

Los valores de humedad obtenidos están comprendidos en el rango dado por otros autores en seriola (Bowyer et al., 2012; Buentello et al., 2015; O'Neill et al., 2015). La diferencia de humedad hallada entre ambas muestras no fue significativa.

Aunque las seriolas alimentadas con la formulación F100 presentaron valores proteicos más elevados, las diferencias entre ambas formulaciones no fueron significativas. Los contenidos de proteína fueron inferiores a los hallados en un estudio comparativo de seriolas de piscifactoría y salvajes (O'Neill et al., 2015), y superiores a los valores dados por Bowyer et al. (2012) y Buentello et al. (2015), en seriolas de piscifactoría alimentadas con piensos de diferentes composiciones.

En cuanto a los valores de grasa, cabe destacar que la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales en los piensos no afectó al contenido global de grasa en la seriola, siendo similar a los valores dados por O'Neill et al. (2015). Hay bastante variabilidad en el contenido lipídico de seriolas entre diferentes estudios. Bowyer et al. (2012) y Buentello et al. (2015), obtuvieron valores comprendidos entre 5,6 y 10,9, por tanto, contenidos más altos a los del presente trabajo, que podrían deberse a diferencias en la alimentación de los peces.

En el caso de cenizas, en ambas muestras se obtuvieron valores en torno al 2%, similares a los publicados por O'Neill et al. (2015) y menores que los dados por Bowyer et al. (2012) y por Buentello et al. (2015), tal y como ocurría con los valores de grasa.

El efecto nulo de la sustitución de los aceites de pescado sobre el contenido en grasa y en cenizas, coincide con los resultados obtenidos en un estudio de seriola, en el que se evaluó el efecto de la sustitución de aceite de pescado por aceites animales y vegetales en los piensos (Bowyer et al., 2012).

Los valores de pH tampoco presentaron diferencias significativas entre muestras, estando dentro de los valores normales de pescado fresco (Abbas et al., 2008).

4.2 Estudio de vida útil de seriola fresca

4.2.1 Evolución de los parámetros físico-químicos durante el almacenamiento

4.2.1.1 pH

En la Figura 4.1 se muestra la evolución de los valores de pH a lo largo del almacenamiento. No hubo diferencias entre las dos formulaciones estudiadas (Tabla I.1, Anexo I). Aunque el tiempo tuvo un efecto significativo en la evolución del pH, cabe destacar que el aumento fue de 0,07 y de 0,06 unidades de pH, para la formulación F0 y F100, respectivamente. Por tanto, este ligero aumento no reflejaría el deterioro de las muestras durante el periodo de estudio. En pescado, el aumento de pH que tiene lugar conforme avanza el deterioro, está relacionado con la producción de metabolitos alcalinos procedentes del deterioro microbiológico del mismo (Abbas et al., 2008). Sin embargo, a veces, la evolución de pH no refleja la producción de compuestos básicos y no puede ser relacionado con el deterioro, como es el caso de éste y otros estudios (Li et al., 2011; Rizo et al., 2016). Esto podría deberse al crecimiento de bacterias ácido-lácticas, con la consiguiente producción de ácido láctico, que contrarrestaría el efecto de los compuestos alcalinos sobre el pH.

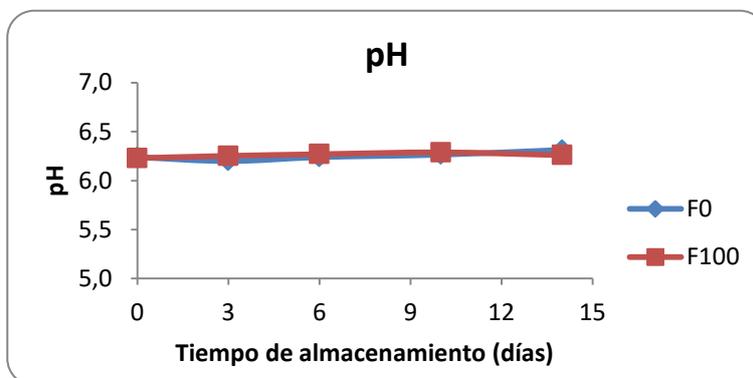


Figura 4.1. Evolución del pH durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

4.2.1.2 Humedad

En la Figura 4.2 se representa la variación de humedad a lo largo del almacenamiento en refrigeración en las seriolas frescas alimentadas con los dos piensos diferentes. Los valores iniciales de humedad se mantuvieron constantes durante el almacenamiento, no presentando diferencias significativas en la evolución de dicho parámetro, las seriolas alimentadas con los dos piensos evaluados (Tabla I.2, Anexo I).

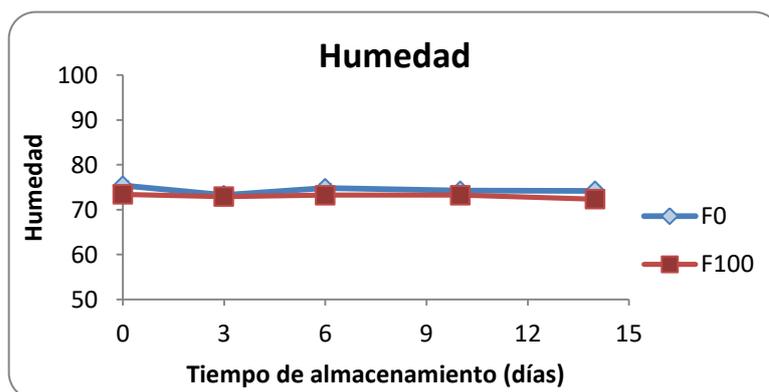


Figura 4.2. Evolución del contenido de humedad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

4.2.1.3 Nitrógeno básico volátil total (N-BVT)

El N-BVT es ampliamente utilizado como indicador del deterioro de pescado, ya que el aumento de este parámetro ha sido relacionado con el crecimiento de bacterias responsables del deterioro y con la actividad de enzimas endógenas que conducen a la pérdida de calidad del pescado (Özyurt et al., 2009). Los valores límite del nitrógeno básico volátil total varían dependiendo de la especie de pescado. Los niveles de N-BVT se ven afectados por la estación del año, región, edad o sexo, y también dependen de si el pescado es fresco o procesado. Según el Reglamento nº 2074/2005 de la Unión Europea (Comisión Europea, 2005), los límites de N-BVT por encima de los cuales el pescado no sería apto para su consumo son 25, 30 y 35 mg N/100 g de pescado, dependiendo de la especie de pescado. Para seriola no está establecido el límite en la legislación, pero se suele tomar un valor de 30 mg N/100 g como límite indicativo de deterioro, en pescados para los cuales no hay valores legales fijados (Li et al., 2011).

La Figura 4.3 muestra la evolución del N-BVT de la seriola fresca. Al inicio del estudio se obtuvieron valores de 16,33 y 18,6 mg N/100 g, para la formulación F0 y F100, respectivamente. Hubo un aumento progresivo durante el almacenamiento para ambas muestras, que evidenciaría la formación de bases volátiles debidas al crecimiento microbiano y a reacciones de deterioro autolítico. Al final del almacenamiento llegaron a valores máximos de 25,2 y 23,4 mg N/100 g (F0 y F100, respectivamente). Por tanto, atendiendo a los resultados obtenidos para este parámetro, las muestras de seriola no podrían considerarse deterioradas durante los 14 días de análisis, aunque este día los valores ya eran bastante altos.

La sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales en las dietas no afectó de forma significativa a este parámetro (Tabla I.3, Anexo I).

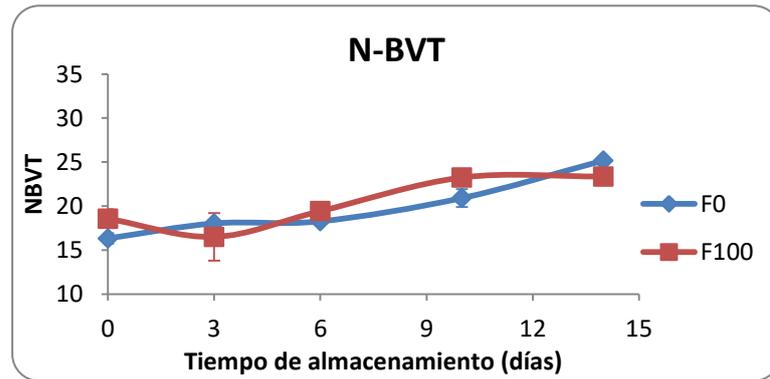


Figura 4.3. Evolución del contenido de nitrógeno básico volátil total (NBVT) durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

4.2.1.4 Índice del ácido tiobarbitúrico (TBA)

La oxidación lipídica se midió a través del índice de TBA (Figura 4.4). Este índice es el más utilizado para evaluar la extensión de la oxidación de lípidos en productos de la pesca. Se han dado diferentes límites de este parámetro que determinan que el pescado está oxidado. Según Connell (1995) a partir de 1 y 2 mg MDA (malonaldehído)/kg, el pescado puede empezar a desarrollar un olor desagradable. En otros estudios se ha establecido que niveles de 3 mg MDA/kg son indicadores de deterioro lipídico (Nishimoto et al., 1985).

