

UNIVERSIDAD DE LEÓN

DEPARTAMENTO DE HIGIENE Y
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

ÁREA DE NUTRICIÓN Y BROMATOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

**EFEECTO DEL ALMACENAMIENTO SOBRE
EL VALOR NUTRITIVO, LA CALIDAD
HIGIÉNICO-SANITARIA Y SENSORIAL DE
LA TRUCHA ARCO-IRIS (*Oncorhynchus
mykiss*) PROCESADA MEDIANTE LA
TECNOLOGÍA *SOUS-VIDE***

**Álvaro Villarino Rodríguez
León, 2009**

*A María y Alejandro
A mis padres*

Agradecimientos

Al terminar esta Tesis Doctoral quiero expresar públicamente mi más sincero agradecimiento a quienes a lo largo de todos estos años me han prestado su apoyo tanto personal como profesional. Solo aquellos que previamente han tenido la oportunidad de afrontar el reto y esfuerzo que supone una tesis doctoral saben que aunque ésta pueda parecer un trabajo individual, nada está más lejos de la realidad. Los apoyos recibidos para el buen fin de esta etapa han sido muchos, los errores por el contrario han sido exclusivamente míos.

En primer lugar quiero dirigir mi más sincero agradecimiento a mis directoras de Tesis, las doctoras M^a del Camino García Fernández y M^a Trinidad García Arias por haberme dado la oportunidad de poder realizar este trabajo, por vuestro constante apoyo y asesoramiento en todos los aspectos de las investigaciones y elaboración de esta Tesis, por todo lo que he aprendido de vosotras, así como por la confianza que depositasteis en mí.

A María, por todos los motivos imaginables (incluido Alejandro), por tu apoyo constante, por ser amiga, compañera, esposa y cabeza serena en todo momento, por estar siempre ahí, en las alegrías y en las penas, y por tu absoluta confianza en mí.

A Bernardo, quien aparte de tu amistad, nunca eludiste una discusión ni dejaste de responder a mis constantes preguntas, gracias por escucharme. Tu apoyo ha sido fundamental.

A Cris por tu comprensión y compañía en los momentos de estrés en los que tuviste que soportar mi mal humor; tu presencia en esta andadura ha sido, es y será siempre reconfortante.

No puedo olvidar a mis compañeros y amigos del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL) y del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León con los que he compartido incontables horas de trabajo.

Mi gratitud más especial a mis padres, M^a Carmen y Cayetano, a quienes por su proyecto de vida, tesón, apoyo y generosidad con sus hijos les debo todo. Esto es también vuestro premio.

A mi hermana y a mis amigos, por los buenos momentos compartidos. Espero no defraudaros.

A la Excm. Diputación Provincial de León por haberme concedido una beca de investigación FPI y a la empresa Catering de Celis por habernos cedido desinteresadamente sus instalaciones durante la toma de muestra.

Por último, para intentar asegurarme de no quedar mal con nadie, si me olvido de mencionar a alguien explícitamente y esa persona no sabe si cuenta entre la gente a la que debo agradecimientos, que me perdone primero y que tenga por seguro que sí después.

Como he dicho anteriormente, de los errores y omisiones soy el único responsable, por supuesto.

*Álvaro Villarino Rodríguez
Agosto de 2009*

"... Cuando creáis haber encontrado un hecho científico importante y os apremie el deseo de publicarlo, esperad unos días o unas semanas, o años; es preciso luchar, comprobar e incluso destruir los experimentos propios, es preciso agotar todas las hipótesis contrarias antes de proclamar el descubrimiento. Pero luego, al cabo de esfuerzos tan arduos, cuando la certeza llega, vuestra alegría será una de las más grandes que puede experimentar el alma humana..."

Louis Pasteur

Químico y biólogo francés, (1822 - 1895)

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	19
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	25
I.- LA TRUCHA ARCO-IRIS (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	27
I.1.- EL PESCADO COMO ALIMENTO.....	27
I.2.- GENERALIDADES DE LA ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO	27
I.3.- EL CULTIVO DE LA TRUCHA ARCO-IRIS.....	29
I.3.1.- Definición de Acuicultura.	29
I.3.2.- Breve Historia de la Acuicultura.....	29
I.3.3.- La Acuicultura en el Mundo.	30
I.3.4.- La Acuicultura en España.....	32
I.4.- MICROBIOLOGÍA DE LA TRUCHA CRUDA PROCEDENTE DE LA ACUICULTURA	33
I.4.1.- Pautas Generales de la Alteración del Pescado	33
I.4.2.- Flora Inicial del Pescado Crudo y su Evolución	33
I.4.3.- La Invasión Microbiana.....	35
I.4.4.- La Calidad Sanitaria.....	36
I.5.- CALIDAD NUTRICIONAL DE LA TRUCHA CRUDA	37
I.5.1.- Proteína: cantidad y calidad.....	38
I.5.2.- Los Compuestos nitrogenados no proteicos.....	40
I.5.3.- Lípidos.....	41
I.5.5.- Minerales.....	45
I.6.- CALIDAD SENSORIAL DE LA TRUCHA CRUDA	47
II.- LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE.....	50
II.1.- DEFINICIONES	50
II.1.1.- Categoría uno: “LA CUISSON SOUS-VIDE”	50
II.1.2.- Categoría dos: “COOK-CHILL” y “HOT-FILL”	51
II.2.- HISTORIA DE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE.....	53
II.2.1.- Sistema Nacka.....	54
II.2.2.- Sistema AGS.....	54
II.2.3.- Sistema Capkold.....	55
II.2.4.- Georges Pralus	56
II.3.- EQUIPOS EMPLEADOS EN LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE	60
II.3.1- EL MATERIAL DE ENVASADO:	60
a) Resistencia a las altas temperaturas:	61

b) Impermeabilidad a los gases:.....	62
c) Restricción a la migración de los constituyentes del plástico:.....	63
d) Resistencia mecánica:.....	63
II.3.2- EL EQUIPO DE ENVASADO:.....	64
a) Máquinas de envasado en la industria alimentaria:.....	64
b) Máquinas de envasado en empresas de catering:.....	65
II.3.3- EL SISTEMA DE COCCIÓN/PASTEURIZACIÓN EMPLEADO:.....	67
a) Máquinas de envasado en la industria alimentaria:.....	67
• Calentamiento por combinación aire/calor.....	67
• Calentamiento / enfriamiento con agua.....	69
• Calentamiento con corrientes de agua (<i>streaming water</i>).....	70
• Calentamiento por microondas.....	71
b) Equipamiento en el Sector del Catering:.....	72
II.4.- MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA	
TECNOLOGÍA SOUS-VIDE.....	74
II.4.1- INTRODUCCIÓN:.....	74
II.4.2- PRINCIPALES MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS PROCESADOS SOUS-VIDE:	
.....	75
II.4.3- TRATAMIENTO TÉRMICO NECESARIO:.....	77
II.4.4- IMPORTANCIA DE LA CADENA DEL FRÍO:.....	83
II.4.5- EL USO DE BARRERAS ADICIONALES:.....	84
II.4.6- APLICACIÓN DEL SISTEMA APPCC A LOS ALIMENTOS PROCESADOS SOUS-VIDE: ..	86
II.4.7- CRITERIOS SOBRE LA SEGURIDAD DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS SOUS-VIDE:	
.....	88
II.5.- CALIDAD NUTRICIONAL LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA	
TECNOLOGÍA SOUS-VIDE.....	92
II.5.1- CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA	
TECNOLOGÍA SOUS-VIDE:.....	93
a) Platos a base de carne.....	93
b) Platos a base de pescado.....	95
c) Platos a base de vegetales.....	95
II.6.- CALIDAD SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA	
TECNOLOGÍA SOUS-VIDE.....	97
II.6.1- TÉCNICAS PARA EVALUAR LA CALIDAD SENSORIAL DE UN ALIMENTO:.....	97
II.6.2- CALIDAD SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA	
TECNOLOGÍA SOUS-VIDE:.....	99
a) Platos a base de carne de vacuno o porcino:.....	100
b) Platos a base de carne de pollo:.....	101
c) Platos a base de pescado:.....	103
d) Platos a base de frutas y verduras:.....	104
II.6.3- ACEPTACIÓN DE LOS PRODUCTOS SOUS-VIDE POR PARTE DE LOS	
CONSUMIDORES:.....	105

III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	113
III.I.- ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.	117
III.I.1.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	117
III.I.2.- DETERMINACIÓN DE PH Y ACTIVIDAD DE AGUA.....	119
III.I.3.- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	119
III.II.- ESTUDIO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL.	126
III.II.1.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	126
III.II.2.- ESTUDIO DEL CONTENIDO EN NUTRIENTES DEL ALIMENTO A LO LARGO DEL ALMACENAMIENTO EN LOS DISTINTOS TIPOS DE PROCESADOS.	133
III.II.2.1.- TOMA DE MUESTRA Y ANÁLISIS REALIZADOS.....	133
III.II.2.2.- TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS.....	135
III.II.2.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	139
III.II.3.- ENSAYO BIOLÓGICO.....	140
III.II.3.1.- ANIMALES E INSTALACIONES.....	140
III.II.3.2.- DISEÑO Y ELABORACIÓN DE LAS DIETAS.....	142
III.II.3.3.- ESQUEMA EXPERIMENTAL.....	143
III.II.3.4.- PARÁMETROS CONTROLADOS.....	144
III.II.3.5.- ÍNDICES UTILIZADOS.....	145
III.II.3.6.- COMPOSICIÓN DEL CORRECTOR VITAMÍNICO.....	147
III.II.3.7.- COMPOSICIÓN DEL CORRECTOR MINERAL.....	148
III.II.3.8.- ANÁLISIS DEL CONTENIDO EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO.....	149
III.II.3.9.- ANÁLISIS DEL CONTENIDO EN ALGUNOS MINERALES DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO.....	150
III.III.- ESTUDIO DE LA CALIDAD SENSORIAL.	151
III.III.1.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	151
III.III.2.- TIPOS DE PRUEBAS.....	151
III.III.3.- CONDICIONES GENERALES DE LAS PRUEBAS.....	151
III.III.4.- DISEÑO DE LA PRUEBA DESCRIPTIVA SIMPLE.....	153
III.III.5.- DISEÑO DE LA PRUEBA DISCRIMINATORIA.....	155
IV. RESULTADOS.....	159
IV.I.- ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.....	161
IV.I.1.- TABLA M.1. Valores medios de pH.....	163
IV.I.2.- TABLA M.2. Valores medios de actividad de agua.....	164

IV.I.3.- Figura M.1. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento sobre el pH	165
IV.I.4.- Figura M.2. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento sobre la actividad de agua	166
IV.I.5.- Figura M.3. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora aerobia mesófila.....	167
IV.I.6.- Figura M.4. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora anaerobia mesófila.....	168
IV.I.7.- Figura M.5. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora psicrotrofa.....	169
IV.I.8.- Figura M.6. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora acidoláctica.....	170
IV.I.9.- Figura M.7. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de esporulados aerobios.....	171
IV.I.10.- Figura M.8. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de esporulados anaerobios.....	172
IV.II.- ESTUDIO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL.....	173
IV.II.1.- Tabla N.1. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días.	175
IV.II.2.- Tabla N.2. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días.	176
IV.II.3.- Tabla N.3. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días.	177
IV.II.4.- Tabla N.4. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g alimento)	178
IV.II.5.- Tabla N.5. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g alimento)	179
IV.II.6.- Tabla N.6. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g alimento)	180

IV.II.7.- Tabla N.7. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometido a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g sustancia seca)	181
IV.II.8.- Tabla N.8. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g sustancia seca)	182
IV.II.9.- Tabla N.9. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g sustancia seca)	183
IV.II.10.- Tabla N.10. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).	184
IV.II.11.- Tabla N.11. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).....	185
IV.II.12.- Tabla N.12. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).....	186
IV.II.13.- Tabla N.13. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).....	187
IV.II.14.- Tabla N.14. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).	188
IV.II.15.- Tabla N.15. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).	189
IV.II.16.- Tabla N.16. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).....	190
IV.II.17.- Tabla N.17. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	191
IV.II.18.- Tabla N.18. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	192

IV.II.19.- Tabla N.19. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento)	193
IV.II.20.- Tabla N.20. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de alimento).....	194
IV.II.21.- Tabla N.21. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de alimento).....	195
IV.II.22.- Tabla N.22. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de aminoácidos determinados)	196
IV.II.23.- Tabla N.23. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de aminoácidos determinados).....	197
IV.II.24.- Tabla N.24. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de aminoácidos determinados).....	198
IV.II.25.- Tabla N.25. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento)	199
IV.II.26.- Tabla N.26. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).	200
IV.II.27.- Tabla N.27. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).	201
IV.II.28.- Tabla N.28. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C.....	202
IV.II.29.- Tabla N.29. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C.	203
IV.II.30.- Tabla N.30. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C.	204
IV.II.31.- Tabla N.31. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g alimento)	205
IV.II.32.- Tabla N.32. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g alimento).....	206

IV.II.33.- Tabla N.33. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g alimento)	207
IV.II.34.- Tabla N.34. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g de sustancia seca).....	208
IV.II.35.- Tabla N.35. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g de sustancia seca).	209
IV.II.36.- Tabla N.36. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g de sustancia seca).	210
IV.II.37.- Tabla N.37. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	211
IV.II.38.- Tabla N.38. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	212
IV.II.39.- Tabla N.39. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	213
IV.II.40.- Tabla N.40. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).....	214
IV.II.41.- Tabla N.41. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).215	
IV.II.42.- Tabla N.42. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).	216
IV.II.43.- Tabla N.43. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	217
IV.II.44.-Tabla N.44. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesado sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	218
IV.II.45.- Tabla N.45. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)	219
IV.II.46.- Tabla N.46. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de alimento)	220

IV.II.47.- Tabla N.47. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de alimento).....	221
IV.II.48.- Tabla N.48. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de alimento)	222
IV.II.49.- Tabla N.49. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g aminoácidos determinados). ...	223
IV.II.50.- Tabla N.50. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g aminoácidos determinados).	224
IV.II.51.- Tabla N.51. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g aminoácidos determinados).....	225
IV.II.52.- Tabla N.52. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).	226
IV.II.53.- Tabla N.53. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).227	
IV.II.54.- Tabla N.54. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).	228
IV.II.54.- Tabla. N.54. Composición en nutrientes de las dietas utilizadas en el ensayo (gramos/100 gramos sustancia seca)	229
IV.II.55.- Tabla. N.55. Composición del corrector vitamínico (mg/Kg de dieta)	229
IV.II.56.- Tabla. N.56. Composición del corrector mineral (mg/100g de dieta)	230
IV.II.57.- Tabla N.57. Análisis del contenido en nutrientes de las dietas utilizadas en el ensayo (g/100 g dieta)	231
IV.II.58.- Tabla N.58. Análisis del contenido en nutrientes de las dietas Utilizadas en el ensayo (g/100 g sustancia seca).....	231
IV.II.59.- Tabla N.59. Análisis del contenido en algunos minerales (Ca, Mg, P, Na, K, Fe, Cu y Zn) de las dietas utilizadas en el ensayo	232
IV.II.60.- Tabla N.60. Eficacia alimentaria de dietas cuya fuente proteica son la trucha cruda y tratada sous vide (g/100 g sustancia seca).....	233
IV.II.61.- Tabla N.61. Utilización nutritiva de la proteína de la trucha cruda y tratada sous vide.	234
IV.II.62.- Tabla N.62. Balance de calcio con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	235
IV.II.63.- Tabla N.63. Balance de magnesio con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	236

IV.II.64.- Tabla N.64. Balance de fósforo con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	237
IV.II.65.- Tabla N.65. Balance de hierro con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	238
IV.II.66.- Tabla N.66. Balance de cobre con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	239
IV.II.67.- Tabla N.67. Balance de zinc con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	240
IV.II.68.- Tabla N.68. Contenido mineral del hígado de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	241
IV.II.69.- Tabla N.69. Contenido mineral del bazo de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.....	242
IV.II.70.- Figura N.2. CDA, VBA y UNPA de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada <i>sous vide</i> , referenciadas a las ratas patrón (Caseína-Metionina).....	243
IV.III.- ESTUDIO DE LA CALIDAD SENSORIAL.....	245
IV.III.1.- Tabla S.1.- Puntuaciones medias de los 10 miembros del jurado de relativas a la valoración sensorial de la apariencia, olor, sabor, rancidez y textura de las muestras TvO y TvO ₃ (2°C).....	247
IV.III.2.- Tabla S.2.- Perfil descriptivo correspondiente a las muestras TvO y TvO ₃ (2° C)..	247
IV.III.3.- Tabla S.3.- Resultado de la prueba triangular.....	248
V. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	249
V.I.- ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.....	251
V.I.1.- INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	251
▪ PH Y ACTIVIDAD DE AGUA:	251
▪ CALIDAD MICROBIOLÓGICA	251
V.I.2.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	253
V.II.- ESTUDIO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL.....	257
V.II.1.- COMPARACIÓN DE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE CON UN TRATAMIENTO TRADICIONAL. INFLUENCIA DEL COCINADO CON O SIN DISTINTOS TIPOS DE ACEITE (OLIVA Y GIRASOL).....	257
V.II.1.1 CONTENIDO EN NUTRIENTES DE LA TRUCHA ARCO-IRIS CRUDA.....	257
V.II.1.2 COMPARATIVA DE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE CON EL COCINADO TRADICIONAL.....	259
▪ CONTENIDO EN AGUA Y MACRONUTRIENTES.	259

▪	CONTENIDO EN AMINOÁCIDOS.....	266
▪	CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS.....	263
▪	CONTENIDO EN MINERALES.....	261
V.II.2.-	ESTUDIO DEL ALMACENAMIENTO DE LA TRUCHA PROCESADA SOUS-VIDE A DISTINTOS TIEMPOS (3, 21 Y 45 DÍAS) Y TEMPERATURAS (2° Y 10° C)	267
▪	CONTENIDO EN MACRONUTRIENTES.....	267
▪	CONTENIDO EN AMINOÁCIDOS.....	271
▪	CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS.....	270
▪	CONTENIDO EN MINERALES.....	269
V.II.3.-	INFLUENCIA DEL CONSUMO DE TRUCHA (CRUDA Y PROCESADA) SOBRE LA UTILIZACIÓN DE MINERALES.....	272
▪	BALANCE DE HIERRO.....	272
▪	BALANCE DE COBRE.....	274
▪	BALANCE DE ZINC.....	275
▪	BALANCE DE FÓSFORO.....	276
▪	BALANCE DE MAGNESIO.....	277
▪	BALANCE DE CALCIO.....	278
V.II.4.-	UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE LA TRUCHA. INFLUENCIA DEL CONSUMO DE TRUCHA CRUDA, COCINADA DE MODO TRADICIONAL O SOUS VIDE ALMACENADA A 2° Y 10° C DURANTE 3, 21 Y 45 DÍAS	280
▪	VALOR NUTRITIVO DE LA PROTEÍNA.....	280
V.III.-	ESTUDIO DE LA CALIDAD SENSORIAL.....	282
VI.	CONCLUSIONES.....	287
VII.	BIBLIOGRAFÍA	293

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

En las últimas décadas, como consecuencia de la implantación de **nuevos estilos de vida**, los consumidores están demandando cada vez más **alimentos** que se compran dispuestos o casi dispuestos para su **consumo inmediato**. Ante esta situación, las **empresas alimentarias** con el fin de dar rápida **respuesta a estas demandas del mercado** están desarrollando **nuevas tecnologías en el procesado de alimentos**. Estas nuevas tecnologías, además deben dar lugar a alimentos que mantengan en la medida de lo posible las **máximas características sensoriales, nutricionales y microbiológicas** que los mismos alimentos procesados por **métodos tradicionales**. Una de estas nuevas tecnologías es la **TECNOLOGÍA SOUS-VIDE** o **- COCCIÓN BAJO VACÍO** –

La **tecnología sous-vide** o **cocción bajo vacío** es un método completo de cocinado de alimentos donde los **ingredientes crudos o precocinados** de alta calidad se introducen en **bolsas u otros recipientes de alta resistencia al calor** que **son sellados térmicamente al vacío antes de ser sometidos a un tratamiento térmico de pasterización**, tras el cual, son **enfriados rápidamente y mantenidos a temperaturas de refrigeración** hasta su consumo, momento en el cual son recalentados.

Esta **tecnología sous-vide**, al igual que otras “nuevas tecnologías” como el **cook-fill**, **hot-fill** o **cook-freeze**, se está implantando cada vez más en nuestro país. Los platos precocinados y preparados por este sistema constituyen un heterogéneo conjunto de ofertas muy diferentes que, en general, muestran un comportamiento muy dinámico, fruto de la innovación continua que caracteriza cada vez más al sector agroalimentario. La irrupción de nuevas presentaciones es un elemento clave que explica el continuo crecimiento de la demanda que está experimentando este tipo de productos. Los **platos preparados** parecen adecuarse perfectamente a las características de un segmento cada vez más importante de consumidores: personas con poco tiempo y disposición para cocinar, hogares monoparentales, ingresos medio-altos, etc. Según datos del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, el consumo total de platos preparados en España durante el pasado año 2007 fue de 476.684 toneladas, lo que implica un consumo per cápita de 10,68 kg/persona/año (MAPA, 2008). De forma más concreta, la producción de platos cocinados refrigerados con una vida útil de 9 a 20 días, como el caso de platos procesados mediante la tecnología sous-vide, han sufrido un incremento espectacular en los últimos años en el mercado francés (mercado de obligada referencia para España) y previsiblemente lo hará en el mercado de nuestro país, ya que a la demanda de este tipo de productos por las causas descritas anteriormente, se suma la alta calidad sensorial que adquieren los platos así

procesados, manteniendo en muchos casos, un gusto que recuerda a la cocina tradicional no desentonado con la cultura culinaria típica de nuestro país. Así, según los últimos informes *Consumer Survey*, de la empresa de investigación de mercados *AC Nielsen*, un 14% de los consumidores Españoles compra platos preparados de forma habitual y un 48% lo hace ocasionalmente (MERCASA, 2007)

Uno de los alimentos que se adaptan muy bien esta tecnología son los **productos de la pesca**, en especial los pescados grasos y semigrasos. Hoy en día se sabe que los **ácidos grasos poliinsaturados**, fundamentalmente de la familia w-3, que aportan este grupo de alimentos, son esenciales para el desarrollo y juegan un papel importante en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades por sus propiedades hipolipemiente e hipertensivo, antiagregante y vasodilatador entre otras.

Otro aspecto a tener en cuenta es la gran controversia que existe en la comunidad científica, sobre el **tratamiento térmico** al cual deben ser sometidos los distintos alimentos procesados por esta tecnología. Así, mientras algunos autores consideran la calidad sensorial de estos alimentos como un factor muy importante a tener en cuenta y recomiendan tratamientos térmicos mínimos, dirigidos principalmente a inactivar las formas vegetativas de los **microorganismos psicrotrofos anaerobios**, o proponen la presencia de *Enterococcus faecalis* o *Listeria monocytogenes*, como **microorganismos indicadores** para evaluar la seguridad microbiológica de estos productos; otros autores prestan especial atención al crecimiento e inactivación y producción de toxinas por parte de cepas no proteolíticas de *Clostridium botulinum*, lo que supone tratamientos térmicos más severos, que sin duda repercuten sobre la calidad sensorial final de este tipos de productos.

Por todo lo dicho anteriormente, se hace especialmente importante **el estudio del efecto que esta tecnología tiene sobre el valor nutritivo, calidad higiénico-sanitaria y sensorial de los alimentos así procesados**, temática incluida tanto en el **VII Programa Marco de la UE**, dentro del Programa “Cooperación” en su área temática 2: “*Alimentación, agricultura y biotecnología*” que al igual que en los anteriores Programas Marco tiene entre sus objetivos: “mejorar la salud y bienestar de los consumidores a través del incremento de localización y seguridad de los alimentos, actuando a cualquier nivel de la cadena alimentaria: producción, procesamiento, distribución, consumo, etc., como en nuestro país, dentro del **Plan Nacional I+D+I (2008-2011)**, dentro del *Programa Nacional de Proyectos de Investigación Fundamental*.

Por todo lo dicho anteriormente, los **objetivos** perseguidos con la realización de esta **tesis doctoral** son los siguientes:

- I. Evaluación de la **CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA** de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) procesada mediante la tecnología sous-vide en distintas condiciones de tiempo (0, 3, 21 y 45 días) y temperatura (2° y 10° C) de almacenamiento.

- II. Evaluar el **CONTENIDO EN NUTRIENTES, LA CALIDAD PROTEICA Y LA BIODISPONIBILIDAD DE ALGUNOS MINERALES (Fe, Cu, Zn, Na, K, Ca, Mg y P)** de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) cruda, **COCINADA EN SU JUGO Y MEDIANTE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE**, sin y con distintos tipos de aceites (aceite de oliva y aceite de girasol).

- III. Analizar las modificaciones que el **ALMACENAMIENTO A DISTINTOS TIEMPOS (0, 3, 21 y 45 días) y DISTINTAS TEMPERATURAS (2° y 10° C)** ejerce sobre el contenido en nutrientes, calidad proteica y biodisponibilidad de algunos minerales de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) procesada mediante la **TECNOLOGÍA SOUS-VIDE**.

- IV. Estudiar la **CALIDAD SENSORIAL** de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) procesada por la tecnología sous-vide mediante la utilización de pruebas descriptivas y diferenciales.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I.- LA TRUCHA ARCO-IRIS (*Oncorhynchus mykiss*).

I.1.- EL PESCADO COMO ALIMENTO

El hombre, durante milenios, ha capturado peces con el fin de satisfacer unas necesidades alimentarias, tanto propias como familiares. Este tipo de pesca de subsistencia aún persiste en las zonas más pobres del planeta, pero desde que el hombre descubrió que era posible superar la naturaleza perecedera de estos productos mediante diversos métodos de conservación, el pescado pasó a ser una mercancía sujeta a intercambio comercial. Como consecuencia, la producción de pescado ha experimentado un desarrollo gradual que la ha convertido en una industria extendida por todo el mundo, alcanzando en algunos casos altos niveles de tecnificación. La pesca, que es esencialmente un modo específico de caza, aún proporciona la mayor parte del pescado que se consume en el planeta. Pero, actualmente, el volumen de las capturas naturales está alcanzando su límite máximo, mientras que la aportación de la cría en cautividad es cada vez mayor. (De Wilde & Kamstra, 1995).

I.2.- GENERALIDADES DE LA ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO

La trucha arco-iris pertenece a la familia de los Salmónidos (Fam. Salmonidae, Orden Cuneiformes, Clase: Osteictios), su nombre científico es *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792), antes denominada *Salmo gairdneri*. Es una especie dulceacuícola, de talla media, que en libertad no suele sobrepasar los 60 cm. de longitud, aunque hay descritos ejemplares de hasta 115 cm. Se caracteriza por presentar una coloración verde oscuro o verde pardo en su zona dorsal aclarándose gradualmente en las zonas laterales. Destaca por la presencia de una banda horizontal azul iridiscente que le recorre todo el cuerpo. Además presenta puntos negros muy pigmentados en la cabeza, cuerpo, aleta dorsal y cola.

La trucha arco-iris es bastante semejante a la trucha común, pero se diferencia de ésta en que tiene una cabeza más pequeña, y las aletas adiposa y caudal están moteadas con manchas negras. Presenta además, una segunda aleta dorsal adiposa.

Su cuerpo es alargado y de corte oval. La cabeza es fuerte, generalmente achatada, con una boca grande que llega a nivel de la parte posterior del ojo, presentando muchos dientecillos en las mandíbulas. Las escamas son pequeñas. La aleta caudal está ligeramente ahorquillada.



***Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792).** Trucha arco-iris (ESP); Raimbow trout (ING), Trota iridea (ITA); Truite arc-en-ciel (FRA); Regenbogenforelle (GER)

La trucha arco-iris es una especie anadroma, pero también sedentaria (no migratoria). En libertad, vive en ríos de montaña con agua fría, aunque no es excesivamente exigente en lo referente a la temperatura y oxígeno del agua. Los machos maduran generalmente a los 2 años y las hembras a los 3. Ambos pueden vivir hasta 10 años. Suele nadar río abajo durante la primavera, para volver aguas arriba en otoño. Se reproduce entre enero y marzo y su alimentación se basa principalmente en larvas de invertebrados, aunque también puede comer otros peces de pequeño tamaño. Es autóctona de los afluentes del río Sacramento, en los Estados Unidos de América. Su área natural son las aguas vertientes al Pacífico desde el sur de Alaska hasta California. Fue introducida por primera vez en Europa en el año 1860 en Dinamarca y posteriormente en 1885 en España (De Groot, S.J., 1995).

Por su buena respuesta al cultivo masivo en cautividad, su alto índice de supervivencia y por la facilidad de adquisición de reproductores de calidad y de huevos obtenidos por sistemas de reproducción artificial, la trucha arco-iris es el principal pez cultivado en España, y en general en toda Europa. En cautividad la reproducción se realiza controladamente modificando su fotoperiodo y realizando una selección genética de los reproductores. El periodo de puesta se extiende desde septiembre hasta mayo. Su cultivo precisa una elevada disponibilidad de aguas limpias, con alta renovación, ricas en oxígeno disuelto y con un rango de temperaturas entre 9° y 18° C. Por ello, su producción se desarrolla normalmente en cauces fluviales localizados en los tramos altos y medios de los ríos donde las condiciones son adecuadas. Sin

embargo, también es posible su cultivo en pozos, manantiales, lagos y embalses. (De Groot, S.J., 1995)

I.3.- EL CULTIVO DE LA TRUCHA ARCO-IRIS

I.3.1.- Definición de Acuicultura.

El término acuicultura engloba todas las actividades que tienen por objeto la producción, crecimiento, desarrollo y comercialización de organismos acuáticos, animales o vegetales, de aguas dulces, salobres o saladas. Esto implica el control de las diferentes etapas, desde huevo hasta la cosecha, proporcionando a los organismos los medios adecuados para su crecimiento y engorde. Algas, moluscos (malacocultura), crustáceos (carcinocultura) y peces (piscicultura) son los grandes grupos objetivo de la acuicultura. (Barnabé, 1990)

Los peces debido a su poiquilotermia (carencia de mecanismos termorreguladores) obtienen un considerable ahorro de energía en sus funciones biológicas con la consiguiente eficiencia en el índice de conversión o transformación de alimentos, que pueden alcanzar de 1,6 a 1; superando los índices de transformación del ganado vacuno 10 a 1, del cerdo de 4 a 1 y de los pollos de 2,5 a 1.

I.3.2.- Breve Historia de la Acuicultura.

La acuicultura no es una actividad nueva en la historia. Sus raíces se remontan a China, 3.500 años antes de Cristo. Se tienen referencias, tanto de la práctica de la acuicultura continental como de la marina, en el antiguo Egipto, Grecia, Roma y en diferentes regiones de Asia. Así por ejemplo, Aristóteles menciona el cultivo de ostras en Grecia, mientras que Plinio da detalles del mismo en Roma. El primer tratado sobre acuicultura del que se tiene constancia fue elaborado por Fan-Li en China hacia el año 460 a de C. En Europa occidental, la expansión de la acuicultura tiene su origen en la Edad Media a través de Monasterios y Abadías, como focos fundamentales de transmisión del conocimiento. Pero no fue hasta 1758, cuando el alemán Stephan Ludwig Jacoby (1709-1784) consiguió con éxito la fecundación artificial de huevos de salmón y trucha.