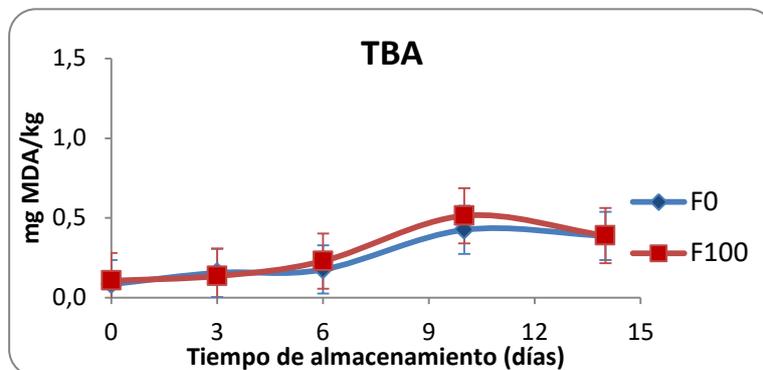


Figura 4.4. Evolución del índice de TBA durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). MDA: Malonaldehído (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

En la Figura 4.4, se observa que los niveles iniciales de TBA fueron muy bajos, debido a la nula oxidación de las muestras. Se observó un ligero aumento del índice de TBA conforme progresaba el estudio, pero los niveles más altos alcanzados no superaron los 0,5 mg MDA/kg, lo que indica que las muestras no sufrieron deterioro debido a la oxidación de su grasa. Cabe

mencionar que el contenido en grasa de la seriola fresca comentado anteriormente no fue muy elevado, lo que hace que sea menos susceptible a la oxidación lipídica.

El análisis multifactor mostró un efecto significativo del tiempo, como ya se ha mencionado, pero el tipo de aceite incluido en la formulación no afectó a este parámetro, ni tampoco la interacción entre ambos factores fue significativa (Tabla I.4, Anexo I).

4.2.1.5 Metabolitos de degradación de ATP y valor K_1

En las Figuras 4.5 y 4.6 se muestra la evolución de IMP, Ino y Hx, para las formulaciones F0 y F100, respectivamente.

Después de la muerte del pez, el ATP (adenosín trifosfato) se degrada rápidamente hasta hipoxantina. La vía de degradación del ATP es la siguiente:



ATP: adenosín trifosfato; ADP: adenosín difosfato; AMP: adenosín monofosfato; IMP: inosín-5'-monofosfato; Ino: inosina; Hx: hipoxantina

Los pasos iniciales de la degradación del ATP dan lugar a la rápida formación de IMP, por lo que los niveles de ATP, ADP y AMP, suelen ser muy bajos, incluso cuando el pescado es fresco, como ha sido puesto de manifiesto en otros estudios de pescado fresco (Li et al., 2011). La subsecuente ruptura del IMP hasta Hx ocurre paulatinamente durante el deterioro. Todos los pasos de degradación de ATP hasta llegar a Hx están catalizados por enzimas autolíticas endógenas del pescado. No obstante, los microorganismos comienzan a contribuir a la degradación de estos compuestos conforme aumenta el tiempo de almacenamiento (Fernández-Segovia, 2003).

Al inicio del estudio se obtuvieron valores elevados de IMP en ambas muestras y bajos valores de Ino y de Hx, lo que quedó reflejado en los bajos valores K_1 (Figura 4.7). Estos resultados confirman el alto grado de frescura de las seriolas analizadas. Los valores altos de IMP al comienzo del almacenamiento indican la rápida descomposición del ATP en IMP tras el sacrificio de las seriolas, tal y como se ha comentado anteriormente. Los contenidos de IMP fueron disminuyendo progresivamente durante el almacenamiento, llegando a niveles muy bajos a día 10, especialmente en el caso de la muestra F0 que experimentó un descenso más acusado. La disminución de IMP ha sido correlacionada con la pérdida de frescura en algunas especies de pescado (Howgate, 2005), por lo que, según este parámetro las seriolas alimentadas con la formulación que contenía los aceites vegetales, habrían presentado una pérdida de frescura ligeramente superior a las alimentadas con la dieta F100.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

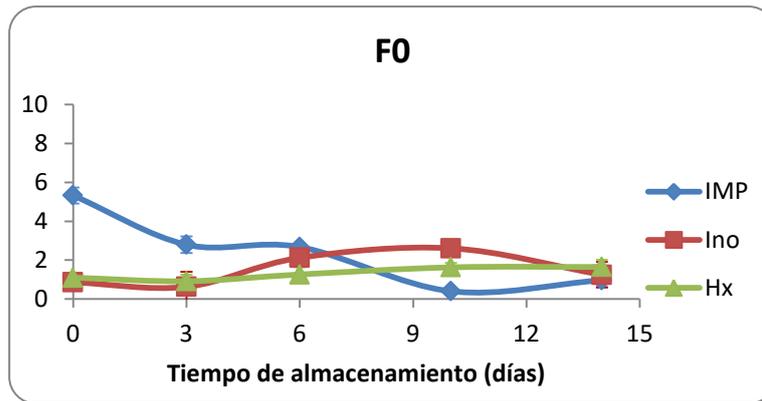


Figura 4.5. Evolución de inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) ($\mu\text{mol/g}$), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con el pienso F0. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n=2$). Código F0 en Tabla 3.1.

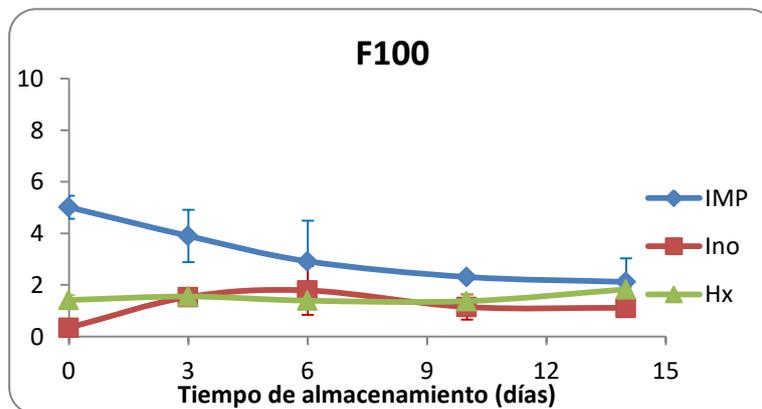


Figura 4.6. Evolución de inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) ($\mu\text{mol/g}$), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con el pienso F100. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n=2$). Código F100 en Tabla 3.1.

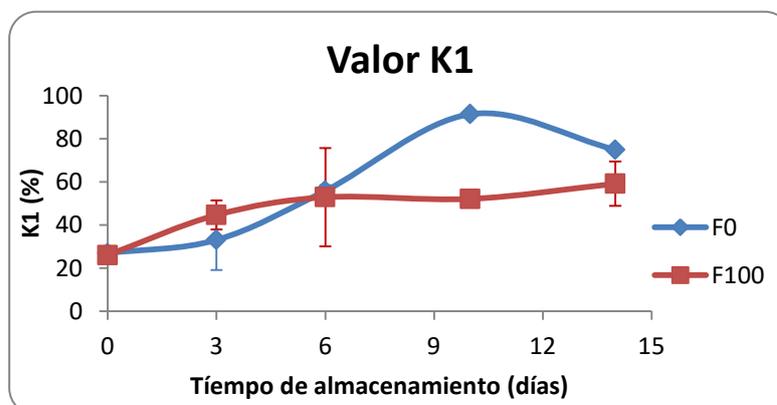


Figura 4.7. Evolución del valor K_1 durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

En ambas muestras se observó un ligero aumento de inosina, mientras que la Hx no experimentó cambios significativos durante el almacenamiento. Como resultado de estos cambios, se puede observar que el valor K_1 aumentó de forma significativa durante el tiempo, especialmente en la muestra F0. En vista a estos resultados, se podría concluir que las seriolas alimentadas con esta formulación habrían presentado un deterioro autolítico y bacteriano más rápido que las alimentadas con la dieta F100. Sin embargo, también habría que tener en cuenta que el valor K_1 no discrimina entre la concentración de Ino y Hx, y que el aumento de Hx es el que refleja en mayor medida la fase inicial de deterioro microbiano (Li et al., 2011). En ninguna de las dos muestras evaluadas hubo un aumento importante de este metabolito, lo que podría indicar que, aunque el descenso de IMP fue ligeramente mayor, no hubo un mayor deterioro microbiano en la formulación F0.

En la Tabla I.5 del Anexo I se observan los resultados obtenidos en el ANOVA multifactor para los 3 analitos comentados, junto con los del valor K_1 . Se observa el efecto significativo del tiempo en todos los casos, excepto en los valores de Hx, así como la diferencia significativa que supuso el tipo de dieta sobre el IMP y el valor K_1 , tal y como se ha comentado.

4.2.1.6 Textura

La Figura 4.8 muestra una de las curvas obtenidas en el ensayo de TPA para una muestra de seriola fresca. La evolución de los parámetros de textura obtenidos a partir de dichas curvas se puede observar en la Figura 4.9.

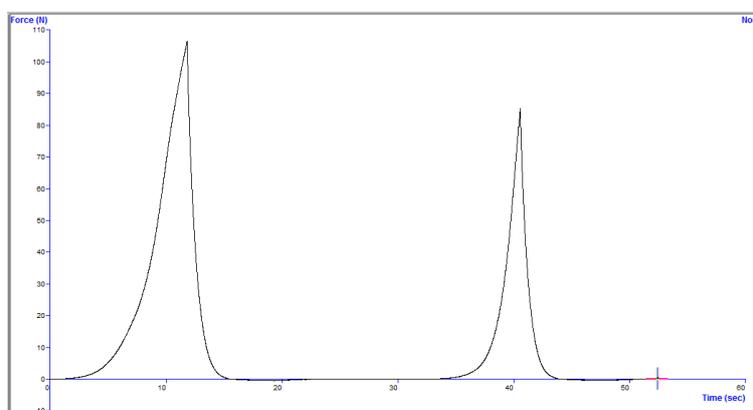


Figura 4.8. Curva obtenida en el Análisis de Perfil de Textura (TPA) para una muestra de seriola fresca.

Los valores de dureza obtenidos al inicio del estudio fueron muy similares a los dados en diferentes estudios de pescado fresco (Fernández-Segovia et al., 2012; Fuentes et al., 2013, Li et al., 2011). Se observó una disminución muy acusada de este parámetro que demuestra la pérdida de integridad de la estructura del pescado, debido a la desnaturalización de las proteínas miofibrilares del músculo, que tuvo lugar a lo largo del almacenamiento, a causa de los procesos autolíticos y microbiológicos implicados en el deterioro, tal y como ha sido expuesto por otros autores (Li et al., 2011; Ólafsdóttir et al., 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

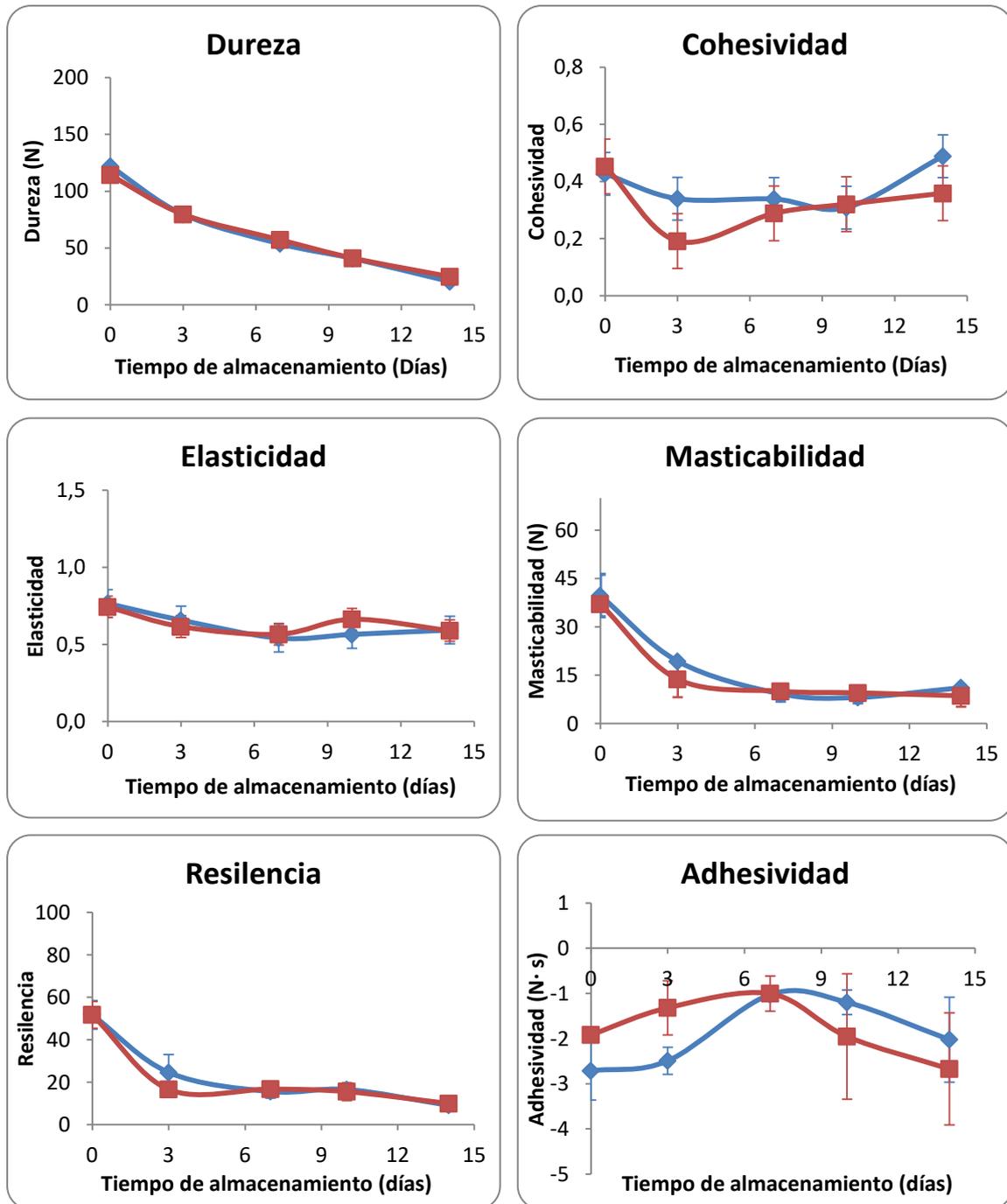


Figura 4.9. Evolución de la dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y adhesividad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes (FO (línea azul) y F100 (línea roja)). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos FO y F100 en Tabla 3.1.

En cuanto al resto de parámetros texturales, se observó una disminución especialmente en los primeros días de almacenamiento en la elasticidad, masticabilidad y resiliencia, relacionados nuevamente con el hecho de que el pescado va perdiendo firmeza y elasticidad. Sin embargo, el tiempo de almacenamiento, no fue significativo en la evolución de la cohesividad y adhesividad (Tabla I.6 del Anexo I). Tal y como mostró el ANOVA multifactor, el tipo de dieta no afectó a ninguno de los parámetros de textura de las seriolas.

4.2.2 Evolución microbiológica

4.2.2.1 **Microorganismos aerobios totales**

La Figura 4.10 muestra la evolución de los microorganismos mesófilos durante los 14 días de almacenamiento en refrigeración de seriola fresca. En este estudio se ha tomado el valor de 7 log ufc/g como límite para evaluar el deterioro microbiano, en base a los criterios de la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1986) y a numerosos trabajos de vida útil de pescado (Cai et al., 2015; Ozyurt et al., 2012).

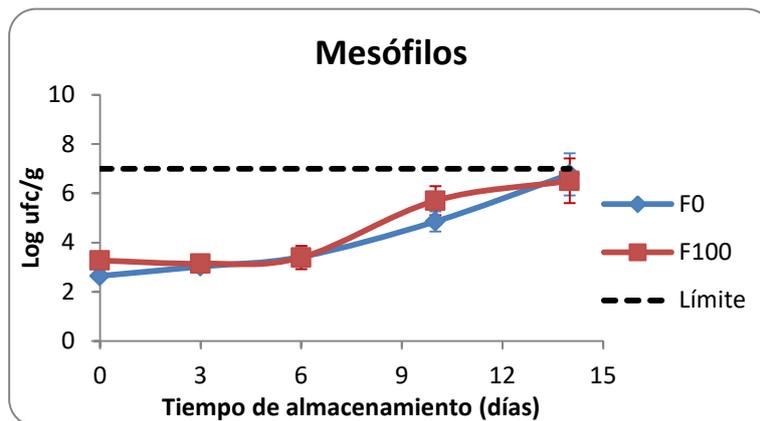


Figura 4.10. Evolución del recuento de mesófilos durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).