En España, el desarrollo y difusión de la acuicultura tienen su origen en los trabajos del médico y naturalista D. Mariano de la Paz Graells (1808-1898), quien en 1864 publicó un manual práctico de piscicultura. Posteriormente, con el apoyo de D. Francisco de Asís, marido de la Reina Isabel II, construyó en 1866 el Laboratorio Ictiogénico en la Granja de San Ildefonso. Casi al mismo tiempo, se crea la primera piscifactoría privada de España, la piscifactoría del Monasterio de Piedra, en Zaragoza. En este lugar, todavía hoy se dedican a la reproducción artificial y repoblación de lagos y ríos con salmones y truchas.

I.3.3.- La Acuicultura en el Mundo.

A partir de finales de la década pasada comenzó una fuerte evolución industrial de la acuicultura, lo que ha originado que actualmente exista un importante número de industrias consolidadas en toda Europa, que en algunos casos han superado en dimensión a las de la pesca. Éste desarrollo experimentado ha propiciado que el sector acuícola crezca con mayor rapidez que los demás sectores de producción de alimentos de origen animal. Así, a nivel mundial, el sector ha aumentado por término medio el 8.9% al año desde 1970, frente a un crecimiento de sólo el 2.8% en los sistemas terrestres de producción de carne (Observatorio Español de Acuicultura, 2007). A su auge han contribuido los avances en la tecnología de la producción acuícola. El éxito de la acuicultura moderna se basa en el control sobre la reproducción de las especies (entre ellos cabe destacar el avance en las investigaciones de fecundación y producción de alevines, cuyo logro ha convertido a la acuicultura en un proceso completo de cultivo de animales marinos, que va desde la fecundación, a la pesca del animal en un medio controlado). También en el mejor conocimiento de su biología y en el desarrollo de alimentos específicos.

Cabe destacar los ejemplos de algunos países que han experimentado un espectacular desarrollo, como Noruega, que pasó de producir 8.600 toneladas de salmón en 1981 a 423,001 toneladas en 2000 y 603,455 toneladas en 2006, o como Grecia, quien ha experimentado en los últimos años un crecimiento considerable en la producción de besugo y lubina, pasando de una producción total de 330 toneladas en 1988 a cerca de 60.000 en el 2000 y a más de 81.000 en el 2006. Otro país que también ha despuntado, éste en el ámbito austral, es Chile, que ha pasado de producir 9.200 toneladas en 1988, sin incluir algas, a más de 385.000 en 2000, con lo cual en

tan sólo 10 años ha creado una nueva industria y se ha situado como el tercer país del mundo productor de salmón.

Dentro de este panorama, España está situada actualmente, en el puesto 14 del ranking mundial de productores. Los principales países productores de acuicultura en peso en 2004 incluyen China, India, Vietnam, Tailandia, Indonesia, Bangladés, Japón, Chile, Noruega y EE.UU. Los segundos principales países productores de acuicultura en peso en 2004 y con un mayor crecimiento en 2002-2004 incluyen a Myanmar (antigua Birmania), Vietnam, Turquía, Países Bajos, Corea del Sur, Irán, Egipto, Chile, Tailandia y EEUU.

Si atendemos por agrupaciones regionales, la producción de la acuicultura en peso o volumen en 2004, corresponde en un 70% a China, un 22% corresponde a Asia y el Pacífico, un 4% a Europa y 2% a América Latina y el Caribe. En cuanto al valor de la producción, China lidera también la producción en valor con un 51%, Asia y el Pacífico le sigue con un 29, %, Europa un 8 %, América Latina y el Caribe un 8% y América del Norte un 2%.

En la Unión Europea (UE) en 2002, la acuicultura ya representaba el 17% del volumen de su producción pesquera, aunque superaba el 33% de su valor. Sin embargo, su importancia no es igual en todos los países de la UE. En algunos su relevancia económica y social supera ya a la de la pesca extractiva, como también ocurre en España en algunas Comunidades Autónomas. A pesar de que como ya se ha comentado anteriormente, la producción de la acuicultura europea representa sólo el 4% de la del mundo, es líder en algunas especies como el salmón atlántico, la trucha, la lubina, la dorada, el rodaballo y el mejillón. En cuanto a su evolución en los últimos años, en 2001, el valor de esta producción se encontraba en 2.900 millones de euros en la Europa de los quince y en 3.100 millones de euros con los veinticinco Estados miembros actuales. El ritmo de crecimiento de la acuicultura de peces europea ha sido del 7% anual en los últimos 10 años. En 2005 se alcanzaron 1364,338 toneladas según la *Federación Europea de Productores de Acuicultura* (FEAP), con un valor comercial que sobrepasó los 4083 millones de euros. En 2006 se alcanzaron 1403,132 toneladas.

I.3.4.- La Acuicultura en España.

Según los datos publicados por la **Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos – J.A.C.U.M.A.R.** -, (Órgano del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, constituido, por la Secretaría General de Pesca Marítima, los órganos gestores de la acuicultura de las Comunidades Autónomas y por las organizaciones representativas del sector productor acuícola español), en España se produjeron durante el año 2002 un total de 328.462,9 toneladas, de las cuales 293.832,60 toneladas corresponden a la acuicultura marina y 34.630,30 toneladas a la acuicultura continental. En el año 2005, la producción acuícola nacional fue de 272.596 toneladas, ascendiendo su valor a los 388.862.970 € (J.A.C.U.M.A.R. 2005). Por especies la principal producción en *peso* la ostenta el mejillón con 209.315 toneladas, seguido de la trucha arco iris con 26.078 toneladas (continental), la dorada con 14.181 toneladas, la lubina con 6.208 toneladas, el rodaballo con 5.511 toneladas y los túnidos con 3.700 toneladas. En lo referente a su *valor* comercial el primer puesto también es ocupado por el mejillón con 102.291.970 €, seguido de la dorada con 58.581.690 €, la trucha arco iris con 57.090.260 €, los túnidos con un valor comercializado de 53.110.360 €, el rodaballo con 45.270.390 € y la lubina con 33.739.160 €.

En general, se puede decir que la mayor producción acuícola española corresponde a moluscos, especialmente mejillón con un 77 % del total. La producción de peces supone un 21 % del total, especialmente Dorada, Lubina, Rodaballo y Túnidos y aunque este porcentaje es bajo, la producción de peces ha experimentado un espectacular crecimiento multiplicándose por dos en los 5 últimos años.

La distribución de la **acuicultura marina** en España por áreas geográficas es la siguiente: En la cornisa cantábrica y la región noroeste predomina el cultivo del mejillón en bateas y el rodaballo en granjas en tierra. Otras especies destacables son las ostras, las almejas y los berberechos. Con importancia secundaria, cabe mencionar los pectínidos, el salmón y, de forma emergente, el pulpo. La Comunidad Autónoma que centra la casi totalidad de estos cultivos es Galicia. En Cataluña, Andalucía y Canarias, de aguas más templadas, se ha desarrollado principalmente el cultivo de dorada y lubina. Por lo que respecta al **cultivo de especies continentales**, la especie mayoritaria es la trucha arco-iris, así en el 2005 su producción ha alcanzado las 26.078,3 toneladas, un 13,7% menos que en 2004. Según el Observatorio Español de Acuicultura del antiguo Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (actual Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino), este descenso en la

producción de trucha, se viene observando en los últimos años, que había alcanzado una un máximo de 35.384 toneladas en 2001, y se ha visto reducida casi en 10.000 toneladas en 2005. Esto es debido a condiciones ambientales; principalmente por sequías. Aunque si es de destacar que en el 2006 se exportaron 10.000 toneladas de esta especie.

Su cría se centra principalmente en Galicia con 7.794 Tm en 2005 y en un segundo nivel, en Castilla y León con 6.328 Tm, Castilla-La Mancha (3.084 Tm), Andalucía (2.225 Tm) Aragón (1.823 Tm), Cataluña (1.811 Tm) y Asturias (1.573 Tm) (Observatorio Español de Acuicultura, 2007)

Otras especies continentales son la tenca, que se cría en lagunas y embalses en Extremadura y Castilla y León. También es destacable el cultivo de anguila y de esturión. Con carácter minoritario se produce cangrejo y carpa a nivel local en Baleares y esturión en la cuenca del Guadalquivir. (J.A.C.U.M.A.R., 2004)

I.4.- MICROBIOLOGÍA DE LA TRUCHA CRUDA PROCEDENTE DE LA ACUICULTURA

I.4.1.- Pautas Generales de la Alteración del Pescado

La alteración del pescado crudo empieza tan pronto como se resuelve el *rigor mortis* del pez. Los principales agentes de la alteración son las **enzimas** y las **bacterias**, y sus efectos se hacen aparentes en diferentes momentos. Se pueden identificar dos fases que se solapan en el tiempo. La primera es la **autolisis** o alteración resultante de la rotura del equilibrio de las funciones metabólicas del pez; y la segunda, es la alteración resultante de la **actividad microbiana**, donde se producen los efectos más pronunciados y evidentes (Ruiter, 1995).

I.4.2.- Flora Inicial del Pescado Crudo y su Evolución

Hay que tener en cuenta que las diferencias en la **composición de los tejidos del pescado**, tienen una gran influencia en las pautas y velocidades de alteración de éste tras su captura. Además, dentro de cada **especie**, el **tamaño**, el **estadio de**

desarrollo y los **métodos de captura y manipulación** tienen igualmente un efecto significativo (Davis, 1995). Del mismo modo, debe considerarse la idea de que la microbiota de los peces vivos será un reflejo de la microflora de su entorno en el momento de su pesca o captura, y que ésta evolucionará de acuerdo con la capacidad de los distintos microorganismos de multiplicarse en los distintos sub-ambientes que constituyen la superficie de la piel, de las agallas y del tracto digestivo, influenciados también por la temperatura ambiental.

De un modo general, es aceptada la idea de que el tejido muscular y los órganos internos de los peces sanos recién capturados son normalmente estériles, mientras que grandes poblaciones de microorganismos se encuentran presentes en la **piel, las agallas y el tracto digestivo**. En los pescados de aguas frías o continentales (como es el caso de la trucha) generalmente se obtienen recuentos de entre **10^2 y 10^4 ufc/cm² de piel o de superficie branquial**. La microbiota intestinal varía mucho dependiendo de si el pescado fue o no alimentado con anterioridad, así ésta puede oscilar desde tan solo 10^2 ufc/g en los peces en ayunas hasta 10^8 ufc/g en las especies bien alimentadas. Estos recuentos son aún mayores en los peces de aguas cálidas o tropicales. (Davis, 1995; ICMSF, 1998; Huss, 1998; Grobantes & Gómez, 1999; Chattopadhyay, 2000).

Se han hecho muy pocos estudios en donde se compare el perfil microbiológico de los pescados cultivados en acuicultura con el de los peces salvajes; sin embargo éste es muy parecido, ya que según parece, ambos están muy influenciados por su entorno ambiental (ICMSF, 1998). Los recuentos microbianos iniciales de los pescados procedentes de la acuicultura recién capturados y manejados con prácticas higiénicas adecuadas suelen ser bajos y formados por una mezcla de géneros Gram negativos y Gram positivos, entre los que se destacan los géneros *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Vibrio*. (ICMSF, 1998; González *et al.*, 2002). En peces de aguas dulces y frías, con la adición de hielo, la mezcla inicial de bacterias Gram positivas y negativas evoluciona a favor de las segundas, prevaleciendo géneros como *Acinetobacter*, *Aeromonas* y *Pseudomonas* fundamentalmente (Nedoluha & Westhoff, 1993; Sousa *et al.*, 1996; ICMSF, 1998). Estas bacterias, son en su mayoría psicrotrofas, es decir, capaces de crecer a temperaturas de entre 0° y 30° C, aunque algunas son capaces de crecer a temperaturas de hasta -7,5° C. Son bastantes sensibles a los pH bajos, no creciendo con valores inferiores a 6.0. Ésta es una de las razones del porqué la población

microbiana se mantiene estable en el pescado durante el rigor mortis. (Chattopadhyay, 2000).

I.4.3.- La Invasión Microbiana.

Como se ha dicho anteriormente, el músculo de un pez sano o de un pescado recién capturado es estéril, debido a que el sistema inmunológico del pez previene el crecimiento de bacterias en el músculo. Pero cuando el pez muere, se produce el colapso del sistema inmunológico y tras la resolución del *rigor mortis*, las bacterias proliferan libremente. En la superficie de la piel, las bacterias colonizan en una amplia extensión la base de las escamas. Durante el almacenamiento, las bacterias invaden el músculo penetrando entre las fibras musculares. Murray & Shewan (1979), observaron que sólo un número muy limitado de bacterias invade el músculo durante el almacenamiento en hielo. Por otro lado, Ruskol & Bendsen (1992) demostraron, mediante exámenes microscópicos, que las bacterias pueden ser detectadas en el músculo cuando el número de microorganismos en la superficie de la piel incrementa por encima de las 10^6 ufc/cm². Este resultado fue observado tanto en el almacenamiento en hielo como en condiciones de refrigeración. No se encontró diferencia entre los patrones invasivos de las bacterias específicas de la alteración (por ejemplo *Shewanella putrefaciens*) y las bacterias no específicas de la alteración. Dado que, sólo un número limitado de microorganismos realmente invade el músculo y que el crecimiento microbiano se lleva a cabo principalmente en la superficie, el deterioro es probablemente una consecuencia de la difusión de enzimas bacterianas hacia el interior del músculo y de la difusión externa de nutrientes (Murray & Fletcher, 1976; Hjelmland *et al.*, 1983).

El pescado se deteriora a velocidades muy diferentes y se ha propuesto como explicación las diferencias en las propiedades de la superficie del pescado. Las pieles de los peces tienen texturas muy diferentes. Así, el merlán (*Merlangius merlangus*) y el bacalao (*Gadus morhua*) que tienen una cubierta muy frágil se deterioran más rápidamente en comparación con algunos peces planos como la solla (*Pleuronectes platesa*), que posee tanto una dermis como una epidermis mucho más robusta. Además, este último grupo cuenta con una gruesa cubierta de mucus, que contiene algunos compuestos antibacterianos, como anticuerpos, complementos y enzimas bacteriolíticas (Murray & Fletcher, 1976; Hjelmland *et al.*, 1983).

I.4.4- La Calidad Sanitaria.

La presencia de microorganismos patógenos en las truchas arco-iris obtenidas de la acuicultura depende de multitud de factores, como el **tipo de nutrientes** utilizados para enriquecer la balsas, el **grado de alimentación**, la **densidad de peces**, la **calidad higiénica del agua de cría**, el **sistema de captura**, el **grado de manipulación tras la captura**, etc. Algunos autores han observado una alta incidencia de *Clostridium botulinum* en pescados procedentes de la acuicultura, debido básicamente a una mala calidad higiénica del agua, como consecuencia en la mayoría de los casos de contaminaciones de origen fecal (Huss *et al.*, 1974; Cann *et al.*, 1975). Otros autores (Ward, D.R, 1989; Davies *et al.*, 2001) observaron la presencia de microorganismos patógenos entéricos como *Salmonella* y *Shigella* en pescados cultivados en aguas con mayor o menor grado de contaminación fecal. Se cree que la temperatura del agua, el alto contenido orgánico, el pH y la alta densidad de pescado en las balsas son factores que favorecen la presencia de estos microorganismos patógenos entéricos. Por otro lado, la ICMSF (1998) advierte ya desde hace más de una década de la prevalencia cada vez mayor de patógenos oportunistas de alto riesgo para los humanos, como son *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloides* y *Edwardsiella tarda* en pescados criados en balsas. Su presencia se asocia con prácticas de cría que estresan a los animales, entre ellas la sobreexplotación y la sobrealimentación.

En general, los problemas específicos de la acuicultura anteriormente señalados, pueden ser controlados con un aumento de las medidas de control, así como unas adecuadas prácticas higiénicas y de manejo. La implantación de un **sistema APPCC - Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos** – (del inglés *HACCP, Hazard Analysis Critical Control Points*), donde se indiquen los peligros asociados a cada etapa de la cría, así como las medidas de control y pautas correctoras de los mismos ocasionará un producto final microbiológicamente seguro.

I.5.- CALIDAD NUTRICIONAL DE LA TRUCHA CRUDA

Desde el punto de vista nutritivo el pescado es uno de los alimentos más completos, tanto por la cantidad como por la calidad de los nutrientes que aporta. De un modo general se puede definir al pescado como un **alimento esencialmente proteico y con un alto contenido en agua**.

La gran variabilidad en el contenido graso entre las distintas especies de pescado, hace que se utilice este parámetro para clasificar desde un punto de vista comercial las especies comestibles de pescado. Se describen tres grupos. En primer lugar, los **pescados magros o blancos**, aquellos con menos de un 1% de grasa; los **pescados grasos o azules**, con un contenido en grasa entre el 8 y 15 % y finalmente, los pescados semigrasos, aquellos con un contenido en grasa que oscila entre el 2 y 7 %. En este último grupo se incluye la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*), alimento objeto del presente estudio.

Un aspecto que debe ser tenido en cuenta a la hora de establecer unos valores medios para el **contenido en nutrientes** de la trucha arco-iris es que éstos pueden estar condicionados por diferentes factores. En primer lugar, hay **factores intrínsecos**, como las diferencias anatómicas e individuales dentro de cada especie, el tamaño del pez, el estadio de desarrollo o factores fisiológicos como la etapa en su ciclo reproductivo (desove). También deben considerarse **factores extrínsecos**, como el grado y tipo de alimentación, época del año, temperatura del agua, método de captura y grado de manipulación, que pueden afectar significativamente la composición nutricional final del pescado.

En la tabla 2, se muestra el contenido en macronutrientes para la trucha publicados por la principales **Tablas de Composición de Alimentos**, aunque hay que hacer constar, que en la mayoría de los casos no se especifica la especie de origen. La carne de trucha está esencialmente compuesta por agua, su valor oscila entre el 73.4 y el 81.3 %. En cuanto a los macronutrientes, el contenido en proteína ronda entre el 15.7 y el 19.8 %, mientras que la grasa oscila entre el 2-5.2 %. Este alimento se caracteriza por presentar además un 1.2-1.35 % de cenizas y presentar valores casi despreciables en cuanto a su contenido en hidratos de carbono.

Tabla 2. Contenido en macronutrientes de la trucha cruda publicados en distintas tablas de composición de alimentos. (g/100 g porción comestible)

FUENTE	AGUA	PROTEÍNA	GRASA	CENIZAS
Nettleton & Exler, 1992	74.4	20.0	4.6	1.4
Mataix <i>et al.</i> , 1993	---	15.7	3.0	---
INRAN, 1997	74.3	20.3	4.1	---
Belitz & Grosch, 1997	78	19	2	1.2
McCance & Widdowson, 1998	--	--	5.2	--
Souci-Fachmann-Kraut, 1999	76.3	19.5	2.7	1.3
Moreira <i>et al.</i> , 2001	81.3	15.7	3	---
Gokoglu <i>et al.</i> , 2004.	73.4	19.8	3.4	1.35

--: No se aporta el dato

I.5.1.- Proteína: cantidad y calidad.

El **contenido total de proteína bruta** en los peces comestibles de agua dulce tales como trucha, tenca, carpa, anguila, lucio etc., oscila entre el **15 y el 20 % de su peso fresco**. Ésta se puede dividir en tres grandes grupos: proteínas estructurales, proteínas sarcoplásmicas y proteínas del tejido conectivo. Las **proteínas estructurales** o miofibrilares constituyen el 70-80 % del contenido total de proteínas. Destacan la actina, miosina, tropomiosina, paramiosina, troponinas y actomiosina (Haard, 1995). Se caracterizan por ser solubles en soluciones salinas neutras de alta fuerza iónica. Se ha observado, que la estabilidad de la miosina de los peces de aguas frías es menor que la de los peces tropicales (Jonson *et al.*, 1973, 1975). Incluso dentro de la misma especie, así Misina *et al.*, 1990, encontraron que diferencias de 20° C en la temperatura del agua durante la cría de carpas influía de forma significativa en las propiedades fisicoquímicas de algunas proteínas miofibrilares, como la miosina.

Las **proteínas sarcoplasmáticas**, como la mioalbúmina, globulina y enzimas, constituyen el 20-30 % del total de proteínas. Se caracterizan por ser solubles en soluciones salinas neutras de baja fuerza iónica (Haard, 1995). Su separación electroforética origina patrones propios de cada especie que difieren enormemente según se trate de peces de agua dulce o salada (Nakagawa *et al.*, 1988).

Las **proteínas del tejido conectivo**, fundamentalmente colágeno y elastina, constituyen aproximadamente el 3 % del total de las proteínas. Se encuentran en menor proporción en comparación con el músculo de los animales terrestres, lo que repercute en sus características organolépticas (mayor ternura) y en su menor resistencia a la alteración, tanto enzimática como bacteriana. (Aquerreta, 2000).

Como todos los alimentos de origen animal, el pescado contiene proteínas de un alto valor biológico (Nettleton, 1985; Pigott & Tucker, 1990; Haard, 1995; Huss, 1998). Como se puede ver en la tabla 3, la composición de aminoácidos esenciales de la trucha es aproximadamente la misma que en las correspondientes proteínas del músculo de mamíferos, a pesar de que las propiedades físicas pueden ser ligeramente diferentes.

En general, la proteína de la trucha comparada con la del huevo, considerada como patrón para el hombre adulto, no presenta variaciones acusadas. Además, se trata de una proteína que se digiere muy bien (Haard, 1995). Estudios realizados por Muller *et al.*, 1980, demostraron que desde el punto de vista nutritivo la proteína del pescado es tan buena o mejor que la de la carne, mostrando un **valor biológico** entre 80-90, no observándose diferencias a este respecto entre los pescados grasos o magros.

Tabla 3. Contenido en aminoácidos esenciales de algunas especies de pescado de agua dulce y comparación con el huevo, filete de cerdo y conejo (mg/100 g porción comestible). (Souci, 1991)

Aminoácido	Trucha	Carpa	Huevo	Cerdo	Conejo
Lisina	2020	2110	890	2120	1810
Triptófano	240	210	230	265	250
Histidina	570	420	330	890	470
Fenilalanina	920	890	800	900	790
Leucina	1780	1680	1260	1865	1630
Isoleucina	1270	1000	930	1130	1080
Treonina	1080	1040	710	1035	1020
Metionina	660	590	450	545	540
Valina	1250	1050	1120	1260	1020

El **punto isoeléctrico** (pI) de las proteínas del pescado está alrededor del pH 4.5-5.5. A estos valores de pH las proteínas presentan su menor solubilidad. La

estructura conformacional de las proteínas de los peces es fácilmente modificada mediante cambios en el ambiente físico; así, tratamientos con altas concentraciones salinas o calor pueden ocasionar su desnaturalización, causando cambios irreversibles en la estructura nativa de la proteína. Cuando las proteínas son desnaturalizadas bajo condiciones controladas, sus propiedades pueden ser utilizadas con fines tecnológicos (Huss, 1998).

I.5.2.- Los Compuestos nitrogenados no proteicos.

En los peces teleósteos o peces óseos (grupo al cual pertenece la trucha), la **proporción de nitrógeno no proteico respecto al nitrógeno total es de un 9-18%** (Belitz & Grosch, 1987; Ruiters, 1995; Huss, 1998). Son sustancias que se caracterizan, a parte de por contener nitrógeno, por ser de bajo peso molecular y solubles en agua. Esta fracción está compuesta fundamentalmente por aminoácidos libres, bases volátiles como el amoníaco y el óxido de trimetilamina (OTMA), péptidos, creatina, nucleótidos y bases purínicas. A pesar de que estos compuestos están en menor proporción en los peces de agua dulce, son muy importantes, al influir de manera significativa en el sabor y aroma (flavor) específico de cada pescado, así como al participar activamente en la alteración de los mismos por ser productos de fácil utilización microbiana.

El contenido en **aminoácidos libres** en el músculo es mayor en los pescados marinos que en los de agua dulce; y dentro de éstos, es aún menor en los peces cultivados que en los silvestres (Simpson *et al.*, 1991; Haard, 1992). Destacan sobre todo la taurina, sarcosina, β -alanina, glicina, metilhistamina y el ácido α -amino-n-butírico (Ruiters, 1995). La histidina, aminoácido predominante en algunas familias de peces marinos, está en proporciones bajas en la mayoría de peces de agua dulce. Algo similar ocurre con el óxido de trimetilamina (OTMA), el cual se muestra casi ausente en este tipo de pescados (Habard *et al.*, 1989). Se han identificado pequeñas cantidades de péptidos en los extractos de músculo del pescado, sobre todo, carnosina, anserina y balenina. Si bien, éstos aparecen en mayor cantidad en los músculos oscuros que en los claros. (Ruiters, 1995).

I.5.3.- Lípidos.

En general el contenido en grasa del pescado es extremadamente fluctuante e inversamente proporcional a su contenido en agua. Además, a la gran variabilidad que existe entre especies hay que añadir las fluctuaciones que se dan en el contenido graso de los peces a lo largo de las diferentes etapas fisiológicas que atraviesan durante su ciclo vital. Mientras en los pescados grasos, los lípidos se depositan en el tejido muscular, formando una dispersión globular, en los magros, éstos se acumulan en su mayor parte en el hígado, mientras que una pequeña porción se distribuye debajo de la piel, quedando el músculo prácticamente libre de grasa. (Aquerreta, 2000).

En el caso particular de la trucha, al ser un **pescado semigraso**, la distribución de la grasa se asemeja más a la de los pescados grasos. La mayoría de las tablas de composición de alimentos dan para la trucha valores medios que oscilan entre los **2-3 gramos de grasa por 100 g de alimento** (Souci *et al.*, 1991; Verdú *et al.*, 1993; Belitz & Grosh, 1997; Moreiras *et al.*, 2001), aunque no especifican la especie de trucha. Otras tablas como las elaboradas por el Departamento de Agricultura de los EE.UU. (USDA, 1987) o las tablas de McCance & Widdowson (1998) le asignan un mayor contenido en grasa 6.61 g y 5.2 g/100 g alimento, respectivamente. Si bien, estos valores pueden aumentar en el caso de la trucha procedente de la acuicultura (Ingemansson *et al.*, 1991; Ackman, 1995).

Por otro lado, hay que tener en cuenta que la cantidad y calidad de la grasa en el músculo de la trucha es distinta según sea un músculo oscuro o blanco. En la tabla 4, se muestra la distribución de los distintos lípidos en el músculo claro y oscuro de la trucha arco-iris cultivada (*Oncorhynchus mykiss*) obtenidos por Ingemansson *et al.* (1991). Como se puede observar, la cantidad de grasa es mayor en el músculo oscuro que en el claro. Además, desde un punto de vista cualitativo, en el músculo oscuro predominan los lípidos neutros (sobre todo los **triglicéridos** y los **ésteres de colesterol**), mientras que en el músculo claro predominan los lípidos polares, fundamentalmente **fosfatidilcolina** y **fosfatidiletanolamina**.

Hay que destacar también, que en ambos tipos de músculo se mantiene una mayor proporción de fosfatidilcolina en relación con la fosfatidiletanolamina, hecho que se da en todos los pescados comestibles, tanto marinos como de agua dulce.

Tabla 4. Comparación de los lípidos de los músculos claro y oscuro de la trucha arco-iris cultivada (*Oncorhynchus mykiss*). (Ingemansson *et al.*,1991)

LÍPIDOS	Músculo de la trucha	
	Claro	Oscuro
Lípidos totales (%)	3.0	7.3
Lípidos neutros (% lípidos totales)	43	68
Triglicéridos	24.8	40.8
Colesterol	-	-
Ésteres de colesterol	14.7	22.4
Ácidos grasos libres	3.3	3.8
1,2-Diacilglicerol	0.3	0.8
Lípidos polares (% lípidos totales)	57	32
Fosfatidilcolina	31	18.5
Lipofosfatidilcolina	2.3	1.0
Fosfatidiletanolamina	18	9.5
Lipofosfatidiletanolamina	1.8	0.8
Esfingomielina	3.2	2.4
Fosfatidilserina	-	-
Fosfatidilinositol	-	-

Según las tablas de composición de alimentos de McCance & Widdowson (1998), la grasa de la trucha arco-iris se caracteriza por presentar un alto contenido en **ácidos grasos monoinsaturados** y **poliinsaturados** (39,5% vs 37%, respectivamente), mientras que los **saturados** no llegan al 24%. Dentro de los monoinsaturados destaca sobre todo el **ácido oleico** (C18:1 n-9) y en menor medida, el **palmitoleico** (C16:1), **erúcico** (C22:1 n-9) y **ácido eicosenoico** (C20:1). Por parte de los poliinsaturados, destaca la riqueza en **ácidos grasos w-3**, fundamentalmente el **docosahexanoico -DHA-** (C22:6) y el **eicosapentanoico -EPA-** (C20:5); y algún **ácido graso w-6** como el **linoleico** (C18:2), ácidos grasos característicos de la grasa del pescado. Según estas tablas, la suma de EPA y DHA, componentes más importantes de la familia w-3, suponen el 23 % de los ácidos grasos totales; siendo la **relación w-6/w-3** de 0,24.

Este alto contenido en **ácidos grasos w-3**, hace que el consumo de trucha, sea muy recomendable debido al papel protector que estos ácidos grasos tienen en la prevención de enfermedades cardiovasculares, como han puesto de manifiesto distintos estudios poblacionales (Dyerberg & Bang, 1979). Así, la presencia en la dieta de modo habitual de los ácidos EPA y DHA constituye un elemento preventivo frente a la aterogénesis, al permitir la formación de prostaglandinas PGI₃, además de provocar un efecto vasodilatador y antiagregante plaquetario (Aquerreta, 2000). Así mismo, hay estudios que sugieren también un efecto positivo de estos ácidos grasos frente a una menor prevalencia de la artritis reumatoide y de algunos tipos de cáncer (Caygill & Hill, 1995). En relación con los **ácidos grasos saturados**, solo merece la pena destacar la presencia de los **ácidos mirístico** (C14:0) y **palmítico** (C16:0).

Otro aspecto a tener en cuenta, es que como consecuencia de su **elevado índice de yodo** (por su alto contenido en ácidos grasos mono y poliinsaturados), y la relativa **escasez de tocoferoles** de acción antioxidante, sumado a la **alta concentración de lipasas, fosfolipasas y lipoxidasas** en el músculo del pescado, hacen que la grasa de pescado sea **muy susceptible a la oxidación y al enranciamiento**, incluso a temperaturas de refrigeración (Primo, 1998; Aquerreta, 2000).

I.5.4.- Vitaminas.