Los recuentos iniciales fueron bajos, correspondientes a valores hallados en diferentes estudios de pescado fresco (Fuentes et al., 2013; Li et al., 2011). Los recuentos aumentaron lentamente hasta el día 6 de almacenamiento, experimentando un aumento más acusado a partir de este tiempo, llegando al final del periodo de estudio a niveles cercanos a los establecidos como límite de aceptación para el consumo de pescado fresco. En la Tabla I.8 del Anexo I se puede observar que la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales no tuvo efecto significativo en el crecimiento de mesófilos.

En base a estos resultados se podría concluir que la vida útil de seriola fresca alimentada con ambos tipos de piensos y almacenada en refrigeración sería próxima a 14 días.

4.2.2.2 **Enterobacterias**

En la Figura 4.11 se observa el rápido crecimiento de enterobacterias en ambos tipos de muestra. Aunque el aumento de los recuentos al inicio del estudio fue superior en las muestras alimentadas con dietas que incluían en su formulación aceites vegetales, la evolución posterior fue similar en ambos tipos de seriola alcanzándose niveles del mismo orden al final del almacenamiento.

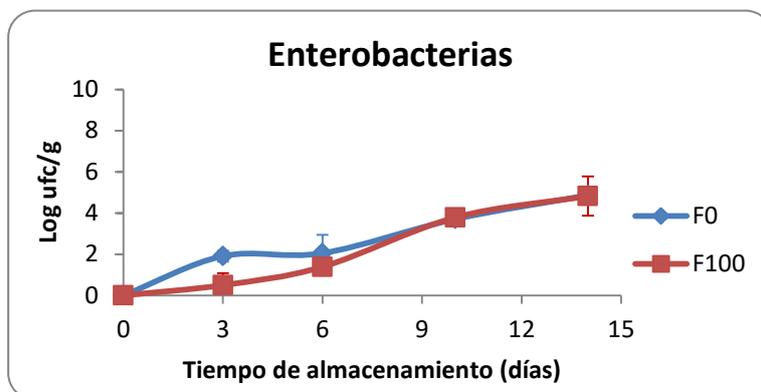


Figura 4.11. Evolución del recuento de enterobacterias durante durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).

Los recuentos alcanzados al final del estudio para este microorganismo fueron altos, y coinciden con los resultados obtenidos por Stamatis y Arkoudelos (2007) en un estudio de almacenamiento de caballa fresca conservada en refrigeración.

El ANOVA multifactor (Tabla I.7 del Anexo I) mostró un efecto significativo de los 2 factores evaluados y también de su interacción, debido a la diferente evolución de ambas muestras al inicio del estudio, como se ha comentado anteriormente.

4.3 Estudio de vida útil de seriola descongelada

4.3.1 Evolución de los parámetros físico-químicos durante el almacenamiento

4.3.1.1 pH

Los valores de pH iniciales fueron similares a los obtenidos en las muestras de seriola fresca, presentando valores estables a lo largo del almacenamiento (Figura 4.12), sin mostrar diferencias significativas entre muestras ni con el tiempo (Tabla I.8 del Anexo I).

Nuevamente se puede concluir que este parámetro no fue adecuado para evaluar la evolución del deterioro en las muestras de seriola descongeladas.

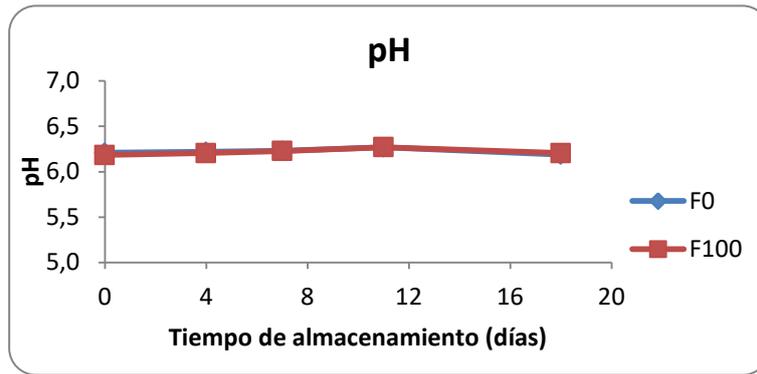


Figura 4.12. Evolución del pH durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

4.3.1.2 Humedad

En la Figura 4.13 se puede observar que la humedad fue similar a la obtenida en seriola fresca, y que este parámetro se mantuvo estable durante el almacenamiento. El tipo de aceite incluido en la dieta no afectó a este parámetro de forma significativa (Tabla I.9, Anexo I).

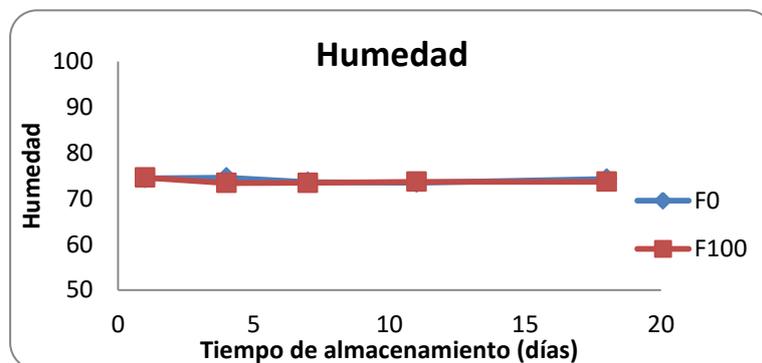


Figura 4.13. Evolución del contenido de humedad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

4.3.1.3 Nitrógeno básico volátil total (N-BVT)

Los valores iniciales de N-BVT de las muestras descongeladas (Figura 4.14) fueron ligeramente superiores a los valores hallados en seriola fresca, comentados anteriormente. Sin embargo, aunque hubo un aumento significativo a lo largo del tiempo de almacenamiento en refrigeración (Tabla I.10 del Anexo I), los valores alcanzados al final del estudio fueron similares a los de la seriola fresca. Cabe destacar que el pescado congelado, una vez descongelado es más susceptible al deterioro que el pescado fresco. El hecho de que los valores de N-BVT al

final del almacenamiento, hayan sido del mismo orden en las muestras descongeladas que en las frescas, se debería a que las descongeladas estaban envasadas a vacío y este tipo de envasado habría retrasado el deterioro, tal y como se ha visto en numerosos estudios de pescado (Fuentes et al., 2011; Stamatis y Arkoudelos; 2007).

Se puede observar que el tipo de dieta no afectó de forma significativa a la evolución de este parámetro en las seriolas descongeladas (Tabla I.10 del Anexo I).

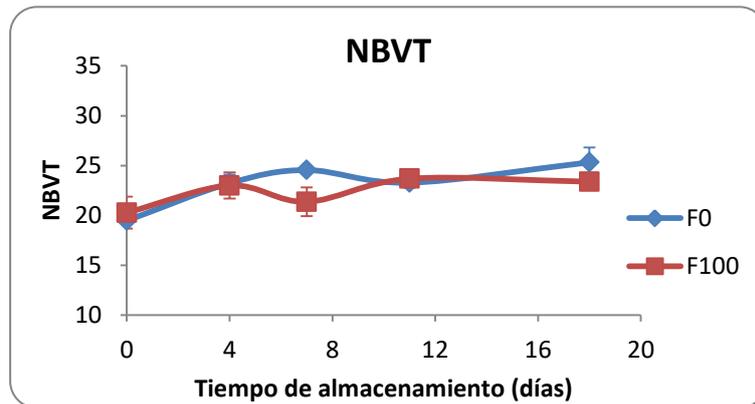


Figura 4.14. Evolución del contenido de nitrógeno básico volátil total (NBVT) durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 y F100). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n = 2$). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

4.3.1.4 Índice del ácido tiobarbitúrico (TBA)

La evolución del índice de TBA se muestra en la Figura 4.15.

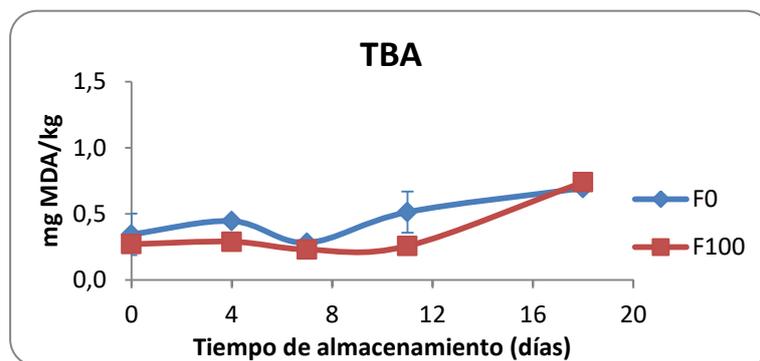


Figura 4.15. Evolución del índice de TBA durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. MDA: Malonaldehído. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n=2$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores iniciales de TBA fueron bajos, pero ligeramente superiores a los de la seriola fresca, lo que indicaría que durante el tiempo de congelación-descongelación, las muestras habían empezado a sufrir el proceso de oxidación. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Fuentes et al. (2013) que observaron un ligero aumento en el índice de TBA en dorada congelada durante 30 días y descongelada, con respecto a la dorada fresca.

Aunque hubo un aumento significativo a lo largo del tiempo (Tabla I.11 del Anexo I), los valores al final del almacenamiento fueron bajos, indicando que la oxidación de las muestras fue reducida, sin suponer el deterioro de las mismas. El ANOVA multifactor mostró que el tipo de aceite incluido en la dieta (de pescado o de vegetales) no afectó a este parámetro.

4.3.1.5 Metabolitos de degradación de ATP y valor K_1

La evolución del IMP, Ino y Hx, en seriola descongelada se muestra en las Figuras 4.16 y 4.17, para las formulaciones F0 y F100, respectivamente.

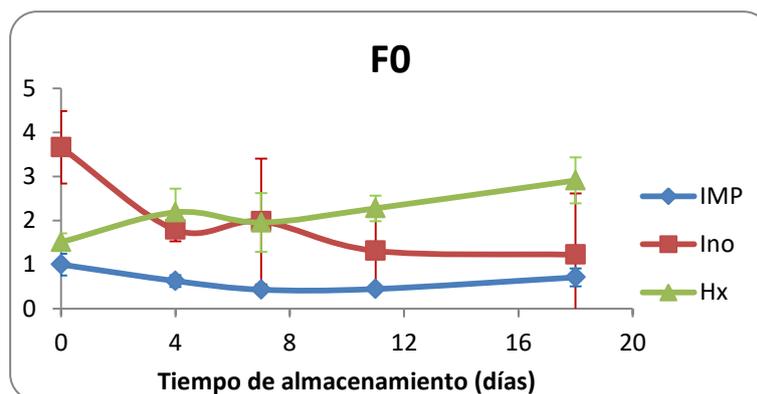


Figura 4.16. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) ($\mu\text{mol/g}$), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con el pienso F0. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n=2$).

En comparación con los resultados obtenidos en seriola fresca y comentados anteriormente (Figuras 4.5 y 4.6), cabe destacar la importante reducción que experimentó el IMP y el aumento de la Ino, tras la congelación-descongelación en ambas formulaciones, lo que indicaría la degradación autolítica del IMP y, en consecuencia, la formación de Ino. Para ambos tipos de dietas, los procesos de congelación-descongelación no influyeron en la formación inicial de Hx, ya que los valores en seriolas descongeladas fueron similares a los obtenidos en las muestras frescas. Como consecuencia de estos resultados, también se observó un mayor valor K_1 inicial de las muestras descongeladas (Figura 4.18), respecto al obtenido en las frescas (Figura 4.7). El mismo efecto de la congelación-descongelación sobre estos analitos fue observado en muestras de dorada (Fuentes et al., 2013).

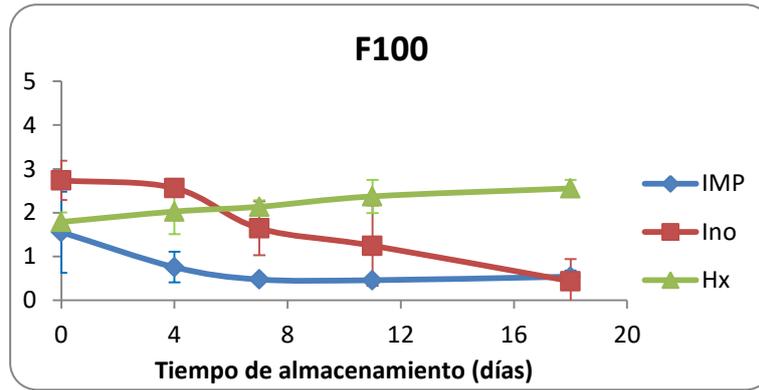


Figura 4.17. Evolución de Inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx) ($\mu\text{mol/g}$), durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con el pienso F100. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n=2$).

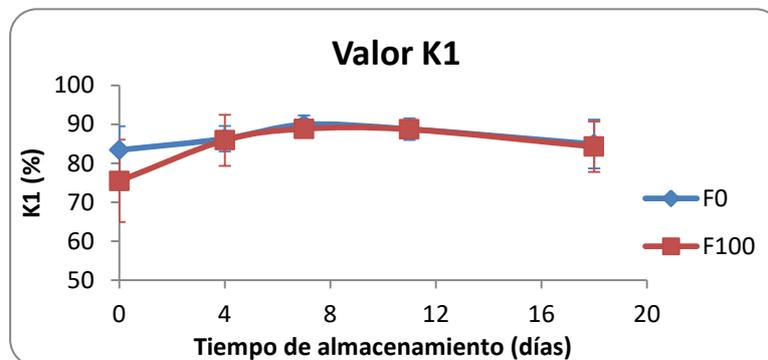


Figura 4.18. Evolución del valor K_1 durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con dos pienso diferentes. (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. $n=2$).

En cuanto a la evolución de estos tres analitos, en ambos tipos de muestras, se observó una disminución de Ino y un aumento de Hx, mostrando el IMP un ligero descenso durante el almacenamiento en refrigeración, lo que indicaría que las muestras sufrieron degradación durante el almacenamiento. Aunque el valor K_1 experimentó un ligero incremento, el efecto del tiempo no fue significativo (Tabla I.12 del Anexo I), ya que, como se ha comentado anteriormente, el valor K_1 no discrimina entre la concentración de Ino y Hx, y en este caso, el IMP varió muy poco durante el almacenamiento.

En la Tabla I.12 del Anexo I se observa que la sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales no tuvo efecto significativo en la evolución de los metabolitos derivados de la degradación de ATP.

4.3.1.6 Textura

Los valores iniciales de dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad y resiliencia en seriola descongelada (Figura 4.19) fueron inferiores a los de la seriola fresca, comentados anteriormente (Figura 4.9). Estos resultados son similares a los obtenidos en un trabajo donde se comparaba la textura de dorada fresca y descongelada (Fuentes et al., 2013), y evidencian los cambios debidos a la desnaturalización de proteínas que afectan a la textura del músculo, que tienen lugar durante los procesos de congelación y descongelación (Orak y Kayisoglu, 2008).