Uno de los valores más positivos del pescado desde el punto de vista nutritivo es su contenido en vitaminas; si bien, aún faltan bastantes datos que cuantifiquen estos nutrientes en las distintas especies (García, 1989). Además, hay que tener en cuenta, que al igual que ocurría con la grasa, el **contenido en vitaminas depende** mucho de la **especie** en cuestión, la **edad**, la **localización geográfica** y muy especialmente, la **cantidad y calidad de la dieta ingerida**, ya que algunas vitaminas, como la vitamina E no son sintetizadas por el pescado y ésta depende de la dieta que ingiera (Stansby, 1962; Ackman & Cormier, 1967). Este aspecto es especialmente importante en especies procedentes de la acuicultura, como es el caso de la trucha arco-iris, donde su dieta suele estar suplementada por vitaminas sintéticas (Woodward, 1994). Si bien, a pesar de los pocos datos sobre pescados cultivados disponibles hoy en día, la mayoría de los autores consideran que salvo algunas vitaminas liposolubles, el resto de vitaminas, mantienen sus concentraciones al compararse con los peces silvestres. (Suzukii *et al.*, 1986; Lall & Parazo, 1995).

En general, mientras que en los pesados magros, las vitaminas liposolubles, especialmente las **vitaminas A y D**, se encuentran casi exclusivamente en los aceites de hígado, en los pescados grasos éstas aparecen también en pequeñas cantidades en el tejido muscular (Primo, 1998; Aquerreta, 2000).

Según la bibliografía, el contenido en **vitaminas liposolubles (vitaminas A, D y E)** en la trucha arco-iris no es muy importante en comparación con otras especies de agua dulce, como la tenca, las anguilas, el lucio o la perca; como se puede ver en la tabla 5. En cuanto al contenido en **vitaminas hidrosolubles**, en este pescado destacan la **niacina**, el **ácido fólico** y la **vitamina B12**, principalmente. También hay cantidades importantes de **ácido pantoténico (vitamina B5)**, **tiamina** y **riboflavina**, tal y como se muestra en la tabla 6.

Tabla 5. Contenido en vitaminas A, D y E de varios pescados de agua dulce (Lall & Parazo, 1995)

ESPECIES	VITAMINAS		
	Vitamina A (UI/100 g)	Vitamina D (UI/100 g)	Vitamina E (UI/100 g)
Carpa	262 ^a	260	0.56 ^a
Anguilas	3295 ^a	200	12.56 ^a
Lucio	70	--	0.70
Trucha arco-iris	65	35	1.90
Perca amarilla	125	--	2.20

a: valor medio recogido en la bibliografía; --: sin datos.

Tabla 6. Contenido en vitaminas hidrosolubles de varios pescados de agua dulce (Lall & Parazo, 1995)

ESPECIES	VITAMINAS					
	Tiamina (mg/100 g)	Riboflavina (mg/100 g)	Niacina (mg/100g)	Fólico (µg/100 g)	Vit. B ₁₂ (µg/100 g)	Vit. B ₅ (mg/100 g)
Carpa	0.11 ^a	0.08 ^a	3.0 ^a	70 ^a	3.2 ^a	0.15
Anguilas	0.15 ^a	0.20 ^a	3.5 ^a	11.6 ^a	1.0 ^a	0.15 ^a
Lucio	0.09	0.07	1.7	--	--	--
Trucha arco-iris	0.10 ^a	0.08 ^a	5.5 ^a	10	4.8 ^a	0.97 ^a
Perca	0.06	0.17	1.8	--	--	--

a: valor medio recogido en la bibliografía; --: sin datos.

I.5.5.- Minerales.

La mayor parte de los organismos acuáticos acumulan y retienen minerales procedentes del medio, sin embargo, su incorporación es altamente selectiva y está **condicionada** por distintos **factores** como son las **diferencias estacionales y biológicas** (especie, tamaño, edad, sexo y madurez sexual), **fuentes de alimentación y características del medio** (composición química, salinidad, temperatura y contaminantes del agua) (Lall, 1995). Así por ejemplo, Shearer, 1984, comprobó que la composición mineral de la trucha arco-iris cultivada variaba de forma significativa según su talla, fase del ciclo vital y estado reproductivo en que se encontrara (Lall, 1995).

El contenido en **cenizas** que aporta la bibliografía para la trucha arco-iris oscila entre 1,2 y 1,35 gramos por 100 gramos de alimento (Belitz & Grosch, 1997; Souci-Fachmann-Kraut, 1999; Gokoglu *et al.*, 2004).

Dentro de los minerales mayoritarios destacan el **fósforo** y el **potasio** y en menor medida, el **sodio**, el **calcio** y el **magnesio**. (Tabla 7). La concentración media de **fósforo** en la carne de trucha varía desde los 196 a los 337.9 mg/100 g, mientras que la del **potasio** lo hace entre 250 y 600 mg/100 g. Según estas tablas, la cantidad de fósforo supera con amplitud a la del calcio, siendo la **relación Ca/P** entre 0.06-0.19, relación claramente desequilibrada desde el punto de vista dietético.

El **sodio** está presente en el músculo de la trucha en cantidades entre 39 y 60 mg/100 g, siendo la **relación de sodio respecto a la del potasio** del orden de 1:6, valor ligeramente superior al encontrado en la mayoría de los pescados (Lall, 1995; Primo Yúfera, 1997).

Con respecto al contenido en **magnesio**, la trucha en particular y los pescados en general, son fuentes pobres en este mineral; así en la trucha su valor oscila entre 21 y 40,9 mg/100 g.

Tabla 7.a Contenido mineral de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Referencia	Na	K	Ca	Mg	P
	(mg/100 g)				
Wheaton & Lawson, 1985	38-320	280-358	--	170	152-260
Mataix <i>et al.</i> , 1993	60	250	26	28	250
Lall, 1995	39-52	420-488	25-51	21-30	196-280
Primo Yúfera, 1997	20-50	400-600	10-20	--	200-300
Souci <i>et al.</i> , 1999	40	465	18	25	240
Moreiras <i>et al.</i> , 2001	58	250	26	28	--
Gokoglu <i>et al.</i> , 2004	45.5	306.1	63.2	40.9	337.9

--: No hay dato

Tabla 7.b Contenido mineral de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*).

Referencia	Fe	Cu	Zn	Mn
	(mg/100 g)			
Wheaton & Lawson, 1985	--	--	140-2600	--
Mataix <i>et al.</i> , 1993	100	--	80	--
Lall, 1995	400	50	500	20
Primo Yúfera, 1997	100	--	--	--
Souci <i>et al.</i> , 1999	690	150	480	30
Moreiras <i>et al.</i> , 2001	100	--	80	--
Gokoglu <i>et al.</i> , 2004	210	330	968	78

--: No hay dato

En relación con los **minerales traza o microelementos**, la carne de trucha aporta cantidades importantes de **zinc** y **hierro**. El contenido medio de **zinc** en la trucha es de 524 µg/100 g, valor similar al del salmón atlántico, pero inferior al que presentan otras especies de agua dulce como la carpa, la anguila, el lucio o la perca. Su **biodisponibilidad** es elevada, si bien puede verse influenciada por otros componentes de la dieta como el calcio y el fósforo (Lall, 1995).

El **hierro** está presente en cantidades entre 100 y 650 µg/100 g, manteniéndose dentro de la media general establecida para pescado. Si bien hay que tener en cuenta que la distribución del hierro en la carne de cualquier pescado no es uniforme,

habiendo una mayor concentración del mismo en el **músculo oscuro** (tanto en su forma hemo como no hemo) que en el **músculo claro** (Gómez-Basauri & Regenstein, 1992; Lall, 1995). La acumulación de **cobre** en los pescados, está muy influenciada por factores estacionales así como por la temperatura y salinidad del agua, e incluso por la presencia de otros metales como el manganeso y el hierro (Eisler, 1981). En la trucha, su valor varía mucho según los distintos autores, desde 50 a 330 µg/100 g de alimento.

I.6.- CALIDAD SENSORIAL DE LA TRUCHA CRUDA

Las manifestaciones de la alteración y deterioro de cualquier pescado crudo pueden ser seguidas y evaluadas por métodos objetivos (análisis fisicoquímicos) y métodos subjetivos (la mayor parte del análisis sensorial). Los **índices fisicoquímicos**, como la determinación del **contenido en bases nitrogenadas volátiles y/o trimetilamina**, nos informan principalmente del **deterioro de origen bacteriano**, datos que se pueden complementar con recuentos e identificaciones microbianas. Pero estos índices no nos informan de los **cambios autolíticos** que se producen antes del deterioro microbiano. Estos cambios normalmente se determinan mediante el análisis de su **contenido en hipoxantina** y por el **cálculo del valor K**. Pero es el análisis sensorial, la única herramienta que nos permite medir de una sola vez la pérdida de frescura, tanto de origen autolítico, como de origen bacteriano. Un juez experto y entrenado, capaz de conocer los cambios post-mortem del pescado, así como la manifestación de éstos en tablas o escalas de evaluación sensorial, puede determinar el grado de frescura de un pescado de forma precisa. Por lo tanto, **la evaluación sensorial de los productos de la pesca constituye el mejor método para evaluar su pérdida de frescura**, con el condicionante de ser rápido, barato y no necesitar apoyo laboratorial, pudiéndose realizar a pie de lonja o mercado. (Huss, 1998).

Los esquemas de evaluación sensorial han evolucionado mucho desde que en 1953 Shewan *et al.*, de la Estación de Investigaciones Torry del Reino Unido, establecieron el primer método moderno y detallado de análisis sensorial del pescado crudo. Este método se basaba en la idea de que cada atributo de calidad debía ser valorado de forma independiente del resto. En nuestros días, todos los métodos de evaluación parten de la idea contraria, es decir, se evalúan de forma conjunta distintos grupos de atributos.

En la Unión Europea, el método usado por la mayoría de los países miembros, para la evaluación de la calidad en el servicio de inspección y en la industria pesquera, es el esquema presente en el **Reglamento (CEE) número 103/76** del Consejo de 19 de enero de 1976, por el que se establecen las normas comunes de comercialización para los productos de la pesca frescos o refrigerados. (CEE, 1976). Según este esquema, existen tres niveles de calidad: E (extra), A y B; donde E corresponde a la mayor calidad y por debajo del nivel B el producto no es apto para el consumo humano (tabla 8). Inicialmente, este esquema no fue aceptado por todos los países miembros de la Unión Europea. Existían algunas discrepancias, ya que el esquema utiliza parámetros generales de valoración y no tiene en cuenta las diferencias entre especies.

Posteriormente, en 1992, Howgate *et al.*, de la Estación de Investigaciones Torry del Reino Unido, adaptaron el esquema de la Unión Europea para la evaluación sensorial del pescado blanco, cazón, arenque y caballa, es la llamada “Guía Políglota sobre los Grados de Frescura UE para Productos Pesqueros”. (Howgate *et al.*, 1992)

Cuadro 8a. Clasificación de la frescura I: Council Regulation (EEC) N° 103/76 OJ N° L20 (28 de enero de 1976) (EEC, 1976)				
Partes del pescado inspeccionadas	PUNTUACIÓN			
	3	2	1	0
APARIENCIA				
Piel	Pigmentación brillante e iridiscente. Sin decoloraciones, mucus acuoso	Pigmentación brillante. Mucus opalescente	Pigmentación en vías de decolorarse. Mucus lechoso	Pigmentación mate. Mucus opaco
Ojos	Convexos (salientes)	Convexos y algo hundidos	Planos	Cóncavo en el centro
	Córnea transparente	Córnea algo opalescente	Córnea opalescente	Córnea lechosa
	Pupila negra y brillante	Pupila negra y apagada	Pupila opaca	Pupila gris
Branquias	Color brillante	Menos coloreadas	Descolorándose	Amarillentas
	Mucus ausente	Ligeros trazos de mucus	Mucus opaco	Mucus lechoso
Carne (corte del abdomen)	Azulada, translúcida, uniforme, brillante	Suave, cerosa, empañada	Ligeramente opaca	Opaca
	Sin cambios en el color original	Ligeros cambios en el color		
Color (columna vertebral)	No coloreada	Ligeramente rosa	Rosa	Rojo
Órganos	Los riñones, otros órganos y la sangre de la aorta son de color rojo brillante	Riñones y otros órganos de color rojo empañado; la sangre va decolorándose.	Riñones, otros órganos y sangre de color rojo pálido	Riñones, otros órganos y sangre de color parduzco

Cuadro 8b. Clasificación de la frescura II: Council Regulation (EEC) N° 103/76 OJ N° L20 (28 de enero de 1976) (EEC, 1976)				
PARTES DEL PESCADO INSPECCIONADAS	PUNTUACIÓN			
	3	2	1	0
CONDICIÓN				
Carne	Firme y elástica	Menos elástica	Ligeramente flácida, menos elástica	Flácida. Las escamas se desprenden. La superficie se desmenuza
	Superficie uniforme		Cerosa empañada y	
Columna vertebral	Quebradiza	Adherida	Ligeramente adherida	No está adherida
Peritoneo	Completamente adherido a la carne	Adherido	Ligeramente adherido	No está adherido
OLOR				
Branquias, piel, cavidad abdominal	A algas marinas	Sin olor a algas marinas, ni olores desagradables	Ligeramente ácido	Ácido

En la actualidad, la Unión Europea mediante la financiación de “proyectos CRAFT” del pasado VI Programa Marco ha desarrollado un método de medición mucho más sistemático y organizado. Se basa en un método sensorial desarrollado originalmente por la unidad de Investigación de Alimentos de Tasmania (Australia), denominado **Método del Índice de la Calidad (MIC)**, del inglés “*Quality Index Method*” (QIM). El sistema MIC se basa en los parámetros sensoriales significativos del pescado crudo, cuando se emplean muchos parámetros, y en un sistema de puntuación por deméritos del 0 al 4 (Jonsdottir, 1992). Es un sistema práctico de calificación en el cual el pescado se inspecciona y se registran los deméritos correspondientes.

Las puntuaciones registradas en cada característica se suman para dar una puntuación sensorial total, el denominado índice de la calidad (MIC). El MIC asigna una puntuación de cero al pescado muy fresco; así, a mayor puntuación mayor es el deterioro del pescado. Hasta ahora, el equipo de investigación que trabaja en el proyecto, está desarrollado el sistema MIC para 12 especies diferentes: bacalao, eglefino, abadejo, perca, salmón, trucha, arenque, gamba, lenguadina, platija, rodaballo y lenguado.

Basándose en el MIC, los investigadores han desarrollado un programa de “software” (“**Wisefresh**”) para el control fácil y rápido del índice de calidad. Como continuación de este proyecto CRAFT se ha establecido una alianza estratégica (“**QIM Eurofish**”) entre los tres institutos implicados, “*The Netherlands Institute for Fisheries Research*” en Holanda, “*The Danish Institute for Fisheries Research*” en

Dinamarca y el "*Icelandic Fisheries Laboratories*" en Islandia. El objetivo de esta alianza es un desarrollo posterior del sistema de calidad y establecer una utilización razonable del MIC como una herramienta versátil para estimar la calidad en la cadena de producción y distribución de pescado fresco en Europa.

II.- LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE.

II.1.- DEFINICIONES

El término "**Sous-vide**" es de origen francés, cuya traducción literal al español y al inglés sería respectivamente "**bajo vacío**" y "**under vacuum**". Para algunos autores (Bailey, 1995) el término sous-vide no se aplica de modo específico a un sistema de procesado, sino que se trataría de una **tecnología** que comprende un grupo de procesados que incluyen el **envasado a vacío** del alimento y un **tratamiento térmico** posterior y/o previo al envasado a vacío.

Según esta idea, la tecnología sous-vide se podría subdividir a su vez en dos categorías: En primer lugar, "**LA CUISSON SOUS-VIDE**" o también llamada "**cooking under vacuum**" o cocinado sous-vide propiamente dicho; y en segundo lugar, "**COOK-CHILL**" y su variante "**HOT-FILL** o cocinado tradicional seguido de un envasado a vacío. A continuación voy a explicar más detalladamente estas tres categorías:

II.1.1.- Categoría uno: "**LA CUISSON SOUS-VIDE**".

Esta primera categoría "*la cuisson sous-vide*", también llamada "*la cuisson en papillote sous-vide*", "*cooking under vacuum*" o "*cooking in a vacuum cocoon*", hace referencia a lo que entendemos normalmente como procesado sous-vide; es decir, el cocinado de un alimento dentro de una bolsa o barqueta de plástico cerrada herméticamente previo vacío (Bailey, 1995).

Una definición más amplia y aceptada por la comunidad científica, fue la desarrollada por el llamado **“Sous-vide Advisory Committe”** comúnmente conocido por sus siglas **“SVAC”**, grupo creado en el reino Unido en 1991, quienes definen a esta tecnología como:

“...sistema de catering discontinuo en el cual un alimento crudo o precocinado es envasado a vacío en bolsas o contenedores de plástico laminado y sometidos a un tratamiento térmico en condiciones controladas, se refrigeran rápidamente y posteriormente, previo almacenamiento a refrigeración serán consumidos tras un recalentamiento...”

(SVAC, 1991.)

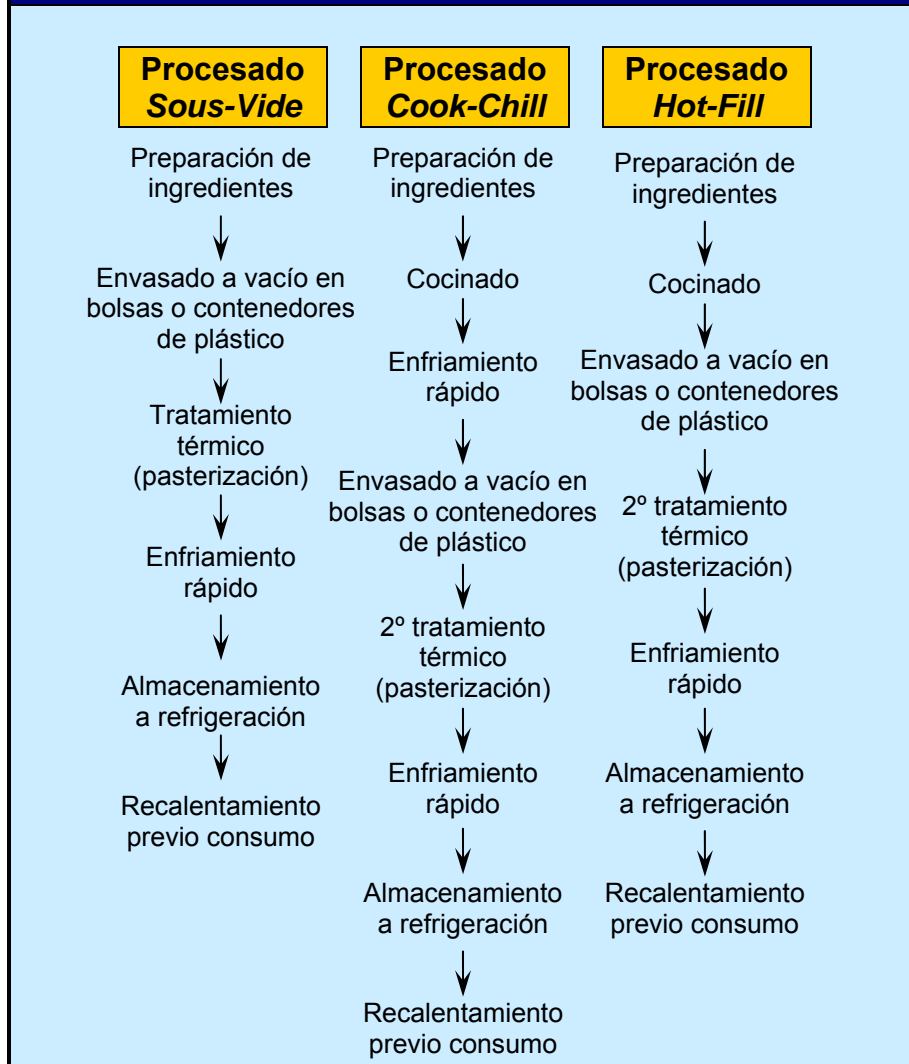
II.1.2.- Categoría dos: **“COOK-CHILL”** y **“HOT-FILL”**.

En esta segunda categoría, se incluyen todos aquellos procedimientos donde un alimento ya cocinado es envasado a vacío en bolsas o contenedores de plástico y posteriormente se le aplica un segundo tratamiento térmico (pasteurización) para incrementar su vida útil. En esta categoría se incluyen básicamente dos tecnologías: el **“Cook-chill”** y el **“Hot-chill”**, cuya única diferencia es que en el primer caso - *cook-chill* - el envasado en las bolsas o contenedores se realiza previo enfriamiento del alimento, y en el segundo caso - *Hot-chill* - , el envasado se realiza en caliente. Estos dos sistemas de procesado se suelen utilizar sobre todo en la elaboración de sopas, salsas, estofados y guisos, ya que estos platos requieren un cocinado previo por métodos tradicionales.

Por el contrario del procesado sous-vide propiamente dicho o “la cuisson sous-vide” se suele aplicar a alimentos que no necesitan un cocinado previo, como son las carnes o los pescados.

En **la figura 3** se muestran los diagramas de flujo básicos de los tres procesos, donde se pueden apreciar mejor las semejanzas y deferencias entre los mismos.

Figura 3. Diagrama de flujo del procesado *Sous-vide*, *cook-chill* y *Hot-fill* (Elaboración propia)



Sin embargo, otros autores (Gorris & Peck, 1998) no consideran a esta segunda categoría (Cook-chill, Hot-fill) como un sistema de procesado *sous-vide*, sino que los incluyen junto con el procesado *sous-vide* propiamente dicho dentro de los llamados “**Refrigerated Processed Foods of Extended Durability**” también conocidos como **REFPEDs** o lo que es lo mismo “**Alimentos Procesados Refrigerados De Larga Duración**” (Mossel *et al.*, 1991).

Los REFEDs se suelen aplicar a gran número de platos cuyos ingredientes fundamentales suelen ser los pescados, las carnes, las patatas, el arroz, las pastas y los vegetales sobre todo. Se caracterizan por un procesado a temperaturas que generalmente oscilan en un rango de 65-95° C, durante un periodo de tiempo superior al que se suele aplicar, por ejemplo, en el caso de las conservas.

Las temperaturas más bajas (entre 65-70° C) suelen ser usadas para alimentos más delicados, como los pescados, mientras que las temperaturas más altas se aplican a los vegetales. Después del tratamiento térmico los alimentos son enfriados rápidamente y posteriormente almacenados a refrigeración hasta su consumo. La vida útil de estos productos suele ser de 42 días, siempre y cuando se hayan mantenido almacenados a refrigeración y en su preparación se hayan seguido uno de los siguientes pasos:

- Los ingredientes (entre los cuales se incluyen tanto alimentos crudos como ya cocinados o procesados previamente) son envasados en un recipiente estable al tratamiento térmico (normalmente bolsas o barquetas de plástico) aplicando un vacío que suele oscilar entre 10 y 120 milibares. Tras el sellado de los recipientes, se le aplica un tratamiento térmico con el rango de temperaturas explicado anteriormente. Este tipo de procesado es lo que comúnmente se conoce como **procesado sous-vide**.
- Una variación al sistema anterior es la utilización atmósferas modificadas que son aplicadas en el momento del envasado y sellado de los recipientes. Este sistema de procesado no debería ser considerado como un sistema sous-vide.
- Otra opción es cocinar todos los ingredientes de forma individual y posteriormente envasarlos y someterlos a un nuevo tratamiento térmico. En esta categoría se incluirían los sistemas de procesado “**Cook-chill**” y “**Hot-fill**”.

II.2.- HISTORIA DE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE

La idea de un cocinado o pasterizado de los alimentos en recipientes, bolsas o contenedores sellados herméticamente no es nueva. Desde hace bastante tiempo se conocen los beneficios de proteger los alimentos del aire. Para ello, de un modo tradicional se recurría a la utilización de manteca de cerdo, aceite o parafina. Se podría decir que el precursor del sistema sous-vide que utilizamos actualmente sería la técnica de “**cocinado en papillote**”, donde los alimentos son cocinados envueltos en papel engrasado o incluso en una vejiga de cerdo, con el fin de conservar sus aromas y jugos naturales.

Lo que realmente es novedoso en el sistema de procesado sous-vide, es la utilización de **materiales plásticos resistentes al calor**, la **aplicación de un vacío** y un **tratamiento térmico mínimo adaptado** a las necesidades de cada producto.

La utilización de **películas plásticas** apareció en el mercado en la década de los sesenta aplicado fundamentalmente en la industria cárnica. En esa misma época empezaron a utilizarse también el **envasado a vacío** a escala industrial, sobre todo en la industria del catering. Así se desarrollaron los **sistemas Nacka**, en Suecia, y los **sistemas AGS** y **Capkold** en Estados Unidos.

II.2.1.- Sistema Nacka.

El **sistema Nacka** (Bjorkmenn & Delphine, 1966) tomó su nombre del Hospital Sueco donde se realizaron las primeras pruebas. Según este sistema, los alimentos eran preparados y cocinados mediante las técnicas y métodos tradicionales, pero se controlaba la temperatura en el producto con el fin de garantizar que la temperatura en el centro del mismo fuera al menos de 80° C. Una vez cocinados los productos, y todavía en caliente, eran envasados al vacío en bolsas de plástico. Las bolsas herméticamente cerradas se mantenían en agua hirviendo (100° C) durante 3 minutos, después, por una cinta transportadora pasaban por un túnel de enfriamiento hasta que el producto alcanza los 4° C (en un tiempo aproximado de 1 hora). A continuación, las bolsas ya secas, eran almacenados a una temperatura no superior de 4° C hasta el momento de su consumo (entre 7 y 28 días), para lo cual el alimento era recalentado por inmersión de las bolsas en agua hirviendo durante unos 30 minutos (Light & Walter, 1990).

El sistema Nacka no tuvo un gran éxito a nivel mundial, si bien, fue utilizado de forma notable en algunos países europeos, como Suecia, Alemania y Suiza, sobre todo por compañías especializadas en la elaboración de comidas para el sector de la restauración colectiva, fundamentalmente en hospitales y residencias.

II.2.2.- Sistema AGS.

El **sistema AGS** (McGuckian, 1969), debe su nombre a los tres hospitales estadounidenses que patrocinaron los primeros ensayos (Anderson, Greenville y

Spartanburg). Este sistema fue desarrollado con el fin de mejorar la mala calidad sensorial de los alimentos procesados por el sistema Nacka. Según este sistema, los alimentos inicialmente se sometían a una pre-cocción (sin necesidad de alcanzar los 80° C en el interior del producto como en el sistema Nacka) y a continuación eran envasados al vacío en bolsas de plástico. Después se procedía a aplicar a las bolsas un tratamiento térmico de pasteurización específico para cada alimento. Posteriormente, las bolsas eran enfriadas a una temperatura entre los -2° y 0° C. Se almacenaba a esa misma temperatura hasta que eran consumidos (60 días), para lo cual eran recalentados por inmersión en agua hirviendo durante 30-40 minutos hasta que la temperatura en el interior del alimento fuera de al menos 71° C.

II.2.3.- Sistema Capkold.

El sistema AGS, al igual que el sistema Nacka, pronto fueron abandonados a pesar de sus expectativas iniciales, fundamentalmente porque ambos eran sistemas discontinuos de procesado de alimentos. En este sentido, se desarrolló el **sistema Capkold** (Unklesbay *et al.*, 1977). Según este sistema, si el alimento era líquido o una suspensión (salsas, purés, sopas, caldos, etc.) se procedía inicialmente a una pasteurización (hasta que el producto alcanzaba una temperatura interna de 85° C), a continuación se procedía al envasado a vacío en bolsas y seguidamente se enfriaban hasta que alcanzaban una temperatura de 4° C, proceso que normalmente duraba 1 hora. Las bolsas ya frías eran almacenadas a una temperatura de 2° C durante un 14-45 días hasta su consumo, previo calentamiento del alimento sin especificar ninguna temperatura, tiempo o método. Si el alimento era sólido (carne, pescados, etc.), los ingredientes crudos eran envasados a vacío en bolsas de plástico, después se sometían a una cocción hasta que la temperatura en el interior del producto fuera de 85° C, tras lo cual, las bolsas eran enfriadas y se seguía el mismo procedimiento que con los alimentos líquidos.

El éxito del sistema Capkold fue bastante notable, así en 1989 había en Estados Unidos más de 100 empresas que utilizaban este sistema, 6 en Francia, 1 en Finlandia y 3 en el Reino Unido, lo que suponía una producción por parte de cada empresa de entre 500 y 45.000 comidas diarias (Anon, 1989).

En la **tabla 9**, se pueden apreciar de forma comparativa las semejanzas y diferencias entre el sistema Nacka, AGS, Capkold y Sous-vide (Mason *et al.*, 1990).

Tabla 9. Distintas etapas de los principales sistemas de cocinado a vacío (Tomado de Mason *et al.*, 1990)

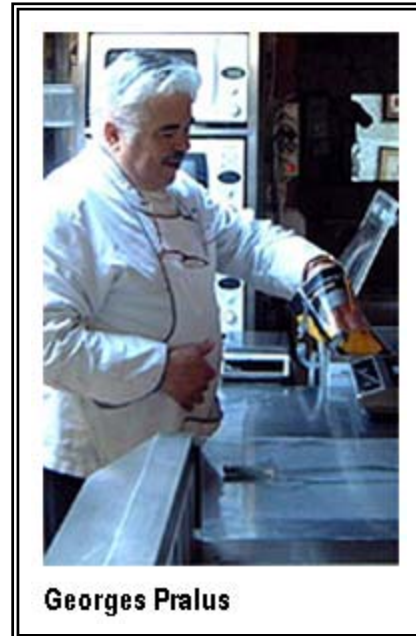
Nacka	AGS	Capkold		Sous-vide
		Alim líquidos	Alim. sólidos	
Preparación de los ingredientes	Preparación de los ingredientes	Preparación de los ingredientes	Preparación de los ingredientes	Preparación de los ingredientes
Cocción (80° C de temp. Interna)	Pre-cocción	Pasteurización (85° C temp. interna)	Envasado a vacío en bolsas plástico	Pre-cocción
Envasado a vacío en bolsas plástico	Envasado a vacío en bolsas plástico	Envasado a vacío en bolsas plástico	Pasteurización (85° C temp. interna)	Envasado a vacío en bolsas plástico
Pasteurización (inmersión en agua hirviendo 3 min.)	Pasteurización	Enfriamiento (4° C/1 hora)	Enfriamiento (4° C/1 hora)	Pasteurización (70-80° C temp. interna)
Enfriamiento (4° C/1 hora)	Enfriamiento (-2 - 0 ° C)	Almacenamiento/ distribución (2° C: 14-45 días)	Almacenamiento/ distribución (2° C: 14-45 días)	Enfriamiento (3° C/1.5 horas)
Almacenamiento/ distribución (4°C: 7-28 días)	Almacenamiento/ distribución (-2– 0° C: 60 días)	Recalentamiento (sin T ^a /tiempo específico)	Recalentamiento (sin T ^a /tiempo específico)	Almacenamiento/ distribución (3°C: 5-43 días)
Recalentamiento (inmersión en agua hirviendo 30 min)	Recalentamiento (inmersión en agua hirviendo 30-40 min) hasta alcanzar los 71°C	Consumo	Consumo	Recalentamiento (sin T ^a /tiempo específico)
Consumo	Consumo			Consumo

II.2.4.- Georges Pralus

La tecnología de la combinación del calor y las películas plásticas fue desarrollada también en otros países, como en Francia, donde en 1968 se desarrolló el **procedimiento Gatineau** para la esterilización de patatas envasadas; en 1972 apareció el primer jamón cocido envasado. En 1974, la experiencia del sistema Nacka fue importada a Francia bajo el nombre de **procedimiento Delphin**, desarrollado por los Laboratorios SEPIAL y aplicado sobre todo en la restauración colectiva.