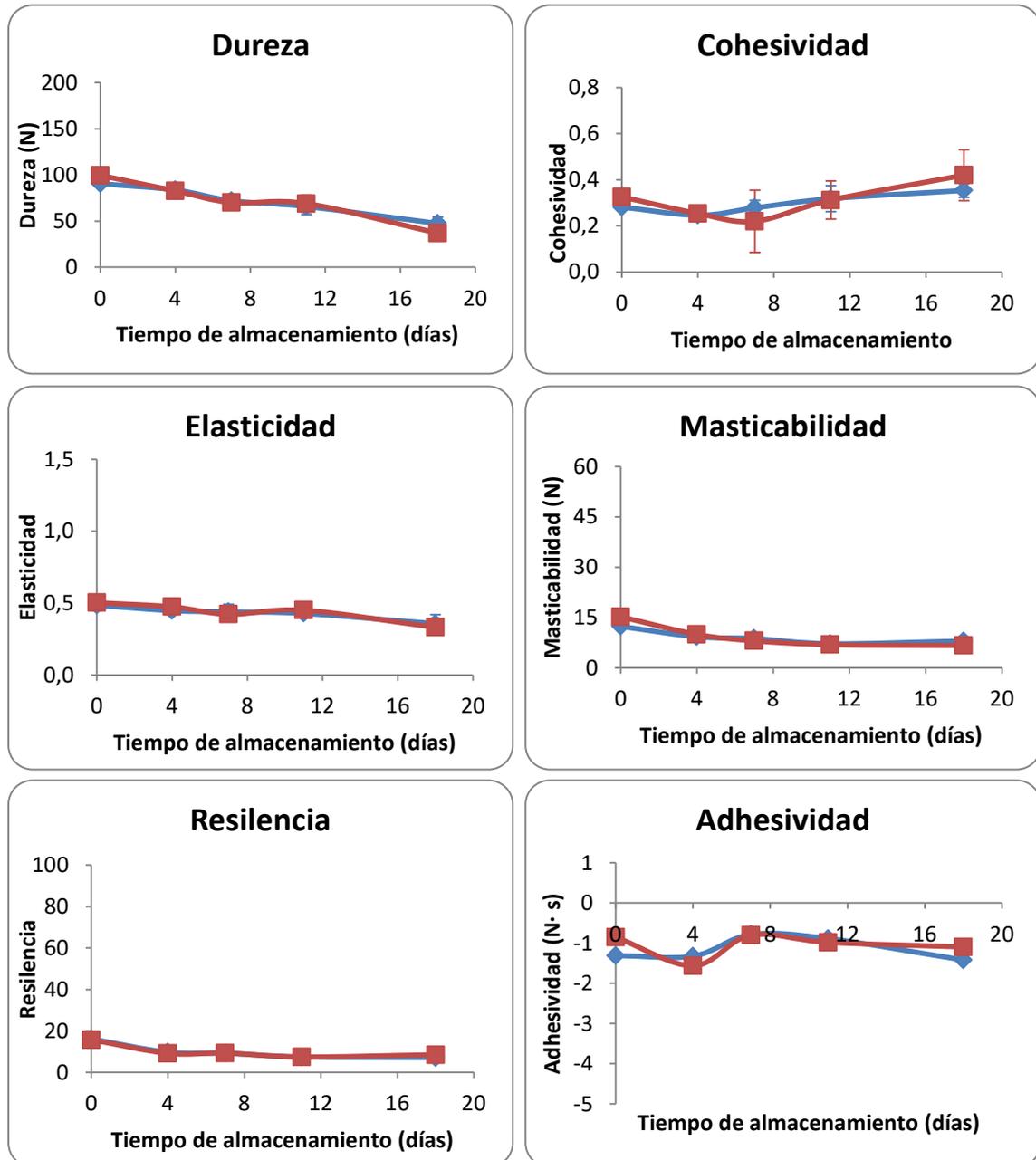


Figura 4.19. Evolución de la dureza, cohesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia y adhesividad durante el almacenamiento a 4 °C de seriola descongelada alimentada con dos piensos diferentes (F0 (línea azul) y F100 (línea roja)). (Las barras de error representan los valores de desviación estándar. n = 2). Códigos F0 y F100 en Tabla 3.1.

En cuanto a la evolución de los parámetros, se observó un patrón similar a la seriola fresca, es decir, disminución significativa de dureza, elasticidad, masticabilidad y resiliencia, que indica la pérdida de firmeza del músculo de pescado conforme avanzó el almacenamiento. Nuevamente, los parámetros de cohesividad y adhesividad no presentaron cambios significativos con el tiempo (Tabla I.13 del Anexo I). La sustitución de aceite de pescado por aceites vegetales no afectó significativamente a la textura de la seriola descongelada, al igual que sucedía en el estudio de seriola fresca.

4.3.2 Evolución microbiológica durante el almacenamiento.

4.3.2.1 Microorganismos aerobios totales

Los recuentos de microorganismos mesófilos se muestran en la Figura 4.20. Los recuentos iniciales fueron bajos, observándose un aumento importante durante el almacenamiento. Aunque las muestras de seriola alimentadas con piensos que contenían aceite de pescado presentaron niveles significativamente superiores durante el estudio, ambas muestras superaron el límite de aceptación establecido (7 log ufc/g) prácticamente al mismo tiempo (sobre el día 14 de almacenamiento).

Estos resultados coinciden con los comentados anteriormente para las muestras de seriola fresca, cuya vida útil fue próxima a 14 días. El hecho de que las muestras descongeladas tuvieran una vida útil similar a las frescas, se debe al efecto que ejerce el envasado a vacío de las muestras descongeladas, ya que, como se ha explicado anteriormente, el pescado descongelado presenta mayor tasa de deterioro que el pescado fresco.

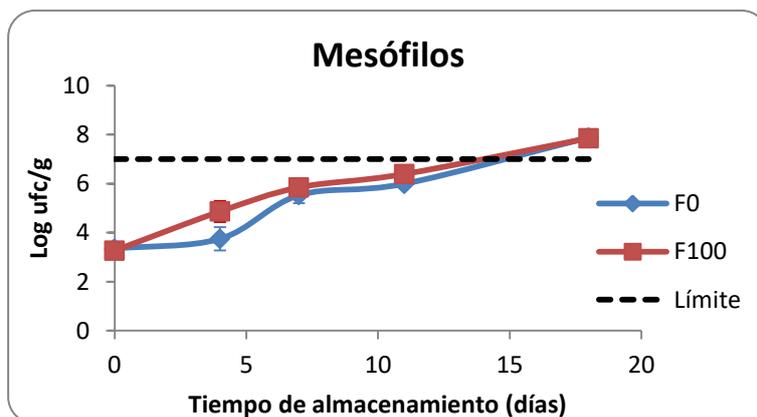


Figura 4.20. Evolución del recuento de mesófilos durante el almacenamiento a 4 °C de seriola congelada-descongelada alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).

4.3.2.2 Enterobacterias

La Figura 4.21 muestra la evolución del recuento de enterobacterias en las muestras de seriola descongeladas. Se observa que no hubo crecimiento durante los 4 primeros días de almacenamiento, experimentando a partir de este día un rápido incremento en ambas muestras que alcanzaron recuentos altos, similares a los obtenidos en seriola fresca (Figura 4.11). El tipo de dieta no afectó al crecimiento de este microorganismo, tal y como muestra la Tabla I.14 del Anexo I.

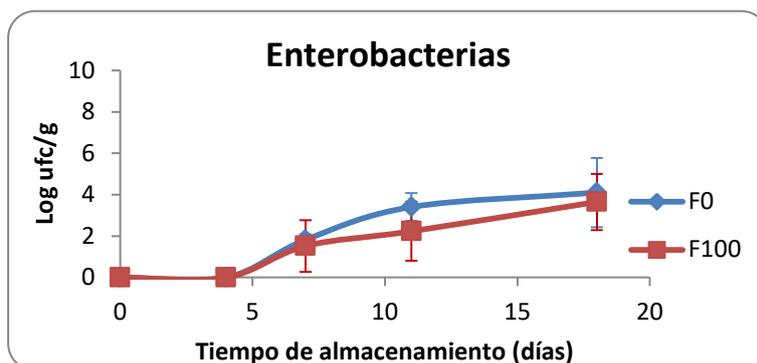


Figura 4.21. Evolución del recuento de enterobacterias durante el almacenamiento a 4 °C de seriola fresca alimentada con dos piensos diferentes. (Las barras de error representan valores de desviación estándar. n=2).

5 CONCLUSIONES

La sustitución de aceite de pescado por aceites de linaza, girasol y palma no ha supuesto cambios en la composición proximal de seriola.

El tipo de aceite presente en el pienso no ha afectado a la evolución de los parámetros físico-químicos y microbiológicos, observándose la pérdida de frescura y de calidad durante el almacenamiento, tanto en muestras de seriola fresca como descongelada, alimentadas con ambos tipos de dietas.

El proceso de congelación-descongelación ha provocado una pérdida de calidad de las muestras de seriola, independientemente de la dieta. El hecho de que las muestras descongeladas presenten peor calidad al inicio del almacenamiento, pero sigan un patrón de deterioro similar a las frescas se debe al envasado a vacío empleado en el almacenamiento de las seriolas descongeladas.

En base a los resultados obtenidos se podría establecer un periodo de vida útil próximo a 14 días, tanto para las muestras de seriola fresca como para las de seriola congelada-descongelada y envasada a vacío, alimentadas con dietas que incorporan aceites de pescado o aceites vegetales.

La sustitución de aceites de pescado por aceites vegetales no ha tenido un efecto significativo sobre la calidad y vida útil de seriola de piscifactoría fresca o congelada-descongelada. Por lo tanto, se puede afirmar que los aceites vegetales suponen una alternativa a los aceites de pescado, muy interesante en el cultivo de seriola.

6 BIBLIOGRAFÍA

A.O.A.C. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS) (1997). Official Methods of Analysis, 16th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, USA.

ABBAS, K.A.; MOHAMED, A.; JAMILAH, B.; EBRAHIMIAN, M. (2008). A review on Correlations between Fish Freshness and pH during Cold Storage. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4: 416-421.

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 ISO 21528-2:2004. *Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae -- Part 2: Colony-count method*. 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.

APROMAR, ASOCIACIÓN EMPRESARIAL DE PRODUCTORES DE CULTIVOS MARINOS (2015). *La acuicultura en España en 2015*, visto el 19 de julio de 2016 https://drive.google.com/file/d/0B4_4E-v9oqL_NmFYY3l2WnM2Yms/view.

BARAT, J.M.; GIL, L.; GARCÍA-BREIJO, E.; ARISTOY, M.C.; TOLDRÁ, F.; MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R. et al. (2008). Freshness monitoring of sea bream (*Sparus aurata*) with a potentiometric sensor. *Food Chemistry*, 108(2): 681-688.