También en Francia, ese mismo año, el prestigioso **Restaurante Troisgros** (Roanne, Francia) se quejaba de perder más de un 40% de su apreciado foie-gras durante el proceso de cocción, hecho que puso en conocimiento de su amigo y gastrónomo **Georges Pralus**, quien, se puso a investigar por su cuenta realizando distintas pruebas.

Después de varios intentos, terminó por reducir esa pérdida al 5%, mediante la cocción del foie-gras a vacío en bolsas de plástico, sin verse alterado su sabor. Además, Jean Troisgros, le confesó, incluso, que nunca había probado un foie-gras tan succulento. En vista del éxito cosechado con esta primera experiencia, durante el periodo 1974-1980, Pralus siguió haciendo pruebas de cocción a vacío en bolsas de plástico con pescados, carnes, verduras, etc., realizando así más de 600 recetas. Los resultados fueron sorprendentes y los mejores cocineros de Francia le confesaron que la calidad sensorial de los platos era superior a la que se obtenía mediante la cocción tradicional. Según estos cocineros, con la cocción a vacío, los platos reproducían los sabores de aquella cocina a fuego lento que realizaban nuestras abuelas, pero con el material moderno y sin que el aire provocara oxidación alguna. Siempre ponían el ejemplo del buey “bourguignon”, el cual cocía durante horas sin hervir en cocinas de carbón. Hoy, con el gas, la cocción se hace demasiado violenta. Pralus, demostró que el procedimiento de cocción bajo vacío permitía pues respetar el sabor de los platos preparados con esta técnica.



En esta primera etapa de la cocina al vacío, uno de los principales problemas consistía en la **falta de equipo específico** adaptado a este sistema (equipo de vacío, hornos adecuados, equipos de refrigeración, etc.), así como, la no disponibilidad en el mercado de materiales plásticos adaptados para su utilización en ese sistema. Pralus, colaboró entonces con los fabricantes de materiales plásticos, consiguiendo un material plástico multilaminar, resistente al calor e impermeable a los gases adecuado para este tipo de procesado. Desde 1980, Pralus ha estado muy activo en la promoción y difusión de la técnica de la cocina al vacío. Así, por ejemplo, en 1981 creó una escuela de “cocinado al vacío” donde más de 5.600 personas de 36 países diferentes han seguido su curso.

En 1985, publicó el libro "**Cuisson sous-vide, une histoire d'amour**" (Pralus, 1985) del cual se han vendido más de 10.000 copias. Gracias al entusiasmo de Georges Pralus y al apoyo de compañías como **GRACE CRYOVAC**, **ROSIERES** y **MULTIVAC**, la técnica de la cocina "sous-vide" fue conocida por los cocineros de todo el mundo.

La idea del procesado sous-vide a nivel industrial también se fue desarrollando, así entre 1974 y 1976 las compañías francesas **FLEURY MUCHON** y **GUYOMAC`H** aplicaron esta tecnología a la elaboración de modo industrial de platos preparados destinados a la restauración colectiva. En ese mismo periodo las compañías francesas **SCAPA**, **G.V.S LOISEAU** y **VITREENE** aplicaron esta tecnología a carne envasada a baja temperatura. Pero en ese tiempo la **legislación francesa** limitaba mucho la comercialización de este tipo de productos, ya que establecía la **vida útil** de los productos refrigerados en un **máximo de seis días**; y no fue hasta **1984** cuando se modificó la legislación, aumentado hasta **21 días la vida útil** de los productos refrigerados, siempre y cuando éstos hubieran sufrido un **tratamiento equivalente de 100 minutos a 70° C**. Este hecho influyó muy positivamente en el desarrollo inicialmente en Francia y luego en el resto de Europa de la tecnología sous-vide a nivel industrial.

Al menos en sus inicios la tecnología sous-vide tuvo un éxito muy diferente en los distintos países. Su aplicación a nivel industrial estuvo limitada casi exclusivamente al ámbito Europeo, pero no de la misma forma en todos los países. Así, mientras en **Francia** y **Bélgica** aparecieron nuevas compañías que utilizaban con éxito esta tecnología, en otros países europeos esto no ocurría. La razón principal fue que, mientras en Francia y Bélgica se prestó una gran atención a las características sensoriales de los alimentos preparados de este modo, en otros países, como **Alemania**, **Dinamarca** y **Reino Unido**, primaban sobre todo los aspectos relacionados con la seguridad alimentaria, principalmente debido al riesgo potencial del crecimiento de bacterias patógenas psicrotrofas en este tipo de productos. De hecho, la mayoría de los trabajos de investigación sobre los productos cocinados al vacío se refieren a aspectos microbiológicos, principalmente al crecimiento e inactivación y producción de toxinas por parte de cepas no proteolíticas de *Clostridium botulinum*.

En un estudio realizado entre los países que formaban parte de la Unión Europea en 1992 (Schellekens & Martens, 1992) se contabilizaron 108 empresas productoras de alimentos procesados mediante la tecnología sous-vide, de las cuales, 87 estaban localizadas en Francia o Bélgica (80 %). Al comienzo de los años 90, el

crecimiento de este tipo de empresas en Europa fue de un 10-20 %, pero debido a la crisis económica este crecimiento se estabilizó, debido en parte al precio más elevado de este tipo de productos. En **Francia**, por ejemplo, en 1989 el 2,5 % de los platos preparados eran cocinados según la tecnología sous-vide. Según estimaciones, esto representaba unas 12.000 toneladas, de las cuales 8.000 toneladas se distribuían a través de la restauración colectiva y las 4.000 toneladas restantes a través de la venta en supermercados y grandes superficies (Grigaut, 1990). En 1991, la producción ascendió a 20.500 toneladas, (12.500 toneladas para la restauración colectiva y 8.000 toneladas para supermercados) (Fiess, 1991). A estos valores hay que sumar el dato que introduce Pralus, ya que según él, entre el 10-15 % de las cocinas de los restaurantes franceses utilizaban la cocina al vacío. Estas cifras en conjunto ilustran el crecimiento potencial que este tipo de tecnología tuvo inicialmente en Francia.

En **Bélgica** ocurrió algo similar, así diversas compañías empezaron a utilizar la cocina al vacío en sus propios mercados: tal es el caso de los restaurantes “Hot Cuisine” o “Vaco”, las empresas de restauración colectiva “Ancora” o “Deliva” o los restaurantes para estudiantes como es el caso de “ALMA” (Universidad de Lovaina, Bélgica). Posteriormente estas compañías o empresas ampliaron su mercado con la distribución y venta de sus productos a otros restaurantes, supermercados, grandes superficies, etc.

En otros países, como **Holanda** o **Reino Unido**, hubo inicialmente bastante interés por la cocina bajo vacío, pero la carencia de una legislación específica y las dudas acerca de la seguridad microbiológica de estos productos pudieran ser la causa de la reticencia de los fabricantes. Tal es el caso de la compañía británica “Home Rouxl” que en 1986 apareció con grandes expectativas pero que en 1993 decidió cerrar. Tampoco en **Dinamarca** y **Alemania** fue muy extendida esta tecnología, debido principalmente al desconocimiento del sistema y a la preocupación por la seguridad alimentaria, a pesar que el consumo de platos preparados refrigerados en estos países estaba ya muy extendido.

En **España** la utilización a nivel industrial de la cocina al vacío (tanto restauración colectiva como la comercialización de productos procesados por esta tecnología) no está teniendo mucha incidencia, debido principalmente a dos motivos: por un lado la mala aceptación por parte del consumidor general, probablemente debido al mayor precio de estos productos, a una falta de información del consumidor y a una mayor resistencia al cambio; y por otro, a las mayores inversiones en

tecnología y conocimiento que requiere este sistema en comparación con los sistemas tradicionales utilizados en la industria de la alimentación.

Queda claro que la aplicación industrial de la tecnología sous vide está todavía poco desarrollada por las razones explicadas en los párrafos anteriores. Sin embargo, esta tecnología sí está teniendo **auge dentro de la alta cocina actual**, estando muy presente en las técnicas utilizadas por grandes cocineros de talla internacional como Ferrán Adriá, Thomas Keller, Jesse Mallgren, Paul Bocuse, Joël Robuchon, Charlie Trotter o Alessandro Stratta, todos ellos máximos exponentes de la **cocina creativa y de autor**. En España, a parte del ya mencionado Ferrán Adriá cabe destacar, a **Joan roca i Fontané** cocinero y responsable del restaurante “*El Celler de Can Roca*” (Gerona), quien a parte de publicar junto a Salvador Brugués el libro “*la cocina al vacío*” ha desarrollado equipos específicos para el cocinado de alimentos mediante la tecnología sous vide, como por ejemplo el **roner** o sus evoluciones (**roner domo y roner compact**) entre otros.

II.3.- EQUIPOS EMPLEADOS EN LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE

El sistema de procesado sous-vide, presenta dos operaciones básicas: el **envasado a vacío** y el **tratamiento térmico** empleado. Para realizar estas dos operaciones existen distintas posibilidades en el mercado, que voy a intentar resumir a continuación:

II.3.1- EL MATERIAL DE ENVASADO:

El envase es un **elemento clave en la vida comercial de un producto**. Éste juega múltiples papeles respecto del producto que contiene: lo protege de roturas, derrames, contaminación y permite su transporte, almacenamiento y distribución. Estamos asistiendo a un verdadero cambio en el campo del consumo de alimentos y bebidas y en general a la forma de comercialización de cualquier producto. El marketing ha creado un profundo cambio en la manera de presentar los productos y la forma de venta.

El plástico es el material de envasado más utilizado hoy en día. Los **envases plásticos** contribuyen a los cambios de hábitos en los hogares en los cuales la menor

disponibilidad de tiempo para tareas hogareñas ha posibilitado que los envases plásticos puedan ahorrar tiempo en la cocción de alimentos preparados ya que se adaptan muy bien al calentamiento en horno microondas.

En los últimos años se han realizado **importantes avances** en el área de los materiales plásticos de envasado, se ha conseguido desarrollar materiales químicamente inertes, fácilmente maleables a baja temperatura (lo que supone un ahorro de energía), resistentes a las roturas, con gran versatilidad (transparentes, con colores, etc.) y con las propiedades barrera adecuadas a las necesidades del producto. A la hora de elegir el material de envasado adecuado para nuestro producto debemos tener en cuenta una serie de premisas fundamentales, entre las que cabe destacar: la **resistencia a las altas temperaturas**, la **impermeabilidad a los gases**, **ser químicamente inertes** (ausencia de las interacciones entre el alimento y los constituyentes del plástico), y una **suficiente resistencia mecánica** a las presiones ocasionadas por el vacío. A continuación, se detallan de forma más extensa cada una de estas premisas:

a) Resistencia a las altas temperaturas:

El material plástico utilizado deber ser capaz de resistir tanto la **temperatura de cocción/pasteurización** como la de **recalentamiento** a la cual va a ser sometido. Un estudio realizado por Castle *et al.* (1990), puso de manifiesto que durante el recalentamiento de las barquetas de plástico en hornos microondas convencionales, siguiendo las instrucciones de los fabricantes, se alcanzaban temperaturas entre los 61 y los 121° C. Este estudio, no hace más que poner de manifiesto la importancia que tiene elegir de forma correcta el tipo de material plástico utilizado en los envases. Así por ejemplo, el **polipropileno de baja densidad (LDPE)**, no debería ser utilizado en el caso de que se alcanzaran temperaturas superiores a 85° C. En esos casos es preferible la utilización de plásticos a base de **polipropileno de media densidad (MDPE)**, **polipropileno (PP)**, **poliamida (PA)** o **polietileno tereftalato (PET)**. Si el tratamiento fuera a temperaturas superiores a 100° C se recomienda el uso de **polipropileno de alta densidad (HDPE)**, teniendo en cuenta que a esas temperaturas este tipo de plásticos se vuelven opacos. Para productos pasterizados a temperaturas de entre 70-80° C y posteriormente almacenados a 0-3° C, con una vida útil de menos de 21 días, el uso de materiales como **polipropileno (PP)**, **polipropileno de alta densidad (HDPE)** o **poliésteres cristalizables (CPET)** son los más recomendables. Si la vida útil excede de 21 días es mejor el uso de materiales a base de polipropileno y resinas protectoras para asegurar la adecuada impermeabilidad del envase.

Otros materiales como las **resinas de poliestireno (PS)** se derriten a temperaturas que rondan los 82° C. A temperaturas superiores de 82° C este material pierde su rigidez y se empieza a producir el típico olor a estireno (olor a plástico quemado). Cuando el poliestireno (PS) es mezclado con **polifenilóxidos (PPO)**, a esas temperaturas, la rigidez de envase no se ve afectada y el producto mantiene su permeabilidad a las microondas. Se estima que por cada 1 % de polifenilóxidos (PPO), la resistencia a la temperatura aumenta en 1.5° C.

Más recientemente, debido al auge en el uso de los **hornos microondas** se están desarrollando cada vez más materiales de envasado específicos para el recalentamiento de los alimentos en estos hornos. Son muy usados para el calentamiento de pastas, pizzas, patatas, etc. Consiste en una lámina plástica (normalmente de **polietileno tereftalato (PET)** en contacto con el alimento, sobre ella va una **capa de aluminio** y recubriendo todo una **lámina de papel**. Este tipo de envases se denomina comúnmente como “**susceptors**”. Actúa absorbiendo y posteriormente transmitiendo parte de la energía microondas, la proporción de energía absorbida y energía transmitida se regula por el grosor y composición de la capa metálica.

b) Impermeabilidad a los gases:

El material de envasado utilizado para la tecnología sous-vide debe suponer una barrera infranqueable para la penetración de los gases (oxígeno, dióxido de carbono, vapor, etc.). Los componentes plásticos que cumplen esta premisa son el **cloruro de polivinilo (PVDC)**, **etileno-alcohol vinilo (EVOH)** y **poliamida (PA)**. El cloruro de polivinilo (PVDC) presenta la característica de mantener sus **propiedades barrera** en ambientes húmedos, al contrario que el etileno-alcohol vinilo (EVOH), el cual, adquiere cierta permeabilidad al ser sumergido en un baño de agua. En los últimos años, se ha desarrollado un nuevo material denominado “**crystal flexible**”. Se trata de combinar las propiedades barrera del cristal con la flexibilidad y versatilidad de los plásticos. Para ello, se recubre bajo vacío con una **capa de dióxido o monóxido de silicio la superficie de un plástico**; todo este proceso se realiza en condiciones de vacío. La capa de cristal suele ser de un grosor aproximado de 1µm, aunque depende del tipo de envase. Otra opción es recubrir el material plástico con componentes cerámicos.

La permeabilidad de los plásticos se mide en $\text{cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ horas}/25^\circ \text{C}$ a una humedad relativa del 75 %. Para su uso alimentario el límite de permeabilidad permitida debe de estar por debajo de $50 \text{ cm}^3/\text{m}^2/24 \text{ horas}$ (Roizer *et al.*, 1990).

c) Restricción a la migración de los constituyentes del plástico:

Otra característica que deben cumplir los materiales de envasado es la de **controlar la migración de algunos de sus componentes de bajo peso molecular** hacia el alimento, como aditivos del plástico, monómeros, etc. Por otro lado, componentes del producto, especialmente aceites, agua, alcoholes, etc., pueden migrar y reaccionar con los materiales de envasado. A este respecto, existe en la **Unión Europea** toda una **legislación** donde se establecen los márgenes de migración total de los distintos constituyentes de los plásticos en contacto con un alimento. Además regula las condiciones de cómo se deben llevar a cabo las pruebas para ver si hay migraciones y el grado en que ésta se produce (Directivas 82/711/CEE, 85/572/EEC y 90/128/EEC).

d) Resistencia mecánica:

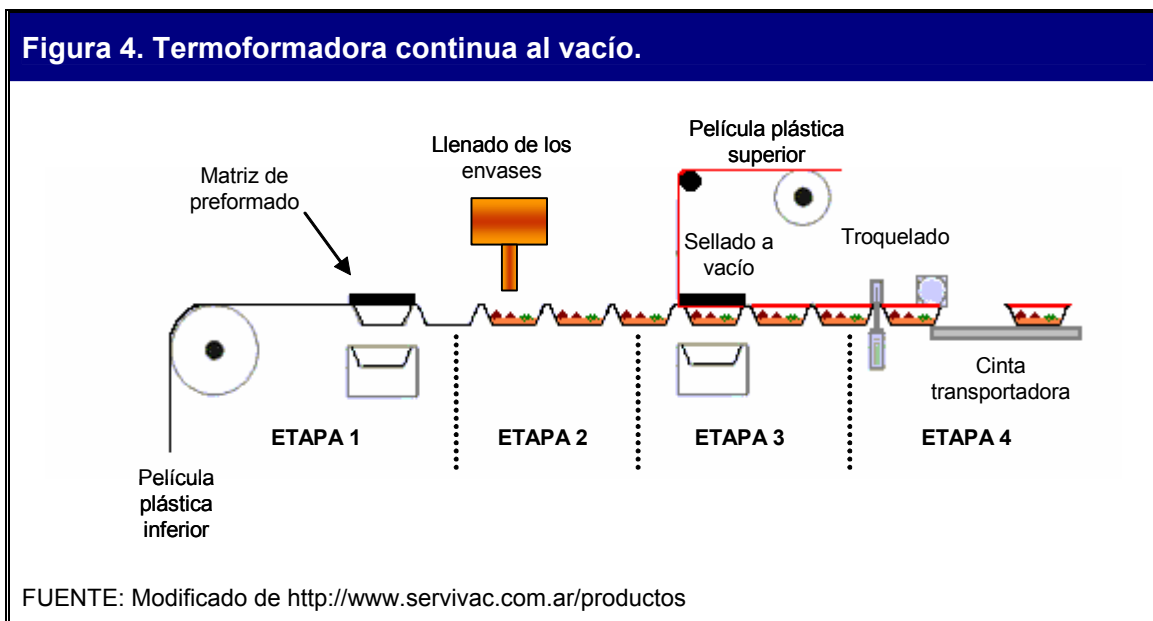
La resistencia mecánica del material de envasado, en particular en las zonas de unión, deber ser suficientemente alta como para soportar las operaciones durante el procesado del alimento y también durante el almacenamiento y posterior recalentamiento del producto. En el caso de que se produjeran fugas sería posible la contaminación del alimento, por la entrada de microorganismos. Además, la presencia de fugas va ocasionar la pérdida de vacío no quedando ya inhibido el crecimiento de la flora aerobia. Por otro lado, se producirá también un deterioro aún más rápido del alimento al agilizarse las reacciones de oxidación.

Durante el procesado sous-vide del alimento hay varias etapas donde el envase puede entrar en contacto con superficies metálicas calientes que pueden ocasionar lesiones que posteriormente deriven en fugas. Por lo tanto, se debe garantizar que los envases se encuentran perfectamente sellados. Para ello, existen muchos métodos para realizar este **“test de fugas”**. El más sencillo es el **“test de burbujas”** que consiste en la inmersión de los productos en un tanque de agua, donde las fugas son apreciadas por la presencia de burbujas de aire emergiendo. Otro método es la **utilización de campanas de cristal** donde al hacer vacío aparecerán burbujas donde haya fugas; y un tercer método, es la **utilización de colorantes**, normalmente **azul de metileno**, que penetrará dentro del envase si hubiera alguna fuga.

II.3.2- EL EQUIPO DE ENVASADO:

a) Máquinas de envasado en la industria alimentaria:

Para el envasado a nivel industrial lo más usual es la utilización de “**termoformadoras continuas al vacío**”. Este sistema de envasado consta de cuatro etapas (Figuras 4). La primera etapa consiste en el proceso de preformado del envase de plástico. El proceso de termoformado consiste en calentar y reblandecer una hoja o lámina de material plástico y someterla hasta que adopte la configuración del molde correspondiente para así, obtener un envase casi terminado con un tamaño y forma deseado. Las fuerzas de preformado más comúnmente utilizadas son: vacío o aire a presión, fuerzas mecánicas y la combinación de las tres, en función del tamaño del envase, el volumen a producir y la velocidad del ciclo de formación. La segunda etapa, consiste en el llenado de los envases, de forma manual o automática, dependiendo del tipo de producto. Después, en una tercera etapa, una máquina a la vez que produce un vacío total, sella los envases con una película plástica, normalmente transparente. Finalmente en una última etapa se procede al troquelado y separación de los envases ya confeccionados, que son circulados mediante una cinta transportadora hacia un lugar de acumulación hasta que sean sometidos al tratamiento térmico correspondiente.



Las termoformadoras continuas al vacío son un sistema de envasado ideal para productos de un mismo tamaño y con alto nivel de producción, ya que suponen un menor costo por envase, una buena presentación del producto (en bandejas rígidas) y permite la inclusión de sistemas automáticos de fechado o etiquetado de los envases.

b) Máquinas de envasado en empresas de catering:

Para este tipo de empresas, donde la producción suele ser menor, se suelen usar métodos de envasado a vacío de tipo discontinuo, como son: “**envasadoras de campana de vacío**”, en el caso de que el producto se envase en bolsas, o bien “**selladoras de barquetas**” en caso de utilizar bandejas de plástico rígidas.

La **envasadora de campana de vacío**, consiste en una cámara que cierra herméticamente y de la que se extrae totalmente el aire atmosférico generándose un vacío que oscila entre el 99 y el 99.9 % según el tipo de máquina, a la vez que se sella térmicamente el lado abierto de la bolsa. A continuación se ventila la cámara, pudiéndose retirar los envases ya acabados. El sellado de las bolsas que se consigue es de muy buena calidad. Son muy recomendables y utilizadas para bajas producciones y envases de poco valor añadido. Son envasadoras sencillas y económicas. Existe gran variedad de envasadoras de vacío, en función de las dimensiones de la cámara y de la longitud de las barras de soldadura (Figura 5). La principal desventaja es que son equipos muy lentos, por lo que no pueden alcanzarse producciones superiores a 2-3 ciclos por minuto.

Figura 5. Ejemplos de envasadoras de campana de vacío. Servivac, Argentina.



El otro tipo de máquina, la **selladora de barquetas**, está compuesta por una cámara o molde que cierra herméticamente y que consta de dos partes de las que la

inferior se desliza horizontalmente para poder colocar en los alvéolos correspondientes las barquetas preformadas, previamente cargadas con producto. Una vez introducida esta parte inferior del molde bajo la parte superior, esta última desciende acoplándose ambas perfectamente. Se realiza el vacío, el sellado y el corte del film superior de tapa, siempre flexible, siguiéndose perfectamente el contorno de las barquetas. Pueden ser a su vez de dos tipos: **selladoras semiautomáticas**, donde los ciclos de trabajo suelen durar entre 20 y 30 segundos, a los que debe añadirse el tiempo de carga/descarga de las barquetas, por lo que se alcanzan rendimientos finales de 2-3 ciclos/min, y las **selladoras automáticas**. La llegada de las barquetas con el producto a la selladora es automática, por lo que se alcanzan mayores velocidades de trabajo. Puede llegarse hasta rendimientos de 15-20 ciclos/min, según el tipo de equipo, necesidades de vacío y requerimientos del producto. Ambos tipos de equipos son muy populares y son fabricados por gran cantidad de empresas (MULTIVAC® (Suiza), TURBOVAC® (Holanda), CRYOVAC® (EE.UU.), ROSCHMATIC® y HENKOVAC® (Holanda), ROVEBLOC® y TECNOTRIP® (España), SERVIVAC® (Argentina), etc.

Cabe destacar dentro de este apartado los equipos desarrollados específicamente profesionales de la gastronomía como los comercializados por la empresa **International Cooking Concepts**, a partir de los desarrollos, tanto de profesionales del sector como de instituciones como la Universidad Politécnica de Valencia o la Fundación Alicia. Uno de estos equipos para el envasado al vacío es la selladora **VacPack®** fabricada por J.P. SELECTA (España), (ver figura 6), hace posible el envasado de alimentos al vacío utilizando bolsas fabricadas con cualquier material termoplástico (polietileno, polipropileno, poliéster, aluminio, etc).



II.3.3- EL SISTEMA DE COCCIÓN/PASTEURIZACIÓN EMPLEADO:

a) Máquinas de envasado en la industria alimentaria:

El sistema de cocción/pasteurización utilizado en las industrias alimentarias es muy variado, al existir en el mercado varias posibilidades. Los sistemas más utilizados son los siguientes: la combinación aire-vapor, el calentamiento-enfriamiento con agua, la utilización de corrientes de agua o el uso de microondas. Cada una de ellos presenta sus ventajas e inconvenientes (mayor o menor gasto de energía, rapidez, precisión/control de la temperatura, modificación de las propiedades sensoriales, etc.). A continuación paso a desarrollar cada una de estas posibilidades:

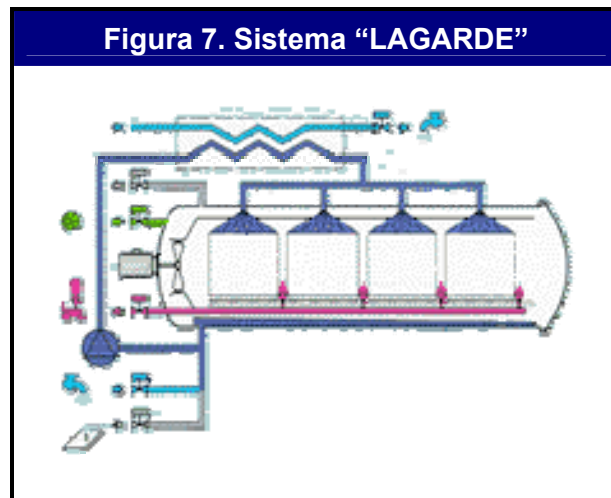
- **Calentamiento por combinación aire/calor.**

Los primeros equipos utilizaban únicamente el **vapor como medio de calentamiento**. Los alimentos ya envasados y situados en una cámara cerrada son calentados mediante una inyección de vapor producido por una instalación central (caldera). Un ventilador se encarga de asegurar el continuo movimiento del vapor mientras dure el ciclo/programa de calentamiento. Este sistema es capaz de calentar los alimentos entre un rango de temperaturas que va desde los 60 hasta los 100° C.

Existe en el mercado una gran variedad de equipos que usan el vapor para calentar los alimentos. Algunos fabricantes de estos equipos son compañías francesas (THIRODE, CAPIC, BODSON) o alemanas (FESSMANN, ATMOS, VEMAG). Estos equipos derivan de la industria cárnica, donde se usan para el cocinado del jamón, ahumado, etc. Una ventaja de estos sistemas es su gran **versatilidad** (al poder usarse tanto en productos previamente envasados, como en los no envasados) y su **bajo coste de inversión**. Por el contrario presentan la desventaja de que **la distribución de la temperatura y el coeficiente de transferencia de calor por superficie no pueden ser bien controlados**, presentando a la vez una **eficacia térmica baja**. Además, dependiendo del tipo de producto, puede ocurrir un **hinchamiento de las bolsas o barquetas** de plástico si el vacío no se realizó de un modo adecuado.

Posteriormente los equipos evolucionaron a la **utilización conjunta del aire y del vapor**. Este sistema fue desarrollado por la compañía **LAGARDE** (figura 7). Era un sistema inicialmente diseñado para los procesos de esterilización. Se trata de un **autoclave que trabaja a temperaturas de pasteurización**. Al trabajar con

sobrepresión nos permite evitar el hinchado de las bolsas. Además, tanto el calentamiento como el enfriamiento ocurren en la misma unidad. Al ser un sistema cerrado, es posible regular la temperatura con una precisión de $\pm 0.5^\circ \text{C}$.



También admite la utilización de **sondas internas**, lo que nos permite controlar con más seguridad la temperatura que aplicamos a nuestro producto. Una vez que se ha acabado el **ciclo de calor**, se inicia de forma automática el **enfriamiento del producto**. Inicialmente se produce un pre-enfriamiento con agua fría y posteriormente un enfriamiento rápido con agua helada ($0-2^\circ \text{C}$) que nos garantizará una temperatura en el centro del producto en un tiempo inferior a 2 horas. En vez del agua helada, es posible utilizar un sistema de enfriamiento criogénico mediante la inyección de CO_2 al habitáculo, lo que provoca una bajada rápida de la temperatura a -20°C inicialmente, después de lo cual se estabiliza a 4°C .

Todo el proceso de calentamiento/enfriamiento puede ser realizado de forma totalmente automática. Este hecho es muy útil, ya que nos permite, por ejemplo, realizar todo el proceso por la noche (previa programación) y así por la mañana el producto está listo para su almacenamiento y/o distribución, sin haberse interrumpido la cadena del frío. Por el contrario, la necesidad de crear vapor y agua helada supone un **alto gasto energético**, con lo cual, su uso solo se justifica en el caso de tener una alta capacidad de producción.

Este tipo de equipos son muy utilizados en cocinas centrales de empresas francesas como PLAISIC Á LA CARTE, NOVELLE GASTRONOMIE FRANÇAISE, etc.

- **Calentamiento / enfriamiento con agua.**

El equipo más característico es el **SISTEMA THERMIX**, desarrollado por ARMOR INOX (Francia). Según este sistema, inicialmente el producto es depositado en el interior de un tanque de acero inoxidable. A continuación se llena rápidamente con agua caliente (pudiendo mezclar con agua fría) hasta alcanzar la temperatura deseada. El tiempo y temperatura de calentamiento está regulada por una sonda colocada en el interior del producto. Cuando finaliza el tiempo de cocción, el tanque es vaciado (reciclando parte del agua para el precalentamiento del próximo ciclo). Posteriormente se llena el tanque con agua corriente que estará a 15 – 20° C para iniciar el enfriamiento del producto (etapa de pre-enfriamiento). Finalmente, se vuelve a vaciar el tanque y se llena con agua helada (0-2° C) para conseguir el rápido enfriamiento del producto.



Tomado de ARMOR INOX. <http://www.armorinox.com>

Este tipo de equipos presenta una serie de ventajas: en principio es un sistema integrado que **permite la reutilización del agua** usada en cada etapa con el consiguiente ahorro de tiempo y energía que esto supone. Además, se trata de un **sistema fácilmente automatizable**. El problema se presenta cuando hay fugas en los envases, produciéndose infiltraciones tanto con el agua de calentamiento como con el de enfriamiento que pueden ocasionar la contaminación del producto. Las compañías francesas AGIS, FREALIM y NOUVELLE CARTE utilizan este sistema.

Una variación del sistema THERMIX, es el **Sistema AFREM**, donde se utilizan dos tanques distintos (uno de calentamiento y otro de enfriamiento), haciendo pasar el alimento de un tanque a otro mediante un sistema de poleas.

- **Calentamiento con corrientes de agua (*streaming water*).**

El equipo más representativo se denomina **STERIFLOW**, desarrollado por la compañía francesa BARRIQUAND STERIFLOW. Es un equipo derivado de los autoclaves tradicionales. Las bolsas o barquetas son cargadas en canastas antes de introducirlos en el autoclave. A continuación se hace circular una corriente de agua a muy alta velocidad alrededor del producto. Para un autoclave con capacidad para cuatro canastas de tamaño medio se utilizan unos 400 litros de agua caliente que se recicla cada 9 segundos a una velocidad de flujo de unos 160 m³/hora. La apertura de la válvula de calentamiento está controlada de forma automática, lo que nos permite controlar la temperatura del tratamiento con un error de precisión de $\pm 0,5^\circ \text{C}$.

Los condensados son evacuados por medio de una trampa de vapor y son nuevamente reciclados hacia la caldera de calentamiento del agua. La sobrepresión es controlada, independientemente de la temperatura, por la inyección o fuga de aire comprimido mediante la apertura de una válvula de presión que se abre o cierra de forma automática. Una vez que ha acabado el ciclo de calentamiento, se hace circular de la misma forma una corriente de agua fría para el enfriamiento rápido de los productos.



Tomado de BARRIQUAND STERIFLOW. <http://www.steriflow.com>

Según la compañía BARRIQUAND STERIFLOW hay cerca de 2000 aparatos de este tipo en 85 países diferentes. La mayor ventaja de este sistema es la separación del circuito de agua caliente del de agua fría a través de un intercambiador de calor lo que permite un menor consumo de energía.

- **Calentamiento por microondas.**

En los últimos años se está poniendo mucho énfasis en el desarrollo de hornos microondas con aplicación industrial. El principal problema que presenta la energía microondas es que parte de la energía puede ser reflejada por la superficie del alimento, sin llegar a ser absorbida, causando una desigual distribución de la energía en el alimento. La consecuencia inmediata de este fenómeno es una **alternancia de zonas calientes con zonas frías en el interior del producto**. Este grave problema puede ser minimizado por la **rotación del alimento dentro del horno microondas o por la utilización de agitadores de ondas (wave stirrers)** quienes distribuyen las microondas de un modo más uniforme sobre la superficie del producto. Otra forma de asegurar un calentamiento más homogéneo del producto es la utilización de los llamados “**microondas combinados**”; se trata de hornos microondas que combinan las microondas con sistemas tradicionales de calentamiento, como el vapor. También es posible la utilización de hornos microondas con múltiples sistemas de alimentación. (IFT, 1989).

En el **LUW** (*Landbouw Universiteit Wageningen*, Holanda) se ha desarrollado un **sistema de horno microondas que funciona de forma continua**. Los alimentos atraviesan, sobre una cinta transportadora, un túnel donde se les aplica una energía en forma de microondas lo que les ocasiona un rápido incremento de su temperatura. A continuación, se aplica calor de modo convencional para mantener a los alimentos a su temperatura específica de cocción. Por medio de sensores distribuidos por todo el túnel, se determina el porcentaje de energía microondas no absorbida por el producto, para poder ajustar la intensidad del campo de modo automático. Este tipo de procesado supone un ahorro tanto de tiempo como de energía. (Lengkeek, 1990). Algunas empresas belgas, que elaboran alimentos a base de pasta, utilizan equipos que combinan la energía microondas con el aire a presión (P & T Foods, Hulshout, Bélgica). Sus equipos constan de unos 50 generadores de microondas que trabajan a una frecuencia de 2450 Mhz.

El sistema está controlado de modo automático por un PLC (Programmable Logic Controller). Una cámara infrarroja detecta la temperatura de cada bandeja y transmite los datos al PLC que a su vez controla la intensidad y dirección de las microondas. Siguiendo esta misma idea, la compañía francesa BONNET ha desarrollado a pequeña escala un túnel multi-energético, para su uso en cocinas

centrales, que consta de diferentes sistemas de calentamiento, incluyendo microondas, vapor y cámaras de infrarrojos.

b) Equipamiento en el Sector del Catering:

Tradicionalmente, el método utilizado para la cocción/pasteurización de los alimentos, que previamente fueron envasados a vacío en bolsas de plástico, es la **inmersión de los mismos en un baño de agua caliente**, en donde controlamos en todo momento la temperatura en el interior del alimento. Otro sistema bastante popular es el uso de los llamados “**hornos combinados**”. Son hornos aparentemente normales, donde además del método convencional de calentamiento, poseen además un sistema de calentamiento bien por aire forzado o por vapor inyectado a baja presión. Este tipo de equipos son fabricados por un gran número de fabricantes: JUNO, ZANUSSI (Italia); HOBART, ELOMA, RATIONAL (Alemania); LEVENTI (Holanda), etc. La distribución del calor y el control de la temperatura de los hornos combinados con vapor es mucho mejor que en los que usan aire forzado.

Tras el ciclo de cocinado/pasteurización, las bolsas son inmediatamente enfriadas mediante la inmersión en un baño de agua helada. Normalmente se suele provocar una agitación de las bolsas para que aumente la transferencia de calor y el enfriamiento sea así mucho más rápido. Este sistema de enfriamiento es muy empleado debido a que es bastante económico y muy eficaz.

Otro sistema de enfriamiento rápido también muy popular, es el uso de **abatidores** (*bast chill*). Son arcones o cabinas de acero inoxidable, que utilizan gases refrigerantes (R-404 libre de CFC) que posibilitan pasar de +70° C a +3° C en menos de 90 minutos, manteniendo después el producto a 3° C. En el mercado hay disponibles gran cantidad de modelos que oscilan entre los 10 y los 200 Kg. de capacidad. Algunos proveedores europeos son: FOSTER, WILLIANS (en el Reino Unido); ACFRI, FIGRINOX, IRINOX, FRIULINOX (en Francia), ZANUSSI (en Italia), ASSKÜHL (en Alemania) y FAGOR, MATACHANA (en España).

La mayoría de los abatidores son suministrados con un sistema de control y registro, que suele incluir: un controlador de la temperatura del aire de la cabina o arcón, lector de la temperatura de la sonda interna (mide la temperatura en el interior del alimento), un “display” donde se puede programar el ciclo de enfriamiento (velocidad, tiempo, etc.), un sistema automático de descongelado con avisador

luminoso, sistema de alarma visual y/o sonoro en el caso de fallo en el sistema. Después del ciclo de enfriamiento rápido, las bolsas son almacenadas en una cámara de refrigeración donde la temperatura oscilará entre 0-3° C, debiendo existir un registro continuo de la temperatura en el interior de la cámara.

El recalentamiento de las bolsas suele llevarse a cabo con el alimento en el interior de la bolsa manteniéndose el vacío. Normalmente se hace por inmersión en un tanque de agua caliente o en un horno de vapor. Alternativamente, se puede recalentar en un microondas tras el pinchazo de la bolsa. En ningún caso, el recalentamiento del alimento debe ser considerado como una prolongación del ciclo de cocción/pasteurización ya que la calidad del producto se verá altamente disminuida. Los alimentos deben ser recalentados a una temperatura inferior que la aplicada durante el ciclo de cocción.

Dentro de los equipos desarrollados específicamente **profesionales de la gastronomía** cabe destacar los **baños termostatzados roner** o el equipo compacto para cocinar e impregnar en vacío **Gastrovac**[®]. Los baños termostatzados **roner** (Roner Domo[®] o Roner Compact[®]) (figura 10) desarrollados por los cocineros Joan Roca de “*El Celler de Can Roca*” (Gerona) y Narcís Caner de “*La Fonda Caner*” (Gerona) y fabricados por J.P. SELECTA SA , permiten crear un baño maría con temperatura constante e idéntica en todo el recipiente, controlando las cocciones a baja temperatura, de 5° a 100° C.



Por otro lado, el equipo compacto para cocinar e impregnar en vacío **Gastrovac**[®] fabricado por J.P. SELECTA (España) (figura 11) ha sido desarrollado conjuntamente por la Universidad Politécnica de Valencia y los cocineros Javier Andrés del

restaurante “la Sucursal” (Valencia) y Sergio Torres del restaurante el Rodat (Jávea). El equipo crea una atmósfera artificial de baja presión y ausencia de oxígeno lo que reduce considerablemente las temperaturas de cocción y fritura, manteniendo así la textura, el color y los nutrientes de los alimentos. Además la Gastrovac consigue el denominado “efecto esponja”, al restaurar la presión atmosférica, el alimento absorbe el líquido que tiene alrededor, lo que permite muchas más combinaciones de alimentos y sabores.

Figura 11. Equipo compacto para cocinar e impregnar en vacío Gastrovac® de J.P. SELECTA SA



II.4.- MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE

II.4.1- INTRODUCCIÓN:

En las últimas dos décadas se ha experimentado un rápido crecimiento en la cantidad y diversidad, tanto de comidas preparadas como de componentes de menús, envasados y cocinados al vacío. Estos productos presentan un riesgo potencialmente alto, debido fundamentalmente a la combinación de varios factores, como el haber sido sometidos a un **tratamiento térmico normalmente bajo (pasteurización)**, presentar una **alta actividad de agua**, **no llevar conservantes** y en muchas ocasiones llevar ingredientes y especias muy diversas, a menudo exóticas. Por estos motivos, las autoridades sanitarias de algunos países se muestran preocupadas por la seguridad de los productos procesados sous-vide, en especial Estados Unidos, Reino

Unido y Alemania. Por otro lado, hay que tener en cuenta que la práctica industrial, los ensayos paralelos y los estudios sobre inoculaciones han demostrado en la práctica que en muchos casos el peligro es más potencial que real (Martens, 1995).

La calidad microbiológica es algo que hay que asegurar en la elaboración de estos productos; para ello se hace imprescindible la correcta aplicación del **Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (Sistema APPCC)**, junto a una combinación adecuada de diferentes **factores inhibitorios** (temperatura, calentamiento y enfriamiento, pH, incorporación de cultivos iniciadores, bacteriocinas y determinados enzimas, entre otros).

II.4.2- PRINCIPALES MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS PROCESADOS SOUS-VIDE:

Desde un punto de vista microbiológico, la tecnología sous-vide se basa en un tratamiento térmico de pasteurización, previo envasado a vacío, capaz de **destruir la flora patógena del producto y la mayor parte de la flora alterante**, la cual será mantenida dentro de unos **límites seguros**, mediante el enfriamiento rápido de los alimentos y posterior almacenamiento a refrigeración hasta su consumo. Según esto, los microorganismos que pueden causar **intoxicaciones o toxiinfecciones** en este tipo de productos serán **aquellos capaces de sobrevivir a la pasteurización y capaces de crecer a bajas temperaturas en condiciones de anaerobiosis**. Por lo tanto, hay dos grandes grupos de microorganismos que deben ser especialmente considerados en relación con este tipo de alimentos: las **bacterias psicrotrofas** y las **bacterias mesófilas** (Betts, 1995).

Los **psicrotrofos** son un grupo de microorganismos capaces de crecer a temperaturas de <0 a 5° C, aunque su óptimo de crecimiento se produce a 25-30° C y su máximo <30° C. En este grupo se encuentran algunos patógenos humanos como **Listeria monocytogenes**, **Yersinia enterocolitica**, **Aeromonas hydrophila** y cepas no proteolíticas de **Clostridium botulinum** tipos B y E (Palumbo, 1986). Estos microorganismos deben ser tenidos en cuenta ya que, si el tratamiento térmico no es suficiente, aquellas bacterias que sobrevivan podrán crecer durante la etapa de enfriamiento y posterior almacenamiento a refrigeración, provocando una disminución en la vida útil del producto y en ocasiones dar lugar a intoxicaciones o toxiinfecciones alimentarias.

Así mismo, las **bacterias mesófilas**, generalmente tienen un límite inferior de crecimiento a temperaturas de 10° C, su óptimo a 30-37° C y su máximo entre 35 y 45 ° C. En este grupo se incluyen importantes patógenos humanos como cepas proteolíticas de ***Clostridium botulinum***, ***Clostridium perfringens***, ***Bacillus cereus***, ***Salmonella spp.*** y ***Staphylococcus aureus***. Estos microorganismos deberían estar bien controlados mediante el rápido enfriamiento de los productos y el mantenimiento a refrigeración durante la etapa de almacenamiento y distribución.

Sin embargo, deben ser un motivo de preocupación, cuando el enfriamiento no se efectúa de forma rápida y/o se producen rupturas en la cadena del frío durante el almacenamiento o distribución. Así por ejemplo, Rose (1986) encontró que en muchas cámaras de refrigeración, establecimientos de venta al por menor del Reino Unido, la temperatura en el ambiente oscilaba entre -5.0 y +13.8° C, mientras que en los productos lo hacía entre -8 y +18.4° C. Datos similares fueron encontrados por Conner *et al.* (1989), quienes observaron que el 20% de los frigoríficos domésticos operaban a temperaturas superiores a 10° C. Willcox *et al.* (1994) vieron que la temperatura de los mostradores/expositores de este tipo de productos en algunos establecimientos en Bélgica mostraban una temperatura media mensual de 12.3° C, con valores puntuales que superaban incluso los 16.0° C.

Otro aspecto a tener en cuenta, es que tras el envasado a vacío de los productos sous-vide todavía se puede encontrar entre un 1 y un 5 % de oxígeno dentro del envase, lo que puede permitir inicialmente el **crecimiento de bacterias anaerobias facultativas**; después, el oxígeno se agota gradualmente dando lugar al **crecimiento de bacterias anaerobias estrictas**. Este mecanismo explica porqué los microorganismos del género *Clostridium*, anaerobios estrictos, solo pueden ser aislados tras un largo periodo de almacenamiento, mientras que por el contrario los *Lactobacillus*, debido a su condición de microaerófilos, crecen inicialmente en este tipo de productos (Martens, 1995).

En la siguiente tabla (tabla 10) se muestra el tiempo que tarda en producir toxinas a bajas temperaturas de almacenamiento diferentes tipos de *Clostridium botulinum*

Tabla 10. Tiempo en que distintos tipos de *C. botulinum* tarda en producir toxinas a bajas temperaturas de almacenamiento.

<i>C. botulinum</i>	Medio de crecimiento	Temperatura de almacenamiento (°C)	Tiempo en producir toxina (días)	Referencias
Tipo E	Pescado fresco envasado a vacío	12	12	Lilly & Kautter, 1990
Tipo E	Marisco	12	14	Soloman <i>et al.</i> , 1997
Tipo E	Filete de vaca	11	6	Smidt <i>et al.</i> , 1961
Tipo E	Marisco	10	8	Cockey & Tatro, 1974
Tipo E	Patatas a vacío	10	9	Notermans <i>et al.</i> , 1981
Tipo E	Pescado (filetes)	10	8	Huss, 1981
Tipo B	Caldo	8	15	Soloman <i>et al.</i> , 1982
Tipo B y E	Salmón (en MAP)	8	12	García <i>et al.</i> , 1987
Tipo E	Carne de vacuno	6	19	Smidt <i>et al.</i> , 1961
Tipo B	Caldo	5.6	27	Eklind, 1967
Tipo B	Caldo	4.4	33	Eklind, 1967
Tipo E	Marisco	4.4	55	Cockey & Tatro, 1974
Tipo E	Caldo	4.0	30	Soloman <i>et al.</i> , 1982
Tipo B	Caldo	3.3	129	Ekmund, 1967
Tipo E	Carne de vacuno	3.3	31	Smidt <i>et al.</i> , 1961

Tomado de Martens, 1995.

II.4.3- TRATAMIENTO TÉRMICO NECESARIO:

Como ya se ha hecho referencia en anteriores ocasiones, existe mucha **controversia** sobre el tratamiento térmico al cual deben ser sometidos los distintos alimentos procesados por la tecnología sous-vide. Algunos autores (por ejemplo Schellekens, 1993) consideran la **calidad sensorial** de estos alimentos como un factor muy importante a tener en cuenta y recomiendan **tratamientos térmicos dirigidos a inactivar las formas vegetativas de los microorganismos psicrotrofos anaerobios, o proponen la presencia de *Enterococcus faecalis* o *Listeria monocytogenes*, como microorganismos indicadores** para evaluar la seguridad microbiológica de estos productos (Smith *et al.*, 1990; OMS, 1994; Simpson *et al.*, 1994; Embarek *et al.*, 1994; Ghazala *et al.*, 1995). Otros autores u Organismos (U.K. Department of Heath-DOH, 1990; Sous-vide Advisory Committee-SVAC, 1991; ACMSF, 1992; Sheard & Church, 1992; Rhodehamel, 1992; Gould, 1999) prestan

especial atención al **crecimiento e inactivación y producción de toxinas por parte de cepas no proteolíticas de *Clostridium botulinum***, lo que supone tratamientos térmicos más severos.

Estas discrepancias, se dan tanto en el sector del **catering**, como en la **industria alimentaria**, aunque cada vez se acepta más la idea de que el tratamiento térmico en estos productos debe ser capaz de inactivar las esporas de *C. botulinum*. Así por ejemplo, Schafheitle (1988), refiriéndose a los trabajos de Tandler (1973) y Leistner (1977), recomendaba que para platos de carne o productos cárnicos que fueran a ser almacenados durante un tiempo máximo de 5 días, la temperatura en la parte más interna del mismo, debía ser de al menos 70° C, y de 80° C durante 10-15 minutos si se almacenaban durante más de 5 días. Sin embargo, si lo que se pretende es reducir de una forma significativa las esporas de *C. botulinum*, estos tratamientos son insuficientes.

En este sentido, la SVAC (*Sous Vide Advisory Committee*) (1991), basándose en los trabajos de Jockey & Tatro (1974) y Crisley *et al.* (1968), recomienda que para productos con una vida útil superior a 8 días, el tratamiento térmico mínimo debe ser de 80° C/26 minutos; 85° C/11 minutos o de 90° C/4,5 minutos, consiguiéndose alcanzar 6D (reducciones decimales) en las esporas de *C. botulinum* tipo E (Alaska) (ajustándose a las recomendaciones de DHO, 1990). Esta cepa, de *C. botulinum* tipo E (Alaska), se muestra como la más resistente, presentando una D_{80} de 4.3 minutos y un valor Z de 13,2. (Church *et al.*, 1993).

Otro aspecto a considerar, es que en las recomendaciones dadas por SVAC (1991), no se tiene en cuenta el efecto letal que tanto el recalentamiento como el mantenimiento a una temperatura determinada tiene sobre este microorganismo; así, si por ejemplo el producto se recalentara a 95° C se contribuiría con 5 reducciones decimales adicionales (Shears & Church, 1992).

En EE.UU., la ACMSF (*Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food*) (1992), recomienda tratamientos térmicos aún más severos que los recomendados por la SVAC (1991), basándose en los trabajos de Brown & Gaze (1990) y Brown *et al.* (1991), quienes observaron que esporas de cepas no proteolíticas de *C. botulinum* tipo B presentaban mayor resistencia al calor que las del tipo E, con un valor D_{90} de 1,10 minutos y un valor Z de 9, recomendando tratamientos de 129 minutos a 80° C, 36 minutos a 85° C o 10 minutos a 90° C, con el fin de asegurar 6 reducciones logarítmicas en el número de este microorganismo.

En Europa, la ECFF (*European Chilled Food Federation*, 1996), propone que para este tipo de productos, y con el fin de asegurar 6 reducciones logarítmicas en el número de esporas viables de *C. botulinum* no-proteolítico, los siguientes tratamientos térmicos: 270,3 minutos a 80° C, 51,8 minutos a 85° C o 10 minutos a 90° C.

En las tablas 11 y 12 se muestran la resistencia de algunos microorganismos y formas esporuladas a los tratamientos térmicos y algunos tratamientos térmicos propuestos para reducir las esporas de especies del Género *Clostridium*.

Tabla 11. Resistencia térmica de bacterias y esporos bacterianos		
Microorganismo	Temperatura (°C)	Valor D (min.)
Mohos y levaduras	70	3
<i>Campylobacter jejuni</i>	55	0.74-1.00
<i>Brucella spp.</i>	65.5	0.1-0.2
<i>Salmonella senftenberg 775W</i>	65.5	0.8-1.0
<i>Salmonella spp.</i>	65.5	0.02-0.25
<i>Staphylococcus aureus</i>	65.5	0.2-2.0
<i>Listeria monocytogenes</i>	66.1	16.7-16.9
<i>Enterococcus faecalis</i>	70	3
Esporos de bact. Aerobias mesófilas		
<i>Bacillus cereus</i>	100	5.0
<i>Bacillus subtilis</i>	100	11.0
<i>Bacillus polymyxa</i>	100	0.1-0.5
Esporos de bact. Anaeróbicas mesófilas		
<i>Clostridium butyricum</i>	100	0.1-0.5
<i>Clostridium perfringens</i>	100	0.3-20.0
<i>Clostridium botulinum</i>		
Tipo A y Tipo B proteolítica	100	50.0
Tipo E y Tipo B y F no proteolítica	80	1
Esporos de bact. Aerobias termófilas		
<i>Bacillus coagulans</i>	120	0.1
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	120	4.0-5.0
Esporos de bact. Anaerobias termófilas		
<i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>	120	3-4
<i>Clostridium nigrificans</i>	120	2-3

Tomado de Martens, 1995.

Tabla 12. Tratamientos térmicos propuestos para reducir las esporas de especies del Género <i>Clostridium</i>.				
Temp. (° C)	Tiempo (min.)	Reducción de esporas (min.)	Log	Referencias
55	3777	<i>C. botulinum</i> tipo E	3	Bucknavage <i>et al.</i> , 1990
80	5	<i>C. botulinum</i> tipo E	6	Bucknavage <i>et al.</i> , 1990
80	20	Clostridios no proteolíticos	5	Notermans <i>et al.</i> , 1990
80	26	<i>C. botulinum</i> tipos B y E	6	SVAC, 1991
82.2	9-200	<i>C. botulinum</i> tipo B	6	Scott & Bernard, 1982
82.2	3-5	<i>C. botulinum</i> tipo E	6	Lynt <i>et al.</i> , 1977
85	11	<i>C. botulinum</i> tipos B y E	6	SVAC, 1991
90	3-7	Clostridios no proteolíticos	6	Gaze & Brown, 1990
90	4.5	<i>C. botulinum</i> tipo E	6	SVAC, 1991
90	10	Clostridios no proteolíticos	6	Koelverse , 1990
90	4	Clostridios no proteolíticos	5	Notermans <i>et al.</i> , 1990
95	2	<i>C. botulinum</i> tipo E	6	SVAC, 1991
100	2	Clostridios no proteolíticos	5	Notermans <i>et al.</i> , 1990

En la tabla 13, se pueden ver los tratamientos térmicos propuestos por la SVAC (1992), ACMSF (1992) y ECFF (1996) para conseguir 6 reducciones decimales en el número de esporas de cepas no proteolíticas de *Clostridium botulinum*.

Tabla 13. Tratamientos térmicos propuestos por distintos organismos para reducir 6D <i>Clostridium botulinum</i> no proteolítico.					
SVAC (1991)		ACMSF (1992)		ECFF (1996)	
Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
-	-	70	1675	-	-
-	-	75	464	-	-
80	26	80	129	80	270,3
85	11	85	36	85	51,8
90	4.5	90	10	90	10,0
-	-	-	-	95	3,2
-	-	-	-	100	1,0

Otro microorganismo que hay que tener en cuenta es *Listeria monocytogenes*, ya que presenta una mayor resistencia al tratamiento térmico que otros patógenos vegetativos (Tabla 14). Gaze *et al.* (1989) estudiaron la resistencia térmica de distintas cepas de este microorganismo en homogeneizados de carne de pollo, carne de vacuno y zanahorias, sometidos a un rango de temperaturas de entre 60 y 70° C. A la vista de los resultados obtenidos en este trabajo se determinó que para conseguir 6 reducciones decimales en el número de *Listeria monocytogenes* era necesario un tratamiento térmico de por lo menos **70° C durante 2 minutos**. Esta recomendación fue tomada como referencia por las Autoridades Sanitarias del Reino Unido para el control sanitario de productos *cook-chill* o *cook-freeze* (DHO, 1989).

Tabla 14. Resistencia térmica de <i>Listeria monocytogenes</i>			
Producto	Temperatura (° C)	Valor D (min.)	Referencia
Picadillo de cerdo	60	1,14 -1,7	Ollinger-Snyder <i>et al.</i> , 1995
Jamón	60	0,97 – 3,48	Carlier <i>et al.</i> , 1996
Cook-chill roast beef	65	0,56 – 0,88	Grant & Patterson, 1995
Carne de vacuno (<i>sous-vide</i>)	64	1,40 -1,7	Hansen & Knochel, 1996
Bacalao (<i>sous-vide</i>)	65	0,27	Embarek & Huss, 1993
Salmón (<i>sous-vide</i>)	65	1,18	Embarek & Huss, 1993
Mejillones	62	1,85	Bremen & Osborne, 1995
Suero fisiológico	60	0,72 – 3,1	Sörquist, 1994

En los últimos años, se han realizado algunos estudios sobre el comportamiento de *Clostridium perfringens* en los alimentos *sous-vide*. Así por ejemplo, Juneja & Marmar (1996) inocularon con este microorganismo platos a base de pavo con distintas concentraciones de sal (0-3 %), que posteriormente fueron procesadas mediante la tecnología *sous-vide*, asegurando una temperatura interna de al menos 71° C. Después, las muestras fueron almacenadas a distintas temperaturas (4°, 15° y 28° C). En las muestras almacenadas a 28° C el crecimiento de *C. perfringens* se hizo evidente tras 10 horas en todas las muestras, independientemente de la concentración de sal. En las incubadas a 15° C, el crecimiento apareció tras 3 días en las muestras sin sal, mientras que éste no se hizo evidente en las que tenían un 3% de sal. Por el contrario, en los platos almacenados a refrigeración (4° C) el crecimiento se vio

inhibido independientemente de la concentración de sal. Sin embargo, cuando las muestras almacenadas a 4° C se incubaron a 28° C, las esporas de este microorganismo empezaron a germinar y crecer hasta llegar a más de 10⁶ ufc/g. Por el contrario, si se incubaban a 15° C durante 24 horas y posteriormente se volvían a almacenar a refrigeración, no fue detectado crecimiento alguno. Estos resultados se contradicen con los obtenidos posteriormente por Chaves-López *et al.*, (1997), quienes investigaron la vida útil de distintos alimentos procesados sous-vide (vegetales, arroz y pavo, fundamentalmente), inoculándolos con una mezcla de 2/100/10 de esporas de *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* y *Clostridium perfringens* (un “challenge test”). Las muestras fueron procesadas a 70° C durante 959, 40 y 16 minutos. Ninguno de los tratamientos consiguió una reducción de *C. perfringens* por debajo de 4 unidades logarítmicas. También se observó que durante el almacenamiento a 4 y 15° C durante los 20 días que duró el experimento el número de esporas de *C. perfringens* fue disminuyendo.

No está claro, por lo tanto, si la disminución en la viabilidad de *C. perfringens* está causada por la competencia con las otras especies del género *Bacillus*, o si ésta se debe a la particular composición de cada alimento. Los *Clostridium* spp. detectados en la flora contaminante de los alimentos sous-vide pudieron proliferar durante el almacenamiento a 15° C en platos de lasaña y filetes asados, pero no en vegetales y rosbif. Estas últimas observaciones confirmarían los resultados del “challenge test” (Hauben, 1999). El trabajo de Chaves-López *et al.*, (1997), también revela importante información sobre la supervivencia de *Bacillus cereus* y *Bacillus licheniformis* en alimentos sous-vide. Ninguno de los tres tratamientos térmicos anteriormente descritos fue capaz de inactivar más de 2 unidades logarítmicas de *Bacillus cereus* en los alimentos estudiados. Sin embargo, fueron las cepas de *B. licheniformis* quienes presentaron más resistencia térmica que *B. cereus*. Además, mientras que los recuentos de *B. cereus* fueron decreciendo a lo largo del almacenamiento (con la excepción del arroz sous-vide almacenado a 15° C, donde se encontraron 10⁶ ufc/g), las cepas de *B. licheniformis* proliferaron en las muestras de arroz y pavo procesadas sous-vide durante el almacenamiento tanto a 4 como a 15° C. Turner *et al.* (1996), encontraron que la población de *Bacillus cereus* en muestras de pollo procesado mediante la tecnología sous-vide se reducía entre 0.5 y 1 unidad logarítmica cuando la temperatura alcanzada en el interior del producto era de 77° C y de 3 unidades cuando se alcanzaban los 94° C. Además observaron una germinación masiva de las esporas desde el primer día de almacenamiento de las muestras a 10° C, si bien su número disminuía a lo largo del mismo.

II.4.4- IMPORTANCIA DE LA CADENA DEL FRÍO:

Desde 1960, muchos han sido los estudios realizados sobre el crecimiento y producción de toxinas por parte de *Clostridium botulinum* (en especial *C. botulinum* tipo E) a temperaturas de refrigeración. En este sentido, García *et al.*, 1987, determinaron que, en filetes de salmón inoculados con 10^4 ufc de *Clostridium botulinum* por gramo, previo envasado al vacío, la toxina fue producida a los 3 o 6 días si el almacenamiento era a 8 y 12° C respectivamente. García & Genigeorgis, 1987, continuando el ensayo anterior, observaron que la producción de toxina se producía a los 15 días si el salmón era almacenado a 4° C. Schmidt *et al.* 1961, encontraron que en filetes de ternera o de pollo, *Clostridium botulinum* no proteolítico tipo E tardaba en producir toxinas 19 días a 6° C y 31 días a 3.3° C.

Datos similares fueron obtenidos por Crandall *et al.*, 1994, quienes encontraron que en platos de carne y salsa a base de carne procesados mediante la tecnología sous-vide las toxinas producidas por cepas no proteolíticas tipo B aparecían a los 31 y 6 días tras el almacenamiento a 4 y 10° C respectivamente. En platos a base de pollo, la toxina fue encontrada tras 28 días a 8° C (Brown & Gaze, 1990), y en platos a base de pavo tras 8 días a 8° C (Genigeorgis *et al.*, 1991). Brown & Gaze (1990) observaron que cepas de *C. botulinum* tipos E y B no fueron capaces de crecer en un homogeneizado de zanahorias almacenadas a 3, 5 y 8° C durante 12 semanas.

Del mismo modo, Petran *et al.* (1995) encontraron que cepas no-proteolíticas de *C. botulinum* tipo E era incapaces de crecer en lechuga y tiras de repollo almacenadas a 4.4 o 12.7° C durante 28 días. Carlin & Peck (1995) estudiaron el crecimiento de cepas *Clostridium botulinum* no-proteolítico tipo E, B y F en distintos vegetales cocidos, solo detectaron crecimiento en 13 de 28 purés de verduras, a pesar de que la temperatura de incubación fue la óptima de crecimiento (30° C). Hasta hace poco, se aceptaba de forma general, que la temperatura por debajo de la cual cepas no proteolíticas de *C. botulinum* no podían crecer era de 3.3° C (Schmidt *et al.*, 1961; Anon., 1992). Sin embargo, un trabajo realizado por Graham *et al.*, (1997) puso en duda esta afirmación, ya que observó el crecimiento de este microorganismo en medios de cultivo a temperaturas de hasta 2.95° C. posteriormente Moorhead & Bell (1999) (2000) observaron que cepas de *Clostridium botulinum* eran capaces de crecer en muestras de carne envasada a vacío y almacenadas a temperaturas de 2° C.