BELL, J.G.; Mc GHEE, F.; DICK, J.R.; TOCHER, D.R. (2005). Dioxin and dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) in Scottish farmed salmon (*Salmo salar*): effects of replacement of dietary marine fish oil with vegetable oils. *Aquaculture*, 243: 305-314.

BELL, J.G.; WAAGBØ, R. (2008). Safe and Nutritious Aquaculture Produce: Benefits and Risks of Alternative Sustainable Aquafeeds. *Aquaculture in the Ecosystem*, 285: 193-200.

BOURNE, M.C. (1978). Texture profile analysis. *Food Science and Technology International*, 13: 455-460.

BOWYER, J.N.; QIN, J.G.; SMULLEN, R.P.; STONE, D.A.J. (2012). Replacement of fish oil by poultry oil and canola oil in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) at optimal and suboptimal temperatures. *Aquaculture*, 356: 211-222.

BUENTELLO, A.; JIRSA, F.; BARROWS, F.; DRAWBRIDGE, M. (2014). Minimizing fishmeal use in juvenile California yellowtail, *Seriola lalandi*, diets using non-GM soybeans selectively bred for aquafeeds. *Aquaculture*, 434: 129-136.

BURNS, B.G.; KEE, P.J. (1985). Liquid chromatographic determination of hypoxanthine content in fish tissue. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 68: 444-448.

CAI, L.; CAO, A.; LI, Y.; SONG, Z.; LENG, L.; LI, J. (2015). The effects of essential oil treatment on the biogenic amines inhibition and quality preservation of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fillets. *Food Control*, 56: 1-8.

COMISIÓN EUROPEA (2005). Reglamento nº 2074/2005 de la Comisión, de 5 de diciembre de 2005, por el que se establecen medidas de aplicación para determinados productos [...]

CONNELL, J.J. (1995). *Control of fish quality* (4th ed.). London: Fishing News Books Limited.

CRUZ-CASTELLÓN, C.A. (2015). *Sustitución del aceite de pescado en piensos para *Seriola dumerili* (Pisces: Carangidae): Efectos en el crecimiento, parámetros nutritivos, composición corporal y calidad del filete*. Tesis de Master. Universitat Politècnica de València. 49 pp.

DÍAZ-LÓPEZ, M.; PÉREZ, M.J.; ACOSTA, N.G.; TOCHER, D.R.; JEREZ, S.; DORTA-GUERRA, R.; LORENZO, A.; RODRÍGUEZ, C. (2010). Effects of dietary fish oil substitution by Echium oil on enterocyte and hepatocyte lipid metabolism of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Comparative Biochemist Physiology B*, 155: 371-379.

DÍAZ-LÓPEZ, M.; PÉREZ, M.J.; ACOSTA, N.G.; TOCHER, D.R.; JEREZ, S.; LORENZO, A.; RODRÍGUEZ, C. (2009). Effect of dietary substitution of fish oil by Echium oil on growth, plasma parameters and body lipid composition in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 15: 500-512.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (2014). *La pesca y la acuicultura sostenibles para la seguridad alimentaria y la nutrición*, visto el 20 de julio de 2016 <http://www.fao.org/3/a-i3844s.pdf>.

FERNÁNDEZ-CABALLERO, C. (2014). *Identificación y evaluación de los recursos pesqueros de la república de Guinea Bissau para su exploración sostenible*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 357 pp.

FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; FUENTES, A.; ALIÑO, M.; MASOT, R.; ALCAÑIZ, M.; BARAT, J.M. (2012). Detection of frozen-thawed salmon (*Salmo salar*) by a rapid low-cost method. *Journal of Food Engineering*, 113(2):210-216.

FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I. (2003). *Estudio de conservación de bacalao (*Gadus morhua*) desalado*. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València. 334 pp.

FOUNTOULAKI, E.; VASILAKI, A.; HURTADO, R.; GRIGORAKIS, K.; KARACOSTAS, I.; NENGAS, I.; RIGOS, G.; KOTZAMANIS, Y.; VENOU, B.; ALEXIS, M.N. (2009). Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead seabream (*Sparus aurata* L.); effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture*, 289: 317-326.

FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J.M.; SERRA, J.A. (2011). Influence of sodium replacement and packaging on quality and shelf life of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 44: 917-923.

FUENTES, A.; MASOT, R.; MASOT, R.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; RUZI-RICO, M.; ALCAÑIZ, M.; BARAT, J.M. (2013). Differentiation between fresh and frozen-thawed sea bream (*Sparus*

aurata) using impedance spectroscopy techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19: 210-217

GÁNDARA, F. (2003). *Efecto de diversos factores sobre el consumo de oxígeno de juveniles de seriola (Seriola dumerili) en condiciones de cultivo*. Tesis de Máster. Universidad de Murcia. 249 pp.

GÁNDARA, F. (2006). ¿Por qué no se ha desarrollado el cultivo de *Seriola dumerili* en el Mediterráneo? *Comunicación Técnica, CIVA 2006*, visto el 20 de julio de 2016 <http://www.repositorio.ieo.es/e-ieo/bitstream/handle/10508/1007/4984.pdf?sequence=1>

GARCÍA-GÓMEZ, A. (2000). Recent advances in nutritional aspects of *Seriola dumerili*. *Proceeding of the seminar of the CIHEAM Network on Technology of Aquaculture in the Mediterranean (TECAM)*, Zaragoza, visto el 25 de julio de 2016, <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20003006636>

GRAU, A. (1992). *Aspectos histológicos, ciclo reproductor y principales procesos patológicos de Seriola dumerili (Carangidae)*. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. 451 pp.

HARDY, R. (1988). Diet Preparation. Academic Press, Inc. USA. In: Halver, J. (ed). *Fish Nutrition*, 2: 476-549.

HERRERA-CASTILLO, N.M. (2015). *Efecto de la sustitución de la harina de pescado por una mezcla vegetal y animal en piensos, en el crecimiento y composición nutricional de Seriola dumerili*. Tesis de Master. Universitat Politècnica de València. 41 pp.

HOSFELD, C.D.; HAMMER, J.; HANDELAND, S.O.; FIVELSTAD, S.; STEFANSSON, S.O. (2009). Effects of fish density on growth and smoltification in intensive production of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Aquaculture*, 294: 236-241.

HOWGATE, P. (2005). A review of the kinetics of degradation of inosine monophosphate in some species of fish during chilled storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 41: 341–353

HULTMANN, L.; RUSTAD, T. (2002). Textural changes during iced storage of salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 11(3/4): 105-123.

ICMCF, INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (1986). Sampling plans for fish and shellfish Microorganisms in Foods 2, Sampling for Microbiological Analysis. *Principles and Scientific Applications*, 2: 181–196

IFFO, INTERNATIONAL FISHMEAL AND FISH OIL ORGANISATION (2013). *La producción de harina y aceite de pescado*, visto el 8 de agosto de 2016 <http://www.iffonet.es/la-produccion-de-harina-y-aceite-de-pescado>

KUNTTU, H.M.T.; VALTONEN, E.T.; SUOMALAINEN, L.R.; VIELMA, J.; JOKINEN, I.E. (2009). The efficacy of two immunostimulants against *Flavobacterium columnare* infection in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 26(6): 850-857.

LAZZARI, A.; BARBERA, G. (1988). First data on the fishing of yellowtail (*Seriola dumerili*) spawners in the Mediterranean basin. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 2(1): 133-142.

LI, X.; LI, J.; ZHU, J.; WANG, Y.; FU, L.; XUAN, W. (2011). *Postmortem* changes in yellow grouper (*Epinephelus awoara*) fillets stored under vacuum packaging at 0 °C. *Food Chemistry*, 126: 896-901.

MAGRAMA, MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE. (2015). *Peces óseos. Pez de limón (Seriola dumerili)*, visto el 15 de julio de 2016 http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/0059pez-limon_tcm7-354272.pdf

MALLE, P.; TAO, S.H. (1987). Rapid quantitative determination of trimethylamine using steam distillation. *Journal of Food Protection*, 50(9): 756–760.

MARINO, G.; MANDICH, A.; MASSARI, A.; ANDALORO, F.; PORRELLO, S.; FINOIA, M. G.; CEVASCO, F. (1995). Aspects of reproductive biology of the Mediterranean amberjack *Seriola dumerili* during the spawning period. *Journal of Applied Ichthyology*, 11: 9-24.

MOURENTE, G.; BELL, J.G. (2006). Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) over a long term growth study: Effects on muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comparative Biochemist Physiology B*, 145: 389-399.

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.