Según todos estos trabajos, las cepas de *Clostridium botulinum* no proteolíticas tienen la capacidad de crecer y hasta de producir toxinas a temperaturas normales de refrigeración en una gran variedad de alimentos refrigerados con el problema añadido de que organolépticamente son productos aceptables (Connor *et al.*, 1989). Por lo cual, se hace indispensable la programación de un tratamiento térmico efectivo capaz de destruir las posibles cepas de este microorganismo para garantizar la seguridad de los productos.

II.4.5- EL USO DE BARRERAS ADICIONALES:

El hecho de que la técnica del procesado sous-vide de los alimentos tenga como principales barreras al crecimiento de microorganismos patógenos, un mínimo tratamiento térmico y unas bajas temperaturas de almacenamiento, hace que el uso de barreras adicionales sea muy deseable, con el fin de cerciorar aún más la seguridad de este tipo de productos. En este sentido, Graham *et al.* (1997) investigaron el efecto combinado del enfriamiento a **bajas temperaturas**, el **pH** y la **actividad de agua** sobre el crecimiento de cepas no proteolíticas de *C. botulinum*. Los resultados de este estudio describen los límites actuales de temperatura, pH y actividad de agua que previenen el crecimiento de los tipos B, E y F de este microorganismo en medios de laboratorio. Por ejemplo se detectó crecimiento y formación de toxinas a temperaturas de 3.0° C, lo que significó una disminución del límite anterior que estaba en 3.3° C. Además fue detectado crecimiento en presencia de **4% de NaCl** tras 11 semanas de almacenamiento a 5° C y también tras 2 semanas a 8° C; y en presencia de un 4.5% de NaCl tras 6 semanas a 8° C. Estos resultados pusieron en seria duda las recomendaciones de la ACMSF (1992), que afirmaba que los alimentos con una vida útil de más de 10 días se conservaban adecuadamente a una temperatura inferior a 10° C y con más de 3.5% de NaCl.

Meng & Genigeorgis (1994) evaluaron el efecto de distintas concentraciones de **lactato sódico** en la producción de toxinas por parte de *C. botulinum* inoculado en distintos alimentos, como el pollo, la carne de vacuno y el salmón procesado sous-vide. Observaron que la adición de esta sustancia retrasaba de forma significativa la toxigenesis en los tres productos. Los autores sugieren que la adicción de al menos un 2.4 % de lactato sódico en carne procesada sous-vide inhibe la producción de toxinas durante un periodo de 3-6 semanas siempre que durante el almacenamiento no se superen los 12° C. En el caso del salmón procesado sous-vide el tiempo de

producción de la toxina era significativamente menor en comparación con los platos a base carne, lo cual sugiere a los autores que en los productos sous-vide a base de pescado hay que poner especial atención a la intensidad del tratamiento térmico así como un control exhaustivo de la temperatura de almacenamiento (Schellekens, 1996).

Simpson *et al.* (1995) evaluaron la capacidad toxigénica de cepas proteolíticas de *C. botulinum* tipos A y B en muestras de espagueti con salsa a base de carne procesadas sous-vide (75° C/ 30 min.) a distintas concentraciones de **sal** y rangos de **pH**. Observaron que en las muestras con un pH de 5.5 y al menos un 1.5% de sal la producción de la toxina se veía inhibida durante todo el periodo de almacenamiento (42 días). Embarek *et al.* (1994) estudiaron el posible efecto protector que la **inoculación de cepas de *Enterococcus faecium*** presumiblemente inocuas (no hemolíticas y sensibles a un amplio rango de antibióticos) pudiera tener sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en filetes de bacalao procesados sous-vide. Observaron que en presencia de 10⁷ ufc/ml de *Enterococcus faecium*, el crecimiento de *Listeria monocytogenes* era claramente inhibido a 3° C y parcialmente inhibido a 5° y 15° C; pero, cuando se inoculaba con 10⁴ ufc/ml no se inhibía el crecimiento de *Listeria monocytogenes* ni a 3° ni a 5° C, y solo ligeramente a los primeros 11 días a 15° C, lo que sugiere que tras esos días *L. monocytogenes* desarrolla una resistencia a las bacteriocinas de *E. faecium*. En cualquier caso, son necesarias más investigaciones sobre el efecto protector de las bacteriocinas en este tipo de productos. Otros autores, como Crandall *et al.* (1994) observaron que la inoculación de cepas de *Pediococcus* spp. como cultivo protector eran incapaces de evitar la toxigenesis de *C. botulinum* también inoculado en muestras de carne de vacuno procesado sous-vide.

También se ha estudiado el efecto combinado de la **irradiación** y el procesado sous-vide, sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* en pechugas de pollo (Shamsuzzaman *et al.* 1992). Se observó que en muestras de pollo inoculadas con *L. monocytogenes* envasadas bajo vacío, irradiadas (2.5 kGy) y pasteurizadas (65.5° C), no se encontraron patógenos tras 42 días de almacenamiento a 2° C, lo que supone más de 5.51 reducciones logarítmicas en el número de ufc de este microorganismo. Por el contrario en las muestras que solo fueron procesadas sous-vide (sin irradiación) solo se alcanzó una reducción de 0.35. Posteriormente, se llevó a cabo un segundo experimento, en donde se aumentó el tratamiento térmico a 71.1° C, la irradiación a 3 kGy y el almacenamiento a 8° C, observándose al menos 6D en el número de ufc de *L.*

monocytogenes, reduciéndose los recuentos de la microbiota viable total por debajo del número asociado a la esporulación (10^5 ufc) durante al menos 8 semanas a 8° C. (Shamsuzzaman *et al.* 1995). Además, en ambos trabajos se estudiaron los cambios nutricionales y organolépticos de los platos, no observándose grandes diferencias como consecuencia de la irradiación; lo que hace que, este proceso deba ser tenido muy en cuenta en posteriores investigaciones.

Otra barrera adicional, particularmente interesante, es el **uso de lisozimas** en los alimentos mínimamente procesados. Aunque el efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las esporas ya ha sido evaluado favorablemente en los productos lácteos fermentados (Board, 1995), este efecto no parece producirse en los alimentos tratados térmicamente. Según algunos autores (Peck *et al.*, 1992), no estaría recomendado la adición de lisozimas a alimentos que vayan a ser tratados térmicamente, ya que al parecer, las lisozimas podrían favorecer la recuperación de aquellas esporas que hubieran sido dañadas por el tratamiento térmico y favorecer así su germinación, hecho especialmente comprobado en cepas no proteolíticas de *C. botulinum*. Teniendo en cuenta esto, los tratamientos térmicos recomendados para conseguir 6D de *C. botulinum* deberían ser revisados en aquellos alimentos a los cuales se les añaden lisozimas.

Un efecto similar ha sido descrito en los alimentos a los cuales se les añade la **enzima “papaína”**, la cual, parece incrementar la resistencia de las cepas no proteolíticas de *C. botulinum* en platos con carne, emulsiones de huevo y en frutas y hortalizas (Lund & Peck, 1994; Stinger & Peck, 1996).

II.4.6- APLICACIÓN DEL SISTEMA APPCC A LOS ALIMENTOS PROCESADOS SOUS-VIDE:

El sistema APPCC (*Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos*), ofrece un planteamiento racional y estructurado del procedimiento que se debe seguir para adoptar las medidas preventivas que eviten o reduzcan los riesgos (ya sean biológicos, físicos o químicos) asociados al consumo de alimentos procesados sous-vide.

Este sistema se basa en siete principios básicos (NACNCF, 1992):

- 1º. Identificación de los peligros, análisis de riesgos y determinación de las medidas necesarias para su control.
- 2º. Identificación de los puntos críticos.
- 3º. Establecimiento de límites críticos para cada punto crítico.
- 4º. Establecimiento de procedimientos de vigilancia y control.
- 5º. Establecimiento de las medidas correctoras que se deberán tomar en cada caso.
- 6º. Establecimiento de procedimientos de comprobación o verificación del sistema.
- 7º. Registro y archivo de datos.

En la **Unión Europea**, a finales de los 80, cada uno de los estados miembros presentaba su propia estructura legal en lo relativo a la vigilancia y garantía de la seguridad alimentaria. Por lo tanto, la aceptación del sistema APPCC dentro de la Unión Europea significó un reto que tuvo que superar la complejidad y fragmentación legislativa, que en esta materia, existía entre los estados miembros. Debido a esto, la Comisión Europea decidió iniciar una progresiva implantación del sistema APPCC dentro de la UE, de ello, se encargó un grupo perteneciente al programa FLAIR (*Food Linked Agro-Industrial Research Programme*), quienes crearon una nomenclatura al respecto, una base de datos de más de 250 documentos y guías relacionadas con el sistema APPCC. Con toda esta base, se desarrollaron una serie de Directivas para su incorporación dentro del sistema legal de los estados miembros. Estas tres Directivas (llamadas directivas verticales) fueron de aplicación específica a determinados productos – Directiva 91/493/CEE para productos de la pesca, Directiva 92/5 /CEE para carne y productos cárnicos y Directiva 92/46/CEE para leche y productos lácteos -. Estas tres Directivas exigían a los elaboradores de estos productos: a) Identificar los puntos críticos de cada etapa del diagrama de flujo; b) poner a punto los métodos para la monitorización y comprobación de cada punto crítico identificado; c) Recoger muestras para su análisis por una autoridad competente para asegurar que los métodos de limpieza y desinfección están de acuerdo con lo establecido en las Directivas 91/493/CEE, 92/5/CEE o 92/467/CEE y d) Mantener un registro escrito de estos procedimientos y datos posteriores, para su comprobación por las autoridades competentes. En 1993 se aprobó una cuarta directiva, (ésta horizontal) - Dir. 93/43/CEE, transpuesta a la legislación española en el R.D. 2207/1995 - relativa a la higiene de todos los productos alimenticios, y que fue considerada como la Norma

Marco para la estandarización de la legislación en materia de higiene de alimentos para todos los países miembros de la UE.

Los peligros y puntos de control crítico de los alimentos procesados sous-vide varían según la composición/formulación de cada producto y las operaciones propias de fabricación. En general, las etapas críticas del proceso de elaboración de un alimento sous-vide en las cuales existe un mayor riesgo desde el punto de vista microbiológico son: **la etapa de recepción y preparación de las materias primas, el envasado a vacío, la pasteurización y posterior enfriamiento, así como su almacenamiento a refrigeración.** En estos puntos es necesario identificar adecuadamente los distintos peligros, así como establecer las medidas de control necesarias y las pautas correctoras en el caso de que fueran necesarias utilizarlas (Betts, 1992).

II.4.7- CRITERIOS SOBRE LA SEGURIDAD DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS SOUS-VIDE:

En los Estados Unidos, al contrario que en Europa, la penetración comercial de los productos procesados mediante la tecnología sous-vide ha sido muy limitada. El principal motivo, es que para las autoridades sanitarias estadounidenses existen serias dudas sobre la seguridad de estos productos, ya que consideran que el bajo tratamiento térmico al cual son sometidos y el almacenamiento a refrigeración no son barreras suficientes que justifiquen la alta vida útil que se les aplica a estos productos en algunos países europeos. Debido a esto, en los **Estados Unidos**, la industria alimentaria y los establecimientos de venta al por menor están obligados a cumplir una serie de guías/recomendaciones sobre la seguridad microbiológica a la hora de producir, distribuir y/o vender los llamados alimentos refrigerados “listos para comer” (**ready-to-eat refrigerated foods**) entre los que se incluyen los alimentos procesados mediante la tecnología sous-vide.

Así por ejemplo, la **N.A.C.M.C.F.** (*National Committee on Microbiological Criteria for Foods*, 1990) presenta un documento donde se incluye información sobre las siguientes áreas: 1) consideraciones microbiológicas y epidemiológicas; 2) procesamiento y envasado; 3) recomendaciones. Esta organización considera imprescindible la correcta implantación y seguimiento del sistema APPCC con el fin de garantizar la seguridad de estos alimentos, debiendo ser los recursos destinados a tal

efecto prioritarios sobre la producción y el marketing. También especifica que los **tratamientos térmicos a los cuales deben ser sometidos los distintos productos deben asegurar 4D en el caso de *Listeria monocytogenes*, debiéndose evaluar paralelamente el riesgo de la presencia de toxinas producidas por cepas de *Clostridium botulinum* a lo largo de las distintas etapas de elaboración, almacenamiento y distribución de cada producto, hasta que éste llegue al consumidor.**

En este mismo sentido, Rhodehamel (1992), desde la **FDA** (*Food and Drug Administration*) de EE.UU. hace referencia al riesgo potencial que para el consumidor podrían tener los productos sous-vide, si no se siguen las siguientes pautas: 1) Los productos sous-vide deben ser elaborados y distribuidos siguiendo las directrices del sistema APPCC; 2) El procesado debe seguir guías sanitarias de Buenas Prácticas de Fabricación (GMP, *Good Manufacturing Practices*); 3) Mientras la refrigeración sea la barrera principal, deben desarrollarse barreras adicionales, las cuales serán validadas mediante estudios de inoculación de envases o ensayos de desafío “*challenge test*” para asegurar la calidad sanitaria de estos productos; 4) Debido a la importancia de la temperatura y tiempo de procesado deberán existir indicadores tiempo/temperatura en la propia línea de procesado, para conocer en todo momento que el sistema está controlado; además recomienda, que se incluya en el propio envase indicadores visuales que puedan avisar al consumidor si ha habido fallos, tanto el tiempo y/o temperatura de procesado, como rupturas en la cadena de frío durante el almacenamiento y distribución de los productos.

Por otro lado, la **Asociación de las Industrias Elaboradoras de Alimentos de los Estados Unidos**, (“*National Food Processors Association*” N.F.P.A., 1988) aconseja que en platos almacenados a refrigeración con carne de vacuno el **tratamiento térmico debe ser capaz de producir 5D de *Escherichia coli* O157:H7 y en platos a base de pollo 7D de *Salmonella*.**

En **Canadá**, las autoridades sanitarias editaron en 1992 una guía sobre los alimentos preparados pre-ensados, con una larga vida útil, titulada “***Guidelines for the production, distribution, retailing and use of refrigerated prepackaged foods with extended shelf life***” (Health and Welfare Canada, 1992), donde se recomendaba la adopción de los principios y prácticas del sistema APPCC, poniendo especial énfasis en los parámetros de procesado, cambios de formulación y en la realización de ensayos microbiológicos para determinar la vida útil de cada producto evaluando tanto las formas vegetativas como las esporas de microorganismos patógenos. También se

recomienda en esta guía que se incluya en el envase de forma clara la vida útil del producto junto a la fecha de consumo preferente y una advertencia para los consumidores de los riesgos potenciales asociados a la ruptura de la cadena del frío.

Para el sector de la venta al pormenor las recomendaciones se recogieron de forma más específica en el documento titulado “**Canadian Code of Recommended Handling Practices for Chilled Food**” (F.I.O.C. - Food Institute of Canada -, 1990), donde se incluyen los siguientes puntos: 1) la preparación de las materias primas debe llevarse a cabo en un área donde se mantenga una temperatura inferior a 10° C. 2) Todos los productos deberán ser rápidamente enfriados a temperaturas de entre -1 y 4° C. 3) Las cámaras de refrigeración, vehículos de transporte y almacenes deben estar monitorizados y su temperatura debe mantenerse entre -1 y 4° C. 4) La leyenda “mantener a refrigeración entre -1 y 4° C” deberá ser claramente visible en el envase y etiqueta del producto, a parte de la fecha de consumo preferente.

Existe además, una guía muy similar, también basada en los principios del APPCC, denominada “**The Canadian Code of recommended Manufacturing Practices for Pasteurized/Modified Atmosphere Packaged/refrigerated Foods**”, (Agriculture Canada, 1991), donde se dan recomendaciones muy similares a las dadas por el documento del F.I.O.C., si bien se proponen los mismos criterios microbiológicos que los aplicados por la legislación francesa y que consisten en: ausencia de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo y menos de 102 ufc por gramo de alimento, inmediatamente después del procesado y enfriado del mismo.

Francia fue el primer país europeo en tener unos criterios concretos en materia de seguridad alimentaria de los productos procesados mediante la tecnología sous-vide debido fundamentalmente al éxito comercial de estos productos. Pero, al contrario que ocurre en otros países, la legislación francesa para los productos sous-vide está basada en la destrucción térmica de las cepas de *Enterococcus faecalis*, tomando un valor D a 70° C de 2.95 minutos y un valor Z de 10° C. (Ministère de l’Agriculture, République Française, 1974, 1988). Esto supone un tratamiento de **100 minutos a 70° C (equivalente a 1 minuto a 90° C) para productos con 21 días de vida útil y a 1000 minutos a 70° C (equivalente a 10 minutos a 100° C) para productos con 42 días de vida útil**. Los productores franceses están obligados a garantizar la estabilidad microbiológica de sus productos, para ello deben realizar sobre ellos pruebas microbiológicas a dos temperaturas diferentes, por ejemplo: 14 días a 4° C

seguido de 7 días a 8° C, para los productos con una vida útil de 21 días, y 28 días a 3° C, seguido de 14 días a 8° C para los de 42 días de vida útil.

En el **Reino Unido**, el Departamento de Salud publicó en 1989 la guía titulada “***Chilled and Frozen Guidelines on Cook-Chill and Cook-Freeze Systems***” (DHO, 1989) donde se hacen una serie de recomendaciones para los productos con una vida útil no superior a 5 días. Según este documento, **la temperatura en la zona de elaboración de estos alimentos debe ser inferior a 10° C, además establece un tratamiento térmico mínimo de 70° C durante 2 minutos y una temperatura de almacenamiento que oscila entre 0 y 3° C.** También especifica unos criterios microbiológicos en el alimento inmediatamente después del recalentamiento, consistentes en: aerobios Mesófilos <10⁵ ufc/g, *E. coli* <10 ufc/g, *S. aureus* coagulasa positivo y *C. perfringens* <10² ufc/g, y ausencia en 25 g de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp.

Posteriormente, se publicó en 1992 por parte de ***Campden Food and Drink Research Association*** (Betts, 1992) una guía con las buenas prácticas de fabricación y manejo de los alimentos procesados mediante la tecnología sous-vide. La característica principal de este documento es que agrupa a los distintos alimentos según su potencial riesgo microbiológico. Así por ejemplo, los productos sous-vide estarían incluidos en la categoría I, donde están los alimentos potencialmente más peligrosos, como: fórmulas infantiles, alimentos crudos de origen animal, productos que contengan huevo, pescado o derivados lácteos, etc., los cuales deben conservarse a temperaturas de entre 5 – 8° C, requiriéndose durante su elaboración unas excelentes prácticas higiénicas, así como la implantación de un adecuado sistema de APPCC para garantizar su seguridad. En el documento se hace referencia a que debido a la poca intensidad del tratamiento térmico y a la drástica reducción de los niveles de O₂ en los alimentos sous-vide el microorganismo más peligroso son las cepas psicrófilas de *C. botulinum* y no solo las bacterias vegetativas como *Listeria monocytogenes*. En este mismo sentido, ya el **Richmond Committee** en 1990 en su documento “***The microbiological safety of foods: Part I***” recomendaba 6D para eliminar las cepas psicrófilas de *C. botulinum*, en los productos sous-vide que tuvieran una vida útil de más de 10 días, lo que supone un tratamiento térmico de 10 minutos a 90° C (Gaze & Brown, 1990).

En **Holanda**, el microorganismo de referencia es *Clostridium botulinum* (no proteolítico) tipo B, recomendándose un tratamiento térmico de **10 minutos a 90° C**

para aquellos productos con una vida útil máxima de 42 días, lo cuales además deben almacenarse a una temperatura de entre 0 y 3° C (TNO Voeding, 1994).

En **otros países europeos** no se hace referencia de forma concreta a un tratamiento térmico específico, lo que si se especifica es la temperatura de almacenamiento de estos productos, por ejemplo: España entre 0 y 3° C, Bélgica no más de 7° C, Dinamarca 5° C, Finlandia 6° C para productos a base de carne y 8° C para el resto, en Italia, los productos a base de carne entre -1 y 7° C y a base de pescado entre 0 y 4° C; en Suecia por debajo de 8° C, en Noruega entre -1 y 4 ° C, etc. (FAIR CT96-1020, Inventory report).

En **España**, no existe una norma microbiológica específica de los productos sous-vide, la más cercana, es la norma microbiológica de las comidas preparadas sometidas a un tratamiento térmico distinto del de esterilización, donde se exige en el producto final ausencia de *E. coli*, *Salmonella spp.* y *L. monocytogenes* en 25 gramos de producto, aerobios mesófilos: $<10^4$ ufc/g y Enterobacterias lactosa positivas: 10 ufc/g. (R.D. 3484/2000, B.O.E. núm. 11 del 12/01/01).

II.5.- CALIDAD NUTRICIONAL LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE

La mayoría de los trabajos que abordan la calidad nutricional de los productos sous-vide lo hacen, o bien evaluando las modificaciones que se producen en los distintos macro y micronutrientes a lo largo del procesado, o mediante la comparación de estos alimentos con los procesados mediante otras tecnologías (Cook-chill, Cook-freeze, esterilización o pasteurización) o con los cocinados de modo tradicional (Greed, 1995).

II.5.1- CALIDAD NUTRICIONAL DE ALGUNOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE:

a) Platos a base de carne.

Watier (1988) en un principio y posteriormente Watier & Belliot (1991) estudiaron la capacidad de **retención de vitaminas del grupo B y vitamina A en distintos platos a base de carne asada (cerdo, ternera y cordero) procesada mediante la tecnología sous-vide**. Los platos fueron recalentados después de ser almacenados a refrigeración durante 21 días. Los autores, compararon sus resultados con los existentes en la bibliografía para esos mismos platos cocinados de modo tradicional. **Observaron, que en los platos recién sometidos a un tratamiento sous-vide, estas vitaminas se mostraron más estables frente a la oxidación que en los platos cocinados de modo tradicional; si bien, esta ventaja se perdía a lo largo del almacenamiento y durante el posterior recalentamiento.**

Más adelante, Metayer (1991) evaluó la **retención de proteínas, lípidos y vitaminas en varios platos procesados sous-vide y los comparó con el cocinado tradicional**. Encontró, que la **relación proteína/lípido** era mayor en las carnes cocinadas de forma tradicional que en las cocinadas al vacío debido fundamentalmente a la mayor pérdida de humedad producida durante el cocinado tradicional. También observó que los niveles de algunas **vitaminas hidrosolubles (vitamina B1, B2 y niacina)** en los platos de carne procesados sous-vide, almacenados a 3° C y finalmente recalentados, fueron similares a los encontrados en la bibliografía para estos mismos platos cocinados de modo tradicional. Por el contrario, el contenido en **vitamina C** se perdió a lo largo del almacenamiento y tras el recalentamiento.

Samzuzzaman *et al.*, (1992), estudiaron el efecto, que el uso de la **irradiación** sobre los productos tratados sous-vide, tenía sobre el contenido en tiamina en pechugas de pollo. Encontraron, que el tratamiento sous-vide producía una retención del 98 % de la cantidad inicial de **tiamina** en el alimento crudo (1.07 µg/g), sin embargo, en los productos sous-vide irradiados (2.9 kGy), este valor disminuía al 86%. También evaluaron en ambos casos, su comportamiento tras el almacenamiento a 2° C durante 27 días, observándose unos valores del 87 y 80% respectivamente. En un trabajo posterior, Samzuzzaman *et al.*, (1995), donde el almacenamiento de los productos sous-vide irradiados se realizó a 8° C, se observaron pérdidas entre el 23 y

46% en el contenido en tiamina en los productos sous-vide irradiados en función de la intensidad del tratamiento térmico utilizado.

Eriksen & Lassen, (1996) estudiaron el contenido en **vitamina B1, B2 y C** en pechugas de pavo procesadas por distintos métodos (sous-vide, cook-chill, cook-serve, atmósferas modificadas -MAP-) en todas las etapas de elaboración (desde el producto crudo hasta su consumo). Entre los resultados obtenidos cabe destacar, que fueron los tratamientos sous-vide y atmósferas modificadas quienes presentaron una mejor retención de estas vitaminas tras 14 y 21 días de almacenamiento, en comparación con los métodos *cook-chill* y *cook-serve*.

Ghazala *et al.*, (1996), estudiaron el comportamiento de los **ácidos grasos** en platos a base de carne de foca procesados sous-vide, según una receta tradicional inglesa "*shepherd's pie*", a distintos tratamientos de pasteurización (65, 70, 75 y 80° C a 105, 60, 43, 35 o 30 minutos respectivamente). Observaron que los tratamientos más suaves retuvieron significativamente más ácidos grasos que los tratamientos más severos.

Una forma de determinar la oxidación lipídica es por la presencia de los llamados "**olores/sabores a recalentado**" (**Warmed Over Flavour - WOF-**) quienes a su vez tienen una alta correlación con la concentración de productos de reacción del **ácido tiobarbitúrico** (*Thiobarbituric acid reactive sustentes – TBARS-*). Basándose en esto, Smith & Álvarez, (1988) estudiaron el efecto del procesado sous-vide sobre la **oxidación lipídica** en platos de pechuga de pavo. Estos autores observaron un aumento en la concentración de TBARS (de 0.35 a 10 mg/kg) tras 80 días de almacenamiento a refrigeración de pechugas de pavo tratadas sous-vide. En este sentido, Hansen *et al.*, 1995, llevaron a cabo un estudio similar en platos de rosbif procesado sous-vide y posteriormente almacenado durante 34 días a una temperatura de 2° C. Encontraron muy baja concentración de TBARS tras el procesado (<10 µmoles/kg), valor que no aumentó a lo largo del almacenamiento; sin embargo, constataron que en el momento en que se abre el envase y el producto es expuesto al oxígeno, los procesos oxidativos tienen lugar de forma muy rápida. Estos resultados difieren algo de los obtenidos por Smith & Álvarez, (1988), si bien hay que tener en cuenta que el periodo de almacenamiento era mucho más largo (80 días vs 34 días) y además, la carne de pavo es mucho más susceptible a la oxidación lipídica debido a su mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados y a su bajo contenido en vitamina E.

Juncher & Bertelsen, 1996 observaron que la **concentración de TBARS** aumentaba rápidamente durante el almacenamiento a 5° C de rosbif procesado sous-vide, y que este aumento era significativamente mayor, que en el caso del rosbif cocinado por el método tradicional. Según los autores, esta diferencia se debe principalmente a que durante el cocinado tradicional se procede al marcado del producto, como paso previo al tratamiento térmico, mientras que el procesado sous-vide no se realiza. El marcado es el resultado de la **reacción de Maillard** en la superficie de la carne, y está descrito en la bibliografía, que durante esta reacción se producen productos con propiedades antioxidantes, que pueden prevenir la posterior formación de WOF (Sato *et al.*, 1973; Einerson & Reineccius, 1977). A la vista de estos resultados, **parece recomendable, siempre que sea posible, el marcado de los alimentos como paso previo al envasado a vacío en los alimentos procesados sous-vide con el fin de disminuir y/o reducir los procesos oxidativos, garantizando así unas mejores propiedades organolépticas en este tipo de productos.**

b) Platos a base de pescado.

Existen muy pocos trabajos publicados sobre la calidad nutricional de los platos a base de pescado procesados mediante la tecnología sous-vide. Solo cabe destacar el trabajo realizado por Watier (1988), posteriormente ampliado por Watier & Belliot (1991), donde se evaluó el **porcentaje de retención de las vitaminas del grupo B y de vitamina A en salmón y bacalao sometidos a un tratamiento sous-vide y almacenamiento a refrigeración durante 21 días y posterior recalentamiento.** Realizaron a su vez comparaciones con los porcentajes de retención existentes en bibliografía de estas vitaminas en platos preparados de forma tradicional. Como conclusión obtuvieron que **el tratamiento sous-vide retiene mejor el contenido vitamínico de estos productos, pero esta ventaja se elimina durante el almacenamiento a refrigeración y posterior recalentamiento.** Es importante señalar que en estos trabajos no se comparó directamente el mismo producto cocinado por ambos métodos, sino que como ya hemos dicho la comparación se realizó con valores provenientes de bibliografía.

c) Platos a base de vegetales.

Smith & Fullum-Bouchar (1990) determinaron por HPLC el contenido en **vitamina C** en platos de espinacas procesadas por distintos métodos: *cook-chill* y sous-vide (almacenadas a 4°C) y *cook-freeze* (almacenadas a -14° C), durante 6 días.

Observaron que en los tres casos había una **disminución en el contenido en vitamina C como consecuencia del procesado**, si bien, en el caso del procesado *cook-chill* la **disminución era progresiva a lo largo del almacenamiento**, mientras que en el procesado *sous-vide* y *cook-freeze*, esta **disminución no aparecía hasta la segunda mitad del almacenamiento**.

Petersen (1993) estudió el efecto sobre la retención del **ácido ascórbico, vitamina B6 y ácido fólico**, del procesado *sous-vide*, el cocinado al vapor y el cocinado tradicional (hervido), en platos a base de brócoli. **Encontraron una mejor retención de estas vitaminas en el brócoli procesado sous-vide en comparación con los otros dos tratamientos**. Además, dentro del procesado *sous-vide*, los resultados mostraron que la **retención del ácido ascórbico era mayor cuanto más cantidad de vacío se había producido**, hecho éste, que parece no afectar al nivel de retención de la vitamina B6 y del ácido fólico.

Resultados similares fueron obtenidos por Goto *et al.* (1995), quienes observaron una mayor retención del **ácido ascórbico** en distintos platos procesados *sous-vide* (judías verdes, brócoli, calabaza y patatas) en comparación con el hervido tradicional.

Walker *et al.* (1996), estudiaron las pérdidas en **vitamina C** en coles de Bruselas procesadas por dos métodos distintos: *cook-serve* y *sous-vide*. **Observaron menores pérdidas en las coles tratadas sous-vide, tanto tras el procesado como a lo largo del almacenamiento, en comparación con las tratadas cook-serve**.

Eriksen & Lassen, (1996) también observaron una mejor retención de las **vitaminas C, B1 y B2** en patatas procesadas mediante la tecnología *sous-vide* o atmósferas modificadas -MAP-, en comparación con otros métodos más tradicionales como *cook-chill* y *cook-serve*.

En otros vegetales, como las zanahorias, Werlein (1996) no observó diferencias en el contenido en **α y β -carotenos** al comparar el procesado *sous-vide* con el hervido tradicional. **Solo tras 7 días de almacenamiento se observaron descensos en su contenido en las zanahorias sous-vide, mientras que en las hervidas, su contenido se mantuvo constante**. Sin embargo si se encontraron diferencias en cuanto al contenido en **glucosa, fructosa y sucrosa**, como consecuencia del procesado. Así, mientras en las zanahorias hervidas se observaron grandes pérdidas (entre el 50 y el 67%), en las procesadas *sous-vide*, su contenido se mantuvo constante incluso a lo largo del almacenamiento.

II.6.- CALIDAD SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE

La evaluación sensorial de los alimentos es una función primaria del hombre. Éste, desde su infancia, y de forma más o menos consciente, acepta o rechaza los alimentos de acuerdo con la sensación que experimenta al observarlos y/o al ingerirlos. Este aspecto de la calidad de los alimentos, el que incide directamente en la reacción del consumidor, es lo que se denomina “**calidad sensorial**” (Costell et al, 1975).