NISHIMOTO, J.; SUWETJA, I.K.; MIKI, H. (1985). Estimation of keeping freshness period and practical storage life of mackerel muscle during storage at low temperatures. *Memoirs of the Faculty of Fisheries Kagoshima University*, 34: 89–96.

ÓLAFSDÓTTIR, G.; NESVADBA, P.; DI NATALE, C.; CARECHE, M.; OEHLENSCHLAGER, J.; TRYGGVADOTTIR, S. V.; SCHUBRING, R.; KROEGER, M.; HEIA, K.; ESAIASSEN, M.; MACAGNANO, A.; JORGENSEN, B. M. (2004). Multisensors for fish quality determination. *Trends in Food Science and Technology*, 15: 86-93.

ORAK, H.H.; KAYISOGLU, S. (2008). Quality changes in whole, gutted and filleted three fish species (*Gadus euxinus*, *Mugil cephalus*, *Engraulis encrasicolus*) at frozen storage period (-26 °C). *Acta Scientiarum Polonorum - Tecnología Alimentaria*, 7(3): 15-28.

ÖZYURT, G.; KULEY, E.; BALIKÇI, E.; KAÇAR, Ç.; GÖKDOĞAN, S.; ETYEMEZ, M.; ÖZOGUL, F. (2012). Effect of the icing with rosemary extract on the oxidative stability and biogenic amine formation in sardine (*Sardinella aurita*) during chilled storage. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7): 2777-2786.

BIBLIOGRAFÍA

- OZYURT, G.; KULEY, E.; OZKÜTÜK, S.; OZOGUL, F. (2009). Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. *Food Chemistry*, 114(2): 505-510
- PIEDECAUSA, M.A.; MAZÓN, M.J.; GARCÍA-GARCÍA, B.; HERNÁNDEZ, M.D. (2007). Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*, 263: 211-219.
- RIZO, A.; FUENTES, A.; FERNÁNDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J.M. (2016). Feasibility of processing temperatures on the quality and shelf-life of smoke-flavoured cod. *LWT - Food Science and Technology*, 69: 546-553.
- STAMATIS, N.; ARKOUELOS, J. (2007). Quality assessment of *Scomber colias japonicus* under modified atmosphere and vacuum packaging. *Food Control*, 18: 292–300.
- SUZ-CONEJOS, S. (2014). *Formulación de piensos sostenibles para la producción de *Seriola dumerili**. Tesis de Master. Universitat Politècnica de València. 65 pp.
- SZCZESNIAK, A.S. (1973). Instrumental methods of texture measurements. In: *Texture measurement of foods*. Kramer, A.; Szczesniak, A.S. (eds.). Reidel-Publ. Co. Dordrecht.
- TURCHINI, G.M.; TORSTENSEN, B.E.; NG, W.K. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture*, 1: 10-57.
- VELAND, J. O.; TORRISSEN 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.

7 ANEXO I

Tablas multifactor

Tabla I. 1. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el pH de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

Factores	Razón-F	Valor-P
F: Formulación	1,81	0,1938
t: Día de almacenamiento	13,09	0,0000
INTERACCIONES		
Fxt	8,25	0,0004

Tabla I. 2. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de humedad de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

Factores	Razón-F	Valor-P
F: Formulación	4,57	0,0582
t: Día de almacenamiento	2,19	0,1442
INTERACCIONES		
Fxt	2,19	0,1436

Tabla I. 3. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de nitrógeno básico volátil total de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

Factores	Razón-F	Valor-P
F: Formulación	1,07	0,3255
t: Día de almacenamiento	35,51	0,000
INTERACCIONES		
Fxt	3,81	0,0392

Tabla I. 4. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el índice de TBA de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

Factores	Razón-F	Valor-P
F: Formulación	1,46	0,2550
t: Día de almacenamiento	36,04	0,000
INTERACCIONES		
Fxt	0,64	0,6475

Tabla I. 5. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino), hipoxantina (Hx) y valor K_1 de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

	Factores	Razón-F	Valor-P
IMP	F: Formulación	6,60	0,0279
	t: Día de almacenamiento	18,86	0,0001
	INTERACCIONES		
	Fxt	1,47	0,2813
Ino	F: Formulación	1,91	0,1969
	t: Día de almacenamiento	5,23	0,0155
	INTERACCIONES		
	Fxt	2,89	0,0790
Hx	F:Formulación	2,74	0,1289
	t: Día de almacenamiento	2,42	0,1171
	INTERACCIONES		
	Fxt	1,43	0,2942
Valor K_1	F: Formulación	5,00	0,0494
	t: Día de almacenamiento	16,06	0,0002
	INTERACCIONES		
	Fxt	4,13	0,0313

Tabla I. 6. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para los parámetros de textura de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

	<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Dureza	F: Formulación	0,00	0,9740
	t: Día de almacenamiento	106,80	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,43	0,7844
Cohesividad	F: Formulación	1,78	0,2119
	t: Día de almacenamiento	2,44	0,1149
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,67	0,6281
Elasticidad	F: Formulación	0,46	0,5123
	t: Día de almacenamiento	17,35	0,0002
	INTERACCIONES		
	Fxt	2,22	0,1392
Masticabilidad	F: Formulación	1,40	0,2648
	t: Día de almacenamiento	61,49	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,79	0,5552
Resiliencia	F: Formulación	0,51	0,4922
	t: Día de almacenamiento	58,07	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,75	0,5797
Adhesividad	F: Formulación	0,12	0,7316
	t: Día de almacenamiento	2,27	0,1339
	INTERACCIONES		
	Fxt	1,34	0,3197

Tabla I. 7. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para mesófilos y enterobacterias de seriola fresca, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

	<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Mesófilos	F: Formulación	2,64	0,1149
	t: Día de almacenamiento	81,14	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	1,65	0,1882
Enterobacterias	F:Formulación	7,01	0,0128
	t: Día de almacenamiento	130,91	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	3,41	0,0205

Tabla I. 8. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el pH de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
F: Formulación	0,79	0,3848
t: Día de almacenamiento	0,79	0,5430
INTERACCIONES		
Fxt	0,25	0,9079

Tabla I. 9. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de humedad de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
F: Formulación	2,45	0,1485
t: Día de almacenamiento	0,63	0,6518
INTERACCIONES		
Fxt	1,03	0,4382

Tabla I. 10. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el contenido de nitrógeno básico volátil total de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
F: Formulación	3,46	0,0926
t: Día de almacenamiento	11,58	0,0009
INTERACCIONES		
Fxt	2,84	0,0822

Tabla I. 11. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para el índice de TBA de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

Factores	Razón-F	Valor-P
F: Formulación	2,01	0,1899
t: Día de almacenamiento	5,76	0,0140
INTERACCIONES		
Fxt	0,58	0,6860

Tabla I. 12. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para inosina-5'-monofosfato (IMP), inosina (Ino), hipoxantina (Hx) y valor K_1 de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

	Factores	Razón-F	Valor-P
IMP	F: Formulación	0,54	0,4800
	t: Día de almacenamiento	4,12	0,0315
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,65	0,6413
Ino	F: Formulación	0,51	0,4903
	t: Día de almacenamiento	4,62	0,0226
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,64	0,6459
Hx	F: Formulación	0,00	0,9794
	t: Día de almacenamiento	3,83	0,0385
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,41	0,7977
Valor K_1	F: Formulación	0,68	0,4274
	t: Día de almacenamiento	2,10	0,1563
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,37	0,8280

Tabla I. 13. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para los parámetros de textura de seriola en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

	<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Dureza	F: Formulación	0,02	0,9042
	t: Día de almacenamiento	65,56	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	2,27	0,1332
Cohesividad	F: Formulación	0,14	0,7155
	t: Día de almacenamiento	3,04	0,0698
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,55	0,7062
Elasticidad	F: Formulación	0,10	0,7534
	t: Día de almacenamiento	10,70	0,0012
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,50	0,7347
Masticabilidad	F: Formulación	0,69	0,4248
	t: Día de almacenamiento	65,37	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	5,83	0,0109
Resiliencia	F: Formulación	0,04	0,8408
	t: Día de almacenamiento	29,63	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,35	0,8381
Adhesividad	F: Formulación	0,26	0,6207
	t: Día de almacenamiento	1,84	0,1978
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,59	0,6761

Tabla I. 14. Valores de Razón-F y Valor-P, obtenidos en el ANOVA multifactor para mesófilos y enterobacterias de seriola descongelada, en función de los factores: tipo de formulación (F), días de almacenamiento (t) y su interacción (F x t).

	<i>Factores</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Mesófilos	F: Formulación	18,25	0,0002
	t: Día de almacenamiento	382,44	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	7,11	0,0004
Enterobacterias	F: Formulación	1,69	0,2031
	t: Día de almacenamiento	26,92	0,0000
	INTERACCIONES		
	Fxt	0,53	0,7131