La importancia tecnológica y económica es evidente, ya que en última instancia, puede condicionar el éxito o el fracaso de los avances e innovaciones que se producen en la tecnología de los alimentos. Así, por ejemplo, un alimento puede presentar unas características nutricionales óptimas, ser seguro microbiológicamente y ser barato de producir; pero si es rechazado por los consumidores potenciales, porque a éstos no les gusta su sabor, olor, textura o color, hace inútil todo el esfuerzo anterior.

En este sentido, y como ya Georges Pralus (1980) puso de manifiesto, uno de los principales motivos del desarrollo y expansión de la tecnología sous-vide, es la alta calidad sensorial que los alimentos así preparados atesoran en comparación con otras tecnologías.

II.6.1- TÉCNICAS PARA EVALUAR LA CALIDAD SENSORIAL DE UN ALIMENTO:

En los últimos años el análisis sensorial de los alimentos está tomando fuerza debido a que los tradicionales métodos de análisis físico-químico se han visto incapaces de evaluar suficientemente todos los parámetros de calidad que actualmente se exigen, en parte por el aumento del nivel de calidad requerido por los consumidores. **El análisis sensorial nos permite pues, medir, analizar e interpretar, de una forma científica, las reacciones humanas a las características de los alimentos, así como la manera en que éstas son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído.**

Existen dos tipos básicos de pruebas, las **pruebas diferenciales** y las **pruebas descriptivas**. En las **pruebas diferenciales** (también conocidas como de comparación o de discriminación), todo lo que se quiere saber es si los productos o alimentos son diferentes o no. Suelen ser pruebas rápidas y baratas. Estas pruebas se suelen usar para la igualación de productos, verificación de un producto tras el cambio en las materias primas, aseguramiento de la calidad o para la verificación de la estabilidad del alimento a lo largo del almacenamiento.

El otro tipo de pruebas, las **descriptivas**, lo que tratan es de describir, y en algunos casos cuantificar, los atributos perceptibles que inciden en la calidad global de un alimento determinado, el resultado es un perfil sensorial. Conceptualmente, los perfiles se basan en la idea de que la sensación que un alimento provoca en el consumidor está definida por una serie de atributos identificables y que las diferencias sensoriales entre un grupo de muestras se deben a la menor o mayor intensidad de dichos atributos en cada una de ellas.

En la tabla 15, se pueden apreciar los métodos de análisis sensorial más frecuentemente utilizados (Creed, 1995).

TABLA 15. MÉTODOS DE ANÁLISIS SENSORIAL	
PRUEBAS DIFERENCIALES	PRUEBAS DESCRIPTIVAS
• Prueba Triangular	• Perfiles convencionales
• Prueba Dúo-Trío	• Perfiles de libre elección
• Comparación Apareada	• Perfiles diferenciales
• Prueba de Ordenamiento	• Medidas de Tiempo/intensidad
• Prueba de Agrupación	

Las pruebas diferenciales suelen ser muy apropiadas para determinar si un plato cocinado mediante la tecnología *sous-vide* es diferente o no de ese mismo plato cocinado mediante un método tradicional, o mediante el uso de otras tecnologías relacionadas, como *cook-chill* o *hot-fill*. Así por ejemplo, estas pruebas fueron utilizadas por Church & Parsons (2000), para ver si existían diferencias en la calidad sensorial entre platos a base de pollo y patatas preparados mediante la tecnología *sous-vide* y platos preparados mediante la tecnología *cook-chill*. Sin

embargo, estas pruebas no nos dirían en ningún caso en qué atributos se diferencian y cuál es su magnitud en una escala absoluta.

Para determinar este segundo aspecto es necesario recurrir a las pruebas descriptivas (perfiles descriptivos cuantitativos). Estos perfiles se han utilizado con varios alimentos procesados sous-vide, como por ejemplo: vino (Vedel *et al.*, 1972), sidra (Williams, 1975), cerveza (Mielgaard *et al.*, 1979), zumo de manzana (Dürr, 1979), whisky (Shortreed *et al.*, 1979), “ballotine” de pollo con arroz y patatas (Church, 1990), fresas (Shamaila *et al.*, 1992), brócoli (Pertersen, 1993), salmón ahumado en lonchas (Truelstrup *et al.*, 1995), lentejas (Varoquaux *et al.*, 1995), carne de vaca asada (Hansen *et al.*, 1995), salsa boloñesa (Armstrong, 1996), pechugas de pollo (Turner *et al.*, 1996), salsa boloñesa (Armstrong & McIlveen, 2000), etc.

II.6.2- CALIDAD SENSORIAL DE LOS ALIMENTOS PROCESADOS MEDIANTE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE:

Resulta complicado establecer conclusiones generales en relación con la calidad sensorial de los productos procesados mediante la tecnología sous-vide, por las siguientes razones (Creed, 1995):

- 1º. Los experimentos han sido diseñados para **evaluar los cambios en determinados atributos sensoriales causados por las distintas temperaturas de almacenamiento, distintos tiempos de cocinado, o para hacer comparaciones entre el procesado sous-vide y el cocinado tradicional del mismo alimento u otros sistemas de procesado.**
- 2º. Algunos experimentos han aplicado **tratamientos térmicos demasiado severos**, que no se ajustan de un modo adecuado a los parámetros establecidos en la definición del procesado sous-vide de los alimentos.
- 3º. **Las escalas, atributos, procedimientos y tests estadísticos utilizados en los trabajos no son los mismos**, lo cual, hace que sea en ocasiones bastante complicado la comparación de los resultados.
- 4º. Algunos experimentos tienen **problemas de reproducibilidad a la hora de hacer comparaciones**. Por ejemplo, al repetir la producción de un plato con muchos ingredientes recién preparado para compararlo con uno almacenado.
- 5º. Los experimentos muchas veces se realizan sobre **platos muy específicos**.

Según todos estos puntos, y teniendo en cuenta, que cada vez son más los platos que se procesan según esta tecnología, y que existen multitud de factores que afectan directa o indirectamente a la calidad sensorial del producto final (calidad de las materias primas, temperatura y tiempo de cocción, velocidad de enfriamiento, temperatura y tiempo de almacenamiento, entre otros), para la obtención de conclusiones generales sobre cómo este sistemas de procesado afecta a la calidad sensorial de los alimentos habría que realizar miles de experimentos.

A pesar de lo dicho anteriormente, se pueden sacar las siguientes **conclusiones** generales:

- **Se apreciaron pocas diferencias significativas en cuanto a la textura, aroma, sabor y apariencia entre los alimentos sous-vide refrigerados y congelados.**
- **Un tratamiento térmico excesivo aumenta la dureza de la carne procesada sous-vide.**
- **Los sabores se ven potenciados por este tratamiento, en comparación con el procesado tradicional, si bien, éstos se van perdiendo a lo largo del almacenamiento.**
- **En productos vegetales son necesarias altas temperaturas de procesado para asegurar una textura aceptable por los consumidores.**
- **La vida útil se ve incrementada por el tratamiento sous-vide.**

A continuación se hace un resumen de los trabajos existentes relativos a la calidad sensorial de distintos platos procesados mediante esta tecnología:

a) Platos a base de carne de vacuno o porcino:

Choain & Noel (1989) compararon el cocinado tradicional y el procesado sous-vide de platos como la **carne de vacuno asada** (rosbif) mediante la comparación de los perfiles descriptivos de ambos platos. **Encontraron que la carne procesada sous-vide era más esponjosa, presentaba un mejor color al corte y una textura más óptima que la cocinada de modo tradicional.**

Posteriormente, Leford *et al.* (1993), estudiaron entre otros aspectos, la calidad sensorial y las pérdidas por el procesado de distintos sistemas de procesado de **varios productos cárnicos del cerdo** (carne asada, carne procesada sous-vide, jamón cocido, bacón, etc.) en 4 grupos genéticos distintos. Entre los resultados

encontrados, cabe destacar, que el procesado sous-vide presentaba mejores resultados en el color, aroma y ternura en el cerdo blanco que en otras variedades genéticas. Además en comparación con la carne de cerdo asada, las pérdidas se reducían a la mitad en la procesada sous-vide.

Hansen *et al.* (1995), estudió la calidad sensorial de la **carne de vacuno asada** mediante la tecnología sous-vide a dos temperaturas (59 y 62° C), dos tiempos de almacenamiento (2 y 17 días) y 2 temperaturas de almacenamiento distintas (2 y 10° C). De los resultados obtenidos se puede destacar que **las muestras procesadas a 62° C presentaban una textura mejor que las procesadas a 59° C. En cuanto al sabor y aroma, solo encontraron cambios minoritarios a lo largo del almacenamiento.**

Bertelsen & Juncher (1996) se centraron en la **estabilidad oxidativa y calidad sensorial** de productos a base de carne procesados mediante la tecnología sous-vide y lo compararon con el procesado tradicional. Según estos autores, **las muestras procesadas sous-vide eran más estables a los procesos oxidativos a lo largo del almacenamiento; sin embargo en el momento en que se abrían los envases, estas muestras se oxidaban más rápidamente que las muestras cocinadas de forma tradicional.**

Thorsell (1996) demostró que **el adobado de carne de vacuno antes del tratamiento sous-vide no afectaba a su ternura.** Solo pequeñas modificaciones en el aspecto general, olor y sabor fueron apreciadas durante el almacenamiento de las muestras a 3 o 7° C durante 6 semanas.

Amstrong & McIlveen (2000) desarrollaron **perfiles descriptivos de salsas hechas a base de carne** como la salsa boloñesa (30% carne vacuno) y una salsa de origen indio llamada tikka masala (42% pollo) procesada mediante la tecnología sous-vide. Para ello entrenaron catadores, definieron unos 20 atributos sensoriales, los cuantificaron y elaboraron los perfiles sensoriales descriptivos de cada salsa tras su procesado a día 10, 20, 30 y 40 de almacenamiento.

b) Platos a base de carne de pollo:

Nazaire (1987), probó distintas condiciones de tiempo y temperatura en el procesado sous-vide de carne de pollo (desde 20 y 180 minutos a 65, 80 o 95° C). Según él, **las condiciones que aportaban las mejores propiedades sensoriales,**

garantizando la seguridad microbiológica de estos productos, era 20 minutos a 95° C. Este resultado contradecía, las condiciones recomendadas para estos productos, que eran de 30 minutos a 80° C.

Light *et al.* (1988) estudiaron la **calidad sensorial del pollo “á la king”** procesado mediante tecnología sous-vide a lo largo del almacenamiento. Utilizaron perfiles sensoriales para ver la evolución de los distintos atributos sensoriales a día 7, 14 y 21 de almacenamiento. También usaron pruebas discriminatorias para comparar cada muestra con platos recién hechos. Similar a este trabajo, fue el llevado a cabo por Schafheitle & Light (1989) pero con el **pollo “a la ballotine”**. Entre los resultados obtenidos, encontraron que el **pollo procesado sous-vide, mantenía una calidad sensorial todavía aceptable por encima de 21 días de almacenamiento a 1-3° C, aunque mostraron diferencias significativas con respecto a los platos recién preparados.** Para todo ello, utilizaron pruebas triangulares y perfiles sensoriales.

Church (1990) utilizó los perfiles sensoriales descriptivos para ver las diferencias que podrían existir entre el cocinado tradicional y el procesado sous-vide de distintos platos, entre ellos, el **pollo “a la ballotine” con arroz y patatas. Encontrando diferencias en la intensidad de los aromas, los sabores y la jugosidad y esponjosidad del pollo.** Ese mismo año, Smith & Fullum-Bouchard (1990) evaluaron entre otros parámetros, la calidad sensorial del **pollo con salsa velouté (crema de espárragos)**, preparado mediante la tecnología *cook-chill*, *cook-freeze* y sous-vide. Además, de comparar las tres tecnologías, estudiaron si se modificaba la calidad sensorial a lo largo de 1, 3 y 6 días de almacenamiento a 4° C o -14° C. Lo más llamativo de este trabajo es que **no encontraron diferencias significativas en el aroma, apariencia, sabor y ternura.**

Creed *et al.* (1993) estudiaron mediante pruebas discriminatorias dúo-trío con un panel de catadores no entrenados, si existían diferencias entre el **pollo en salsa de vino tinto** procesado mediante la tecnología sous-vide recién preparado y tras el almacenamiento después de 5 y 12 días a temperatura de refrigeración. El panel de catadores fue capaz de encontrar diferencias significativas ($p < 0.001$) debido a que la salsa mejoraba el plato a lo largo del almacenamiento. Estas diferencias no fueron encontradas ($p < 0,05$) si los platos se procesaban sin salsa y ésta se añadía en el momento de su consumo.

Goto *et al.* (1995) evaluaron mediante métodos instrumentales la **dureza, elasticidad, gomosidad y masticabilidad en pechugas de pollo y filetes de cerdo**

procesados mediante tecnología sous-vide y lo comparó con el cocinado tradicional en horno de gas a 200° C. Estos atributos sensoriales presentaban valores significativamente menores ($p < 0.001$) en los platos procesados por tecnología sous-vide.

Turner & Larica (1996) estudiaron el efecto que la **adición de lactato sódico, la temperatura de cocción y el tiempo de almacenamiento tenían sobre el color, aroma y textura de pechugas de pollo** procesadas mediante tecnología sous-vide. Llegaron a la conclusión que las pechugas cocidas a 94° C eran más duras y menos jugosas que las procesadas a 77° C; el sabor a carne disminuyó y los sabores a recalentado aumentaron a lo largo del almacenamiento ($p < 0,05$). Por otro lado, **la adición de lactato sódico provocó una potenciación del sabor a carne y salado.**

Church (1996), comparó platos a base de **pechuga de pollo con patatas en rodajas y crema**, procesados mediante tecnología sous-vide y cook-chill. El tratamiento térmico fue de 80° C durante 10 minutos, seguido de un enfriamiento rápido a 5° C en menos de una hora y un almacenamiento durante 7 días a temperaturas de refrigeración. El análisis sensorial de los distintos atributos mostraron que en los platos recién hechos presentaban un aumento en la intensidad de los sabores y la jugosidad tanto en el pollo como en las patatas ($p < 0,05$). También encontraron que ese efecto disminuía a lo largo del almacenamiento. **Al comparar los dos procesados, no se encontraron diferencias significativas en los productos recién preparados, si bien durante el almacenamiento los productos sous-vide se mostraron más estables, mientras que en los cook-chill se apreciaba una pérdida de color.**

c) Platos a base de pescado:

Choain & Noel (1989) evaluaron la calidad sensorial de **trucha rellena de pepino y sopa de pescado** procesada sous-vide y de modo tradicional. **Los resultados demostraron que los platos procesados sous-vide presentaban un mejor aroma y un sabor más intenso que en los cocinados de modo tradicional.**

Gittleson *et al.* (1992) utilizaron los perfiles sensoriales para evaluar el color, el olor, la textura, el descamado, el desmenuzado y la aceptabilidad global de **salmón procesado sous-vide** a lo largo de 100 días de almacenamiento en hielo a 0-4° C. **La aceptabilidad global de este producto se correlacionó de forma negativa con el olor a pescado, y fue adecuada hasta las 12 semanas de almacenamiento**

($p < 0.001$). Además realizaron las pruebas con dos tipos distintos de envases plásticos, no apareciendo diferencias significativas en cuanto a la textura (determinada ésta por métodos instrumentales).

Sarli *et al.* (1993) estudiaron la calidad microbiológica y sensorial de **róbalo y dorada condimentada con vino y sopa de pescado**, envasada a vacío, cocida a distintos tratamientos térmicos (57, 60, 62 y 65° C) y posteriormente almacenada a 0-5° C durante 40 días. El trabajo concluía, que esos **tratamientos térmicos relativamente suaves daban lugar a productos con buenas cualidades sensoriales y alta vida útil.**

Bergslien (1996) investigó el efecto que las condiciones de procesado y tiempo de almacenamiento tienen sobre la calidad microbiológica y sensorial de **salmón procesado sous-vide** con un pre-tratamiento de inmersión en una solución salina que con carbonato sódico (a 2.5, 5 o 10 %). Los tratamientos térmicos fueron de 65, 70 y 75° C durante 10, 12.5 y 20 minutos respectivamente. Evaluaron la apariencia, olor, sabor, rancidez y textura cada siete días a lo largo del almacenamiento a 2° C. Entre los resultados obtenidos cabe destacar, que **el pre-tratamiento con la solución de carbonato sódico al 5% y el tratamiento térmico de 65° C durante 10 minutos tenía como resultado un producto con una calidad sensorial bastante aceptable durante más de 3 semanas de almacenamiento, usando una película de aluminio como barrera para inhibir parcialmente la rancidez.**

d) Platos a base de frutas y verduras:

Choain & Noel (1989) compararon el procesado tradicional y el sous-vide de **peras escalfadas**. Ellos encontraron que **las peras procesadas sous-vide presentan unos aromas, sabores y texturas mejores que las procesadas de modo tradicional.**

Petersen (1993) estudió el efecto que distintos tratamientos (sous-vide, cocinado al vapor y hervido) tenían sobre las propiedades sensoriales de platos recién preparados a base de **brócoli**. Encontraron que **los platos sometidos al tratamiento sous-vide y al cocinado al vapor tenían mejor aceptabilidad que los hervidos de modo tradicional.** Además, el tratamiento sous-vide tenía un mejor efecto sobre los sabores ($p < 0,05$) si bien **se potenciaba el sabor amargo**, una característica negativa, que no ocurría con el brócoli hervido.

Varoquax *et al.* (1995) se centraron en la optimización de las condiciones del procesado sous-vide de **lentejas**. Establecieron que un tratamiento no superior a 90° C durante 2 horas era suficiente para obtener la mejor calidad sensorial de este producto. De esta manera, **cualquier tratamiento térmico superior a 90° C, o un tiempo de procesado superior a 2 minutos provocará un ablandamiento excesivo de las lentejas.**

Goto *et al.* (1995) compararon el procesado sous-vide con el cocinado tradicional de distintos **platos tradicionales japoneses**, como: “takikomigohan” (arroz cocido con otros ingredientes), “saba-nituke” (caballa hervida con salsa de soja) y repollo enrollado. Evaluaron la apariencia, color, sabor, olor, suavidad y la preferencia global. **Los resultados obtenidos no encontraron diferencias significativas entre el procesado sous-vide y el cocinado tradicional.** En otros platos, como “nikujaga” (patata cocida con carne y salsa de soja), pollo hervido en crema de higos, el tratamiento sous-vide fue el preferido. También se compararon algunas frutas, como la salsa de kiwi, en donde el color se mantenía de un modo más firme que con un cocinado tradicional. En esta misma línea, Yohimura *et al.* (1995) estudiaron cómo se modificaba el sabor, aroma, color y apariencia general del “mitsuba” (planta aromática japonesa utilizada en la elaboración de sopas) procesada sous-vide en comparación con el cocinado tradicional. Ellos **encontraron que el aroma y el sabor de las muestras procesadas sous-vide (1.5 minutos a 100° C) era superior que en el cocinado tradicional (1 minuto a 100° C).**

II.6.3- ACEPTACIÓN DE LOS PRODUCTOS SOUS-VIDE POR PARTE DE LOS CONSUMIDORES:

En el año 2001, **Creed** realizó un trabajo donde pretendía conocer **cómo era la aptitud de los consumidores hacia seis sistemas de procesado de los alimentos (cocinado convencional, cook-chill, cook-freeze, sous-vide, deshidratado (lío-filizado) y por combinación de las tecnologías anteriores).**

La recogida de datos se llevó a cabo mediante la redacción de **cuestionarios**, los cuales fueron contestados en presencia de un tutor que daba una pequeña explicación previa, para evitar posibles errores en la comprensión de las preguntas.

Fueron seleccionados finalmente un total de **188 cuestionarios**. Se obtuvieron datos sobre la **frecuencia con la que comen fuera de casa y sobre la aptitud y aceptación hacia cada uno de esos seis métodos de procesado, según el sexo, rango de edad (<19, 20-24, 25-34, 35-44, 45-54, 55-64, >65) y clase social (nivel económico)**.

En cuanto a la frecuencia de consumo, se les daba la oportunidad de elegir una de las siguientes opciones: 1) la mayoría de los días; 2) al menos una vez a la semana; 3) cada quince días; 4) al menos una vez al mes o 5) menos todavía. Para evaluar la aptitud hacia el método de cocinado utilizado se utilizó una escala del 0 al 10, donde el 0 significaba que no se la daba importancia y el 10 una gran importancia. Y finalmente, para valorar la aceptabilidad de cada método de procesado se usó una escala que iba del 0= totalmente inaceptable hasta el 10= totalmente aceptable.

Entre la gran cantidad de resultados obtenidos, cabe destacar que todos los **encuestados independientemente del género, grupo de edad o clase social a la que pertenezcan, daban mucha importancia al sistema de procesado utilizado en la elaboración de los alimentos, siendo el cocinado tradicional el sistema preferido**.

En lo relativo a la **aceptabilidad de la tecnología sous-vide por parte de los encuestados, se puede resaltar lo siguiente: no se apreciaron diferencias entre géneros; el grupo de edad que mejor acepta esta tecnología es el comprendido entre los 20 y 24 años, mientras que son los mayores de 65 años los que peor lo aceptan; con respecto a la clase social, existe un correlación positiva entre el nivel de ingresos y la aceptabilidad de este sistema de procesado de los alimentos**.

TABLA 16. Estabilidad microbiológica en el almacenamiento de **platos de pescado** cocinados sous vide.

PRODUCTO	TRATAMIENTO TÉRMICO	T ^a ALMACENAMIENTO (°C)	ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA (DÍAS)	CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS DESCRITOS	REFERENCIA
Bacalao, Salmón	58°C, 60°C, 62°C, 65°C, 68°C, 70°C, 80°C	2	21	---	Ben Embarek, 1993
Filetes de bacalao (200-220 g)	75°C, 45 min	3	10-13	TVC (iron agar, 15°C, 25°C) (< 10 ⁸) y crecimiento de anaerobios no identificados	Ben Embarek, 1994
Salmón (150 g)	65°C, 5 min (centro) 75°C, 20 min (centro)	2 ± 1	<7 ≥49	TVC (iron agar, 20°C) (>10 ⁵)	Bergslien, 1996
Salmón, tratado con 5% Na ₂ CO ₃ (150 g)	65°C, 5 min (centro)	2 ± 1	21-28	TVC (iron agar, 20°C) (>10 ⁵)	Bergslien, 1996
Salmón (100 g)	A 60°C (centro)	3	19-26	TVC (>10 ⁵)	Thorsell & Vinsmo, 1991
Salmón, con tri-polifosfato (1.5%) y sal (5,8-6,2 oz)	No establecido (comercial)	0-4	≥84	NB	Gittleson y col 1992
Salmón (71-79 g)	68°C, 15 min (centro: 68°C)	0	≥7	---	Miyazawa y col 1994
Vieiras (400-420 g)	70°C, 1 h. (centro: 70 °C)	0	≥7	---	Miyazawa y col, 1994
Pescado blanco estofado con moluscos	Twice as long as normal. (<70°C)	1-3	14	TVC, (PCA, 37°C) (>10 ⁵)	Light y col, 1988
Salmón (130±12 g)	65-75°C, 15 min	2 8	42 14	---	Rosnes y col, 1999
Bacalao (150±12 g)	70-75°C, 20 min	2 8	40 19	---	Rosnes y col, 1999
Pescado	70°C, 11 min	<3°C	42	---	Rybka y col, 1999
Chicharro y caballa	70-75°C, 12 min	3 ± 1	15-21	---	García-Palacios, 1999
Caballa con arroz		2	7		Ghazala y col, 1995
Filetes de bacalao	65°C, 20-30 min				Bovee y col, 1996

≥: La estabilidad supera el último día muestreado; ---: no hay cambios inaceptables; NB: no existen los cambios esperados con la metodología empleada. TVC: Recuento de viables totales.

TABLA 17. Estabilidad microbiológica en el almacenamiento de **platos de vegetales** cocinados sous vide.

PRODUCTO	TRATAMIENTO TÉRMICO	T ^a ALMACENAMIENTO (°C)	ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA (DÍAS)	CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS DESCRITOS	REFERENCIA
Puerros (30-50g)	A 95°C (centro)	3	≥32	---	Thorsell & Vinsmo, 1991
Calabacín a la provenzal		1-3	≥21	---	Light y col, 1988
Mezcla de vegetales (225-264g)	95°C/15 min (centro 95°C)	0	≥7	---	Miyazawa y col, 1994
Judías verdes (2 kg)	90°C/25 min	3	≥25	---	Knochel y col, 1997

≥: La estabilidad supera el último día muestreado; ---: no hay cambios inaceptables.

TABLA 18. Estabilidad microbiológica en el almacenamiento de **platos de carne** cocinados sous vide.

PRODUCTO	TRATAMIENTO TÉRMICO	T ^a ALMACENAMIENTO (°C)	ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA (DÍAS)	CAMBIOS MICROBIOLÓGICOS DESCRITOS	REFERENCIA
Filete de ternera (110-120 g)	58°C (centro) /30 min	0	≥7	---	Miyazawa y col, 1994
Cordero (65-75 g)	58°C (centro)/30 min	0	≥7	---	Miyazawa y col, 1994
Ternera asada (1.5-3.0 kg)	59°C/ 5 h y 62°C/ 5 h	2	≥35	---	Hansen y col, 1995
Ternera asada (1.5-3.0 kg)	59°C/ 5 h y 62°C/ 5 h	10	14-19	Anaerobios obligados esporulados (>10 ⁷)	Hansen y col, 1995
Guisado (80g carne + 60 g salsa)	98°C/46 min	3	≥32	---	Thorsell & Vinsmo, 1991
Espaguetis con salsa de carne (375 g)	65°C/ 71 ó 105 min 75°C/37 ó 40 min	5	≥35	---	Simpson y col, 1994
Espaguetis con salsa de carne (375 g)	65°C/ 71 ó 105 min 75°C/37 ó 40 min	15	28 21	Bacterias ácido lácticas (MRS, 35°C) (>10 ⁶)	Simpson y col, 1994
Guisado de cordero turco (<i>coban kavurma</i>)	?	4	>42	---	Topal y col, 1996
Pechuga de pollo (90-145 g)	99°C/ 3min (centro 65.6°C)	2	28-42	Recuento viables totales (TSA, 35°C) (>10 ⁶)	Shamsuzzaman y col, 1992
Pechuga de pollo (85-135 g)	99°C/ 3min 45'' (centro 71.1°C)	8	7-14	Recuento viables totales (TSA, 35°C) (>10 ⁷)	Shamsuzzaman y col, 1995
Pechuga de pollo con sal (0.5%) (82-109 g)	Cocinado rápido hasta 77°C (centro)	4 10	≥28	---	Turner y col, 1996
Pollo relleno (170 g)	85°C/50 min (centro 63°C)	1-3	≥21	---	Schafheitle & Light, 1989
Pollo		1-3	≥21	---	Light y col, 1988
Pechuga de pollo (113-146 g)	63°C/17 min (centro 63°C)	0	≥7	---	Miyazawa y col, 1994
Ave confitada (189-228g)	80°C/ 6h	0	≥7	---	Miyazawa y col, 1994
Rollos de pavo con sal (1.5%)	A 71°C (centro). Tratamiento comercial	4	≥87	---	Smith & Alvarez, 1988

≥: La estabilidad supera el último día muestreado; ---: no hay cambios inaceptables.

TABLA 20. Límites de aceptación sensorial durante el almacenamiento de varios alimentos cocinados sous vide.

PRODUCTO	Tª ALMACENAMIENTO (°C)	LÍMITE DE ACEPTACIÓN SENSORIAL (DÍAS)	FACTORES LIMITANTES	REFERENCIA
PESCADO				
Bacalao	3	15-18	Aroma (microbiano)	Ben Embarek, 1994
Salmón	3	14	Aroma, apariencia	Thorsell & Vinsmo, 1991
Salmón	2 ± 1	<7	Aroma (microbiano), apariencia	Bergslien, 1996
Salmón, pretratado con Na ₂ CO ₃	2 ± 1	21	Aroma (microbiano)	Bergslien, 1996
Salmón pretratado con tri-polifosfato y sal	0-4	84	Aroma	Gittleson y col, 1992
Pescado				Rybka y col, 1999
Salmón				Keeling & Sheard, 1996
POLLO				
Pechuga de pollo con hueso	5	≥7	Cambios en jugosidad y apariencia	Church, 1996
Pechuga de pollo	4	≥28	Cambios en <i>flavor</i>	Turner & Larick, 1996
Pollo	1-3	≥14	Cambios en apariencia	Light y col, 1988
Pechuga de pollo	2	30-42	Alterado (microbiano)	Shamsuzzaman y col, 1992
Pechuga de pollo	8	1-11	Alterado (microbiano)	Shamsuzzaman y col, 1995
Pollo relleno	1-3	≥21	Cambios en apariencia	Schafheitle & Light, 1989
CARNE				
Ternera asada con especias	2	≥23	Cambios en aroma y <i>flavor</i>	Hansen y col, 1995
Ternera asada sin especias	2	19-23	Aroma, <i>flavor</i>	Juncher & Hansen, 1993
Espaguetis con salsa de carne	5	≥35	Sin cambios significativos	Simpson y col, 1994
Espaguetis con salsa de carne	15	14	Aroma, color (microbiano)	Simpson y col, 1994
Guisado de carne	3	≥21	Sin cambios significativos	Thorsell & Vinsmo, 1991
Guisado de cordero turco (<i>coban kavurma</i>)	4	≥63	?	Topal y col, 1996

≥: La aceptación sensorial supera el último día muestreado; El término "microbiano" se usa para indicar que los cambios sensoriales son, al menos en parte, causados por acción microbiana.

TABLA 21. Límites de aceptación sensorial durante el almacenamiento de varios alimentos cocinados sous vide (continuación).

PRODUCTO	Tª ALMACENAMIENTO (°C)	LÍMITE DE ACEPTACIÓN SENSORIAL (DÍAS)	FACTORES LIMITANTES	REFERENCIA
VEGETALES				
Brócoli	5	7-14	Color, <i>flavor</i>	Petersen y col, 1993
Puerro	3	≥21	Cambios en color	Thorsell & Vinsmo, 1991
Judías verdes	3	8	Color	Knochel y col, 1997
Calabacín a la provenzal	1-3	7	Color, textura	Light y col, 1988
Patatas en crema	<5	≥7	Cambios en jugosidad y <i>flavor</i>	Church, 1996

≥: La aceptación sensorial supera el último día muestreado; El término "microbiano" se usa para indicar que los cambios sensoriales son, al menos en parte, causados por acción microbiana.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

El objetivo general, la presente Tesis Doctoral pretende cubrir tres aspectos claramente diferenciados:

1º. Estudio de la calidad microbiológica

2º. Estudio de la calidad sensorial

3º. Estudio del valor nutritivo.

Por ese motivo en este apartado (Material y Métodos) desarrollaremos por separado las técnicas analíticas para cubrir cada uno de ellos así como el Diseño Experimental formulado para conseguir los objetivos planteados.

III.I.- ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.

III.I.1.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El estudio se realizó en **trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) eviscerada en origen, adquirida en distintos establecimientos de la ciudad de León y cocinada mediante la tecnología *sous-vide* a distintas combinaciones de tiempo y temperatura.** Todo el proceso de preparación de las muestras que se describe a continuación fue realizado en las instalaciones del **Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL)** de la **Universidad de León**.

La trucha se troceó en **rodajas de un peso aproximado de 100 gramos** cada una, a las que se añadió **15 g de aceite de oliva virgen extra 0.8°** (marca COOSUR) y **0.2 g de sal**. Cada porción fue **envasada en bolsas de polietileno-poliamida con una permeabilidad al oxígeno de 25-30 cm³/m² cada 24 horas y una permeabilidad al vapor de agua de 5 g/m²/ 24 horas a 25° C**.

A continuación, **las bolsas se termosellaron a vacío usando una envasadora TECNOTRIP®** (Barcelona, España). El **tratamiento térmico** se controló con una sonda SURDRY situada en el la parte más interna del alimento, en un autoclave de la misma marca modelo A-142 (SUNDRY®, Bilbao, España) de 1.200 kg de presión, controlado por un equipo de software marca KALIDOS®.

Se ensayaron los siguientes **tratamientos o combinaciones temperatura/tiempo**:

- **Tratamiento A: 90° C/15 minutos.**
- **Tratamiento B: 90° C/5 minutos.**
- **Tratamiento C: 70° C/10 minutos.**

Una vez realizado el tratamiento térmico, las muestras se sometieron a un **enfriamiento rápido**, en un **abatidor de frío** de la marca MATACHANA® (bimotor 230 W) (Barcelona, España) dotado de un termo-registrador marca IRINOX® (Corbanese, Italia) capaz de alcanzar los 32° C en 21,5 minutos y los 0-2° C en 45 minutos.

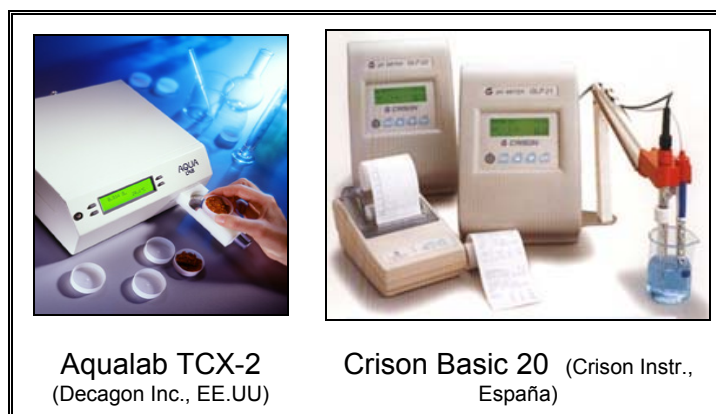
Tras el enfriamiento, tres lotes de cada uno de los tratamientos aplicados se **almacenaron a 2° C durante 45 días**. De igual forma otros tres lotes de cada tratamiento se almacenaron a **10° C durante el mismo periodo de tiempo (45 días)**. Las muestras se tomaron por duplicado en cada uno de los lotes en la trucha cruda, tras el enfriamiento rápido y a los **días 0, 3, 14, 21 y 45 de almacenamiento**. En cada una de las muestras se evaluó el **pH**, la **actividad de agua** y se llevó a cabo el **análisis microbiológico**.

En la siguiente figura se muestra un **esquema de la preparación de la toma de muestras**:



III.I.2.- DETERMINACIÓN DE PH Y ACTIVIDAD DE AGUA

- **Determinación del pH:** Se utilizó un **pH-metro marca CRISON®** (Crison Basic 20, Crison Instruments, Barcelona, España). Se midió en un homogeneizado compuesto por **10 g de muestra y 10 ml de agua desmineralizada (milli-Q®)**. Los **tampones** utilizados en la calibración del pH-metro fueron de **pH: 4.00 y pH: 7.02** (Según norma AOAC, 1995).
- **Determinación de la actividad de agua:** La actividad de agua se determinó mediante la **medición del punto de rocío**, en un aparato **AQUALAB TCX-2®** (Decagon Inc., USA). Para la **calibración** del aparato se utilizaron las siguientes sustancias: **cloruro de litio, carbonato potásico y agua destilada**. (Según norma AOAC, 1998).



Aqualab TCX-2
(Decagon Inc., EE.UU)

Crison Basic 20 (Crison Instr.,
España)

III.I.3.- ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Para llevar a cabo el análisis microbiológico se siguieron las especificaciones de la **American Public Health Association - APHA** - (Messer *et al.*, 1992).

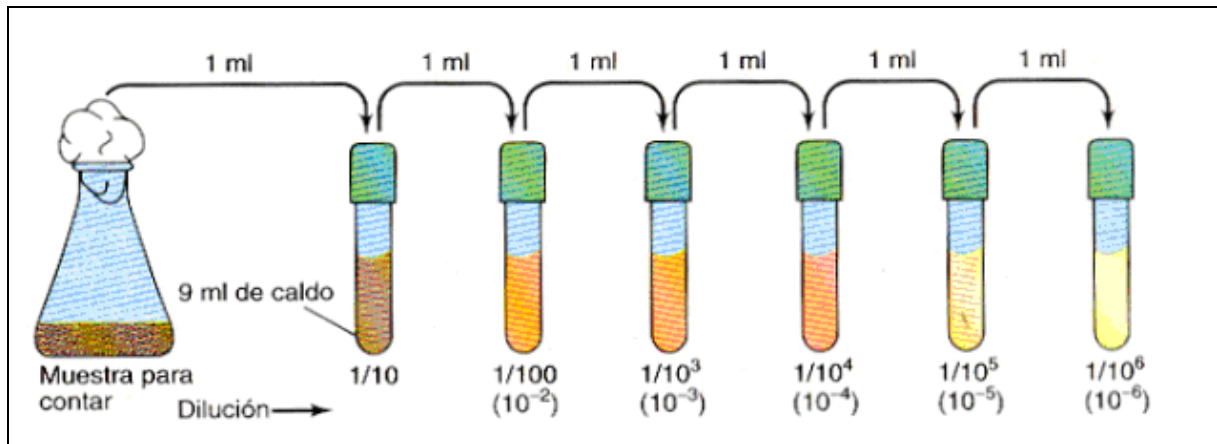
En todos los casos se utilizó un **método destructivo de muestreo**. De cada una de las muestras se tomaron en condiciones de esterilidad **25 gramos de trucha**, la cual se pesó y homogeneizó en un **Stomacher®** (IUL, Barcelona, España) durante **2 minutos con 225 ml de agua de peptona estéril** (0.1% peptona p/v) (Oxoid Ltd., UK). Las subsiguientes diluciones decimales se realizaron con el mismo diluyente.

Las **siembras** se llevaron a cabo siempre **por duplicado**, para las mismas se utilizaron **alícuotas de 1ml ó 0,1 ml** (según se utilizase la **técnica de siembra en profundidad ó en superficie**, respectivamente) de las diluciones de la muestra. Una vez sembradas, las

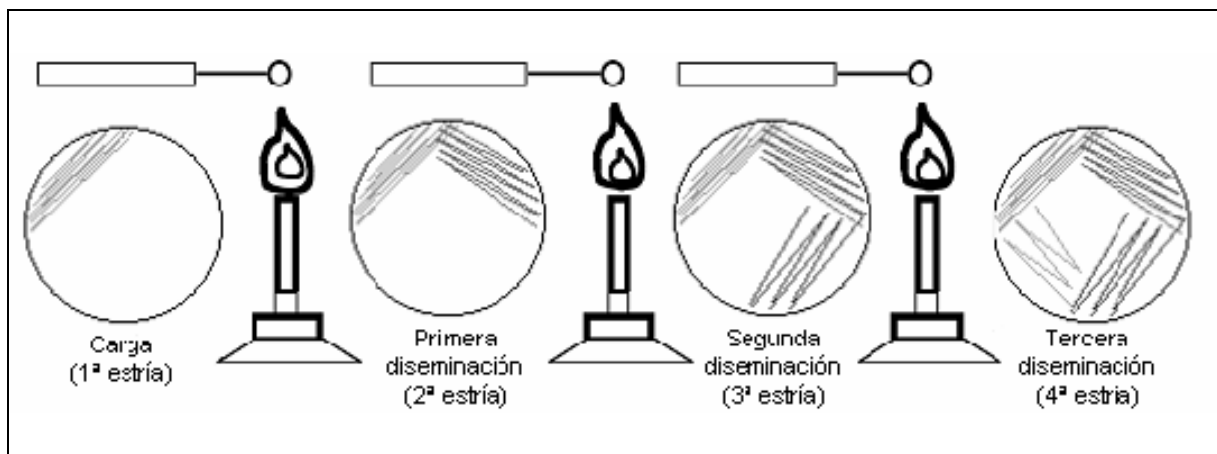
placas se incubaron siempre en posición invertida bajo las condiciones de tiempo y temperatura específicas para cada grupo microbiano estudiado.

En la siguiente figura se muestra el procedimiento de obtención de las diluciones y las técnicas de siembra utilizadas.

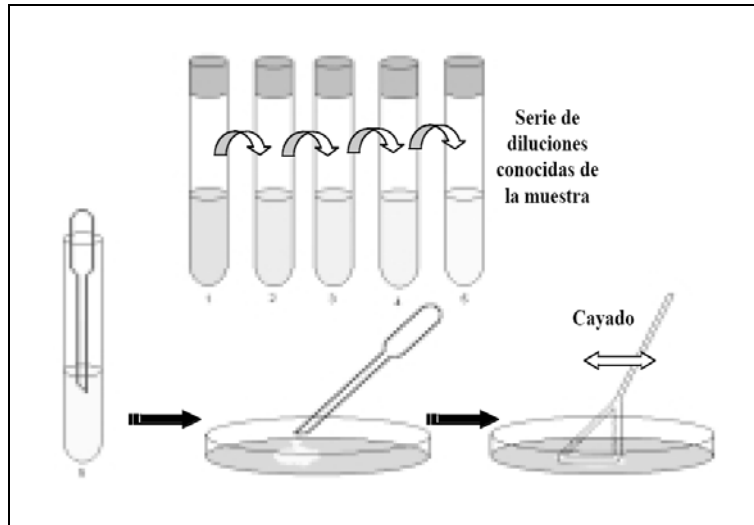
OBTENCIÓN DE LAS DILUCIONES



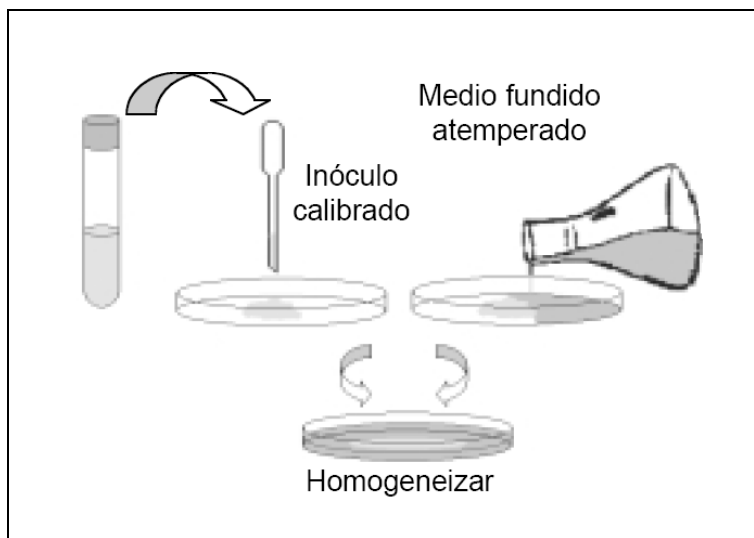
TÉCNICA DE AISLAMIENTO POR ESTRÍA EN SUPERFICIE



TÉCNICA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE



TÉCNICA DE SIEMBRA POR DILUCIÓN EN MASA O INCLUSIÓN EN AGAR



Los grupos microbianos estudiados fueron los siguientes:

- **Recuento de la flora aerobia mesófila viable.** Su determinación se realizó por la técnica de **siembra en superficie**. El medio utilizado fue **Ágar para Recuento en Placa -PCA-** (Oxoid) incubándose a **30° C** durante **72 horas** (ICMSF, 1983).
- **Recuento de la flora psicrotrofa.** Para la cuantificación de este grupo microbiano se utilizó también la técnica de **siembra en superficie**. El medio empleado fue **Ágar para Recuento en Placa -PCA-** (Oxoid), con **incubación a 7° C** durante **10 días** (Gilliland *et al.*, 1984).

- **Recuento de *Enterobacteriáceas***. Para la determinación de este grupo microbiano se utilizó la técnica de **siembra en profundidad**. Se empleó el medio **Ágar Glucosa Cristal Violeta Rojo Neutro y Sales Biliares –VRBGA®**- (Oxoid), añadiendo tras la solidificación una **sobrecapa** del mismo medio. La **incubación** se llevó a cabo durante **24 horas** a una temperatura de **35° C** (ICMSF, 1983). Se consideraron *Enterobacteriáceas* aquellas colonias redondas, de unos 2 mm. de diámetro, color púrpura y rodeado por un halo del mismo color.
- **Recuento de la flora anaerobia mesófila viable**. Para la determinación de este grupo microbiano se utilizó la técnica de **siembra en superficie** utilizando como medio **Ágar para Recuento en Placa -PCA-** (Oxoid), las placas se incubaron en **jarras de anaerobiosis de 2,5 litros** (HP0031, Oxoid) a las que se añadieron sobres compuestos por **ácido ascórbico (70-80%)** y **carbón activado (20-30%)** (Anaerogen AN0025®, Oxoid). La **incubación** se realizó a **35° C** durante **48 horas** (ICMSF, 1983).
- **Recuento de bacterias acidolácticas**. Para el estudio de este grupo se empleó la **siembra en superficie** en medio **MRS** - Man, Rogosa y Sharpe - (Oxoid) **incubándose** posteriormente las placas a **30° C** durante **72 horas** (de Man, Rogosa y Sharpe, 1960).
- **Presencia o ausencia de *Clostridium perfringens***. Se evaluó en **Ágar OPSP®** (Oxoid). Para ello se empleó la técnica de **siembra en profundidad**. Una vez sembradas, las placas se incubaron en **jarras de anaerobiosis de 2,5 litros** (HP0031, Oxoid) a las que se añadieron **sobres** compuestos por **ácido ascórbico (70-80%)** y **carbón activado (20-30%)** (Anaerogen AN0025®, Oxoid) para obtener las condiciones de anaerobiosis requeridas. La **incubación** se realizó a **37° C** durante **18-24 horas**. Las colonias de *Clostridium perfringens* aparecen como colonias grandes (2-4 mm. de diámetro) de color negro, situadas en la profundidad del ágar.
- **Recuento de micrococáceas e identificación de *Staphylococcus aureus***. Se siguió el procedimiento aconsejado por la **APHA** (Lancetti y Tatini, 1992), **sembrando en superficie**, empleando como medio de aislamiento el ágar **BAIRD-PARKER** (Oxoid). **Alícuotas de 0.1 ml** de las diluciones correspondientes se

sembraron por duplicado sobre la superficie seca del medio de cultivo. La **incubación** se realizó durante **48 horas** a **37° C**. Para su identificación se tomaron colonias con la morfología indicada en la bibliografía como típica de *Staphylococcus aureus*: **colonias negras o gris oscuro por la reducción del telurito, con un diámetro superior a 2 mm., brillantes, lisas, convexas y rodeadas por zonas de aclaración de 2 a 5 mm por la acción de la lecitinasa.**

- **Presencia o ausencia de *Salmonella***. Se realizó por el **método ISOGRID** (ISOGRID HGMFTM, QA Lab. Toronto, Ontario). Este método ha sido aprobado para el aislamiento de salmonelas a partir de alimentos por la **AOAC** (1985), y recomendado por la **APHA** (Flowers *et al.*, 1992). Se tomaron **25 gramos de muestra** y se **homogeneizaron** en **Stomacher[®]** (IUL, Barcelona, España) durante **2 minutos** con **225 ml de Caldo Nutritivo -NB- Nutrient Broth** (Oxoid) como diluyente. Este enriquecimiento no selectivo se realizó a **35°C** durante **24 horas**. A partir de este momento, **alícuotas de 0.1 ml** fueron transferidas a **tubos** que contenían **10 ml de caldo de enriquecimiento selectivo Tetrionato Verde Brillante -TBG-** (QA Life Sciences, Inc.).

Los tubos una vez sembrados se **incubaron** durante **6-8 horas** en un **baño termostático a 35° C**. A partir de estos tubos y tras el periodo de incubación, se realizaron **diluciones decimales en agua de peptona al 0,1% p/v**. Una **alícuota de 1 ml de de la dilución 10⁻² de cada caldo de enriquecimiento selectivo** se **filtró** a través de a través de **membranas de rejilla hidrofóbica** (QA Life Sciences Inc.), con ayuda de una **bomba de vacío** (Millipore[®], USA).

Tras la filtración, cada membrana era colocada, sobre una **placa de EF-18** (QA Life Sciences Inc.). Las placas con las rejillas colocadas se **incubaron a 42° C** durante **24 horas**. Se consideraron colonias sospechosas de pertenecer al género *Salmonella* aquellas que tras la incubación presentaban una **coloración verde, azul o azul-verdosa** sobre el medio EF-18.

- **Presencia o ausencia de *Escherichia coli***. Se realizó por la **técnica de filtración a través de membrana con rejilla hidrofóbica, ISOGRID** (ISOGRID HGMFTM, QA Lab. Toronto, Ontario), (AOAC Method #990.11). Se tomaron **25 gramos de muestra** y se **homogeneizaron** en **Stomacher** (IUL, Barcelona, España) durante **2 minutos** con **225 ml de agua de peptona** (Oxoid) **estéril al 0,1% p/v**. A partir de este homogeneizado se realizaron las subsiguientes **diluciones decimales** con el mismo diluyente. Una **alícuota de 1 ml**. de cada una de las diluciones se **filtró**

a través de **membranas de rejilla hidrofóbica** (QA Life Sciences Inc.), con ayuda de una **bomba de vacío** (Millipore, USA). Tras la filtración, cada membrana era colocada, evitando la formación de burbujas, sobre una **placa de Ágar Lactosa Monensina Glucuronato -LMG-** (QA Life Sciences Inc.). Posteriormente las placas se **incubaron durante 24 horas a 35° C**.

Tras el periodo de incubación, se contaron las celdillas sobre las que se observaba crecimiento de **colonias con tonalidad azul**, que se consideraban como presuntos conformes. Las membranas posteriormente eran transferidas a **placas de ágar tamponado MUG (4-metil-umbeliferil-β-D-glucurónido) –BMA-** (QA Life Sciences, Inc.) e **incubadas durante 2 horas a 35° C**. Tras este periodo de incubación se utilizó una **lámpara de luz ultravioleta a una longitud de onda de 365 nm**. para buscar en las placas aquellas **colonias que presentaran fluorescencia de tonalidad azul**.

- **Presencia o ausencia de *Listeria monocytogenes***. Para el aislamiento de *Listeria monocytogenes* se utilizó el método desarrollado por el **Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA-FSIS)** (McClain y Lee, 1998), con algunas modificaciones. Para ello **25 gramos de muestra se homogeneizaron en Stomacher®** (IUL, Barcelona, España) con **225 ml de caldo University of Vermont I -UVM 1-** (Oxoid) como diluyente.

El **enriquecimiento selectivo primario** se llevo a cabo incubando en las mismas **bolsas de Stomacher** durante **24 horas a 30° C**. El **enriquecimiento secundario** se realizó en **caldo de Fraser** (Oxoid) durante **24 horas a 35° C**. Tras el enriquecimiento selectivo secundario, los cultivos se **sembraron por agotamiento en medio de PALCAM** (Oxoid). Las placas se incubaron a **30° C durante 48 horas**.

- **Presencia o ausencia de *Bacillus cereus***. Se investigó en **ágar manitol yema de huevo polimixina B** (Oxoid), incubando a **30° C durante 24 horas** según las recomendaciones de la **ICMSF (1984)**.

En la siguiente tabla se muestra a modo de resumen los Medios de cultivo, tipos de siembra, condiciones de incubación y referencias utilizados para cada uno de los grupos microbianos investigados:

Tabla 1. Medios de cultivo, tipos de siembra, condiciones de incubación y referencias utilizados para cada uno de los grupos microbianos investigados.			
Grupo microbiano	Medios	Siembra/ Incubación	Referencia
Mesófilos	PCA	Sup., 30°C/ 72h	ICMSF, 1983
Psicrotrofos	PCA	Sup. 7°C/ 10días	Gilliland y cols, 1984
<i>Enterobacteriaceas</i>	VRBGA	Prof. 35°C/ 24h	ICMSF, 1983
Anaerobios	PCA	Sup. 35°C/ 48h	ICMSF, 1984
Acidolácticas	MRS	Sup. 30°C/ 72h	Man, Rogosa y Sharpe, 1960
<i>C. perfringens</i>	OPSP	Prof. 37°C/ 24h	ICMSF, 1984
Micrococaceas	BAIRD-PARKER	Sup., 37°C/ 48h	Lancetti y Tatini, 1992
<i>Salmonella</i>	EF-18 (ISOGRID®)	Sup., 42°C/ 24h	Flowers y cols, 1992 - AOAC No. 991.12
<i>Escherichia coli</i>	LMG (ISOGRID®)	Sup., 35°C/ 24h	AOAC Method #990.11
<i>L. monocytogenes</i>	PALCAM	Sup., 30°C/ 48h	Mc Clain y Lee, 1998
<i>Bacillus cereus</i>	Ágar manitol yema de huevo polimixina B	30°C/ 24h	ICMSF, 1984

Para el **tratamiento estadístico** de los datos se utilizó el **programa SPSS 12.0 ver.01 para Windows®** (SPSS Inc. 1989-2003). Las variables se describieron mediante la **media** y la **desviación Standard**. Para comprobar la existencia de diferencias entre muestras se utilizó el **test de la “t de Student”** con un **nivel de significación de p<0.05**.

III.II.- ESTUDIO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL.

Desde el punto de vista nutritivo, en la presente tesis doctoral se ha pretendido evaluar la **influencia** que los dos tratamientos tecnológicos estudiados (**cocinado tradicional** y **procesado sous-vide**) tienen sobre el **valor nutritivo de la trucha arco-iris**.

Este estudio se dividió a su vez en dos partes, por un lado se estudiaron los **cambios de composición en nutrientes resultantes de los procesos involucrados** (tratamiento y almacenamiento) y por otro, las **modificaciones en la calidad de algunos nutrientes**, realizando para ello un **experimento biológico** (ensayos en animales).

III.II.1.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Al igual que en el caso anterior, todo el proceso de preparación de las muestras que se describe a continuación fue realizado en las instalaciones del **Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL)** de la **Universidad de León**.

Para la realización de este trabajo se adquirieron las truchas en distintos establecimientos de la **ciudad de León**, con un **peso medio**, una vez **visceradas**, de **370,2 ± 31,3 gramos**. A continuación **se eliminaron la cabeza y la cola**, se **abrieron en abanico**, **retirándose las espinas y lavando con agua fría** para eliminar los restos de vísceras, partes duras y cualquier otra sustancia que pudiera llevar adherida. Se **escurrieron en papel de filtro** presionando suavemente con la mano para eliminar el agua sobrante.

El **peso medio final de los lomos de trucha** fue de **217,0 ± 25,9 gramos**. Éstos se separaron de forma aleatoria en tres grandes lotes:

- **LOTE T** (trucha cruda),
- **LOTE Tt** (trucha procesada de modo tradicional), y por último,
- **LOTE Tv** (trucha procesada mediante la tecnología *sous-vide*) según el esquema adjunto (Figura 1).

El **lote T**, corresponde a los **filetes de trucha arco-iris crudos** que se utilizarán como referencia. Se analizaron a día 0 (**muestras T**) y tras su almacenamiento a refrigeración a 2° C durante tres días (**muestras T₃**). El **lote Tt**, corresponde a los **filetes de**

trucha que van a ser cocinados de forma tradicional. Todos los filetes fueron **sazonados con sal** (1,35 gramos/filete) y **orégano** (0,03 gramos/filete).

Como se puede ver en la figura 1, este **lote Tt se subdivide a su vez en tres sublotos**. El primero de ellos corresponde a los **filetes cocinados sin aceite**; para ello se procedió a su inmersión en **2,5 litros de agua hirviendo durante 7 minutos**. A continuación se escurrieron y se les añadió la **guarnición de vegetales** compuesta por **patata** (Bonduelle, Madrid, España), **zanahoria** (Celorrio, La Rioja, España) y **guisantes** (Orlando, Zaragoza, España), todos ellos en conserva (**muestras Tt**). El plato así preparado se conservó a refrigeración (2° C) durante tres días, al cabo de los cuales se **recalentó en un horno microondas** marca Teka modelo MW 206 (Ilhavo, Portugal) a una frecuencia de 2.450 MHz, durante un minuto y medio (**muestras Tt₃**).

Los sublotos segundo y tercero corresponden a los **filetes de trucha cocinados a la plancha con aceite de oliva virgen 0.8°** de la marca COOSUR (**muestras TtO**) o **aceite de girasol 0.2°** marca COOSUR (**muestras Ttg**). En ambos casos, la duración del proceso osciló entre 1 minuto y 1 minuto y medio en función del tamaño del filete de trucha. Posteriormente se les añadió la guarnición del mismo modo que lo explicado anteriormente y se almacenaron a refrigeración (2° C) durante tres días, al cabo de los cuales las muestras fueron recalentadas en un horno microondas, durante un minuto y medio (**muestras TtO₃** y **Ttg₃**).

El **lote Tv**, incluye aquellas **muestras de trucha procesadas mediante la tecnología sous-vide**. Para ello se utilizaron las instalaciones y la tecnología de la Empresa de Catering “**De Celis S.L.**” (León). Esta empresa suministra diariamente comidas a más de 1.500 escolares leoneses y a diversas residencias de la tercera edad, utilizando la tecnología “sous-vide” en la elaboración de todos sus menús.

El tratamiento aplicado fue el comercial que habitualmente emplea esta empresa para los platos de pescado y se realizó en las siguientes etapas:

- 1º. **MARCADO**: Los filetes de trucha arco-iris, destinados al tratamiento sous-vide, se subdividieron nuevamente en tres sublotos. Dos de ellos se sometieron a un proceso de **marcado en sartén (con aceite de oliva ó con aceite de girasol)**, con objeto de mejorar las características organolépticas finales del plato. El otro lote no se marco con aceite, con objeto de procesarlo “en su jugo”. (Imagen 1).



2º. **ENSAMBLADO:** El pescado de los tres lotes se ensambló con la guarnición (patata, zanahoria y guisantes en conserva) y se introdujo en bolsas de polietileno-poliámida con una permeabilidad al oxígeno de 25-30 cm³/m² cada 24 horas y una permeabilidad al vapor de agua de 5g/m²/ 24 horas a 25° C (CRIOVAC C300), extrayendo el oxígeno del envase y sellando al vacío en una envasadora a vacío de pulmón automática (TECNOTRIP). (Imágenes 2 y 3)



3º. **PASTEURIZACIÓN:** El tratamiento térmico se controló con una sonda SURDRY situada en el centro del alimento, en un autoclave de la misma marca, modelo A-142 (Bilbao, España) de 1.200 kg de presión, con equipo de software marca KALIDOS. (Imagen 4).



Imagen 3. Envasadora discontinua.
Envasado a vacío.

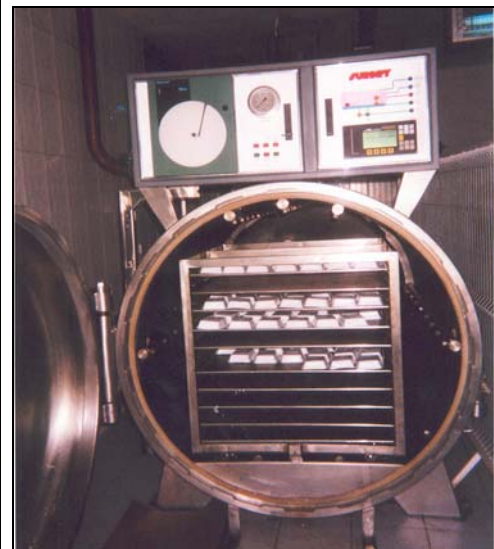


Imagen 4. Autoclave discontinuo.
Tratamiento térmico

El programa de tiempo/temperatura utilizado consta de 3 fases: primero, una fase de calentamiento en la cual se pasa de 28° C a 90° C en unos 10 minutos, a continuación una fase de mantenimiento a 90° C durante 15 minutos y por último una fase de enfriamiento, donde se alcanzan otra vez los 28° C en aproximadamente 10 minutos. (Imagen 5).

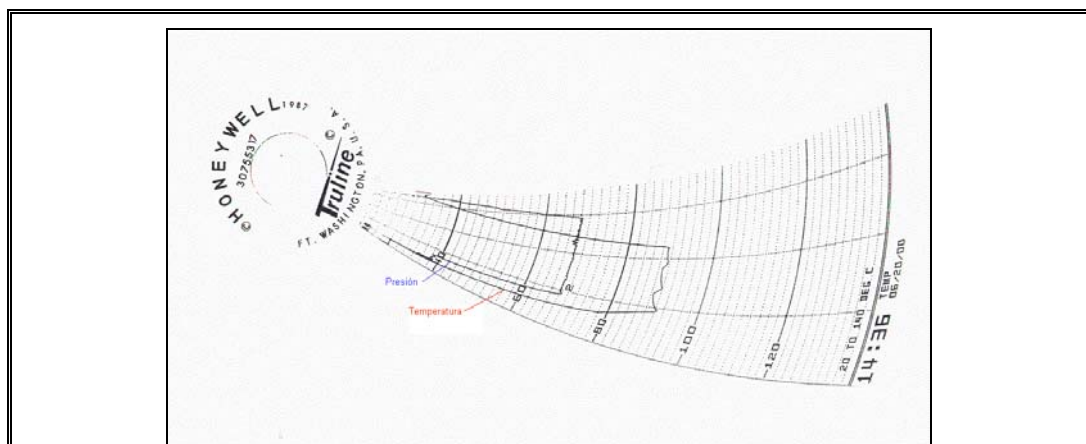


Imagen 5. Registro de tiempo, temperatura, y presión del cocinado “sous-vide”.

4°. **ENFRIAMIENTO RÁPIDO:** El enfriamiento se realizó en un **abatidor de frío** de la marca MATACHANA (bimotor 230 W) con termo-registrador (IRINOX) con capacidad de alcanzar los 32° C en 21,5 minutos y 0-2° C en 45 minutos. Las muestras se han denominado de la siguiente forma:

- **Tv** (*trucha procesada sous-vide sin aceite*)
- **TvO** (*trucha procesada sous-vide en aceite de oliva*)
- **Tvg** (*trucha procesada sous-vide en aceite de girasol*)

5°. **ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN:** Los platos preparados se conservaron a refrigeración a 2° y 10° C (simulando la ruptura de la cadena del frío) tomándose muestras a cada una de las dos temperaturas y tres tipos de cocinado a los **3, 21 y 45 días de almacenamiento** tras su recalentamiento en horno microondas marca Teka modelo MW 206 (Ilhavo, Portugal) a una frecuencia de 2450 MHz, durante un minuto y medio.

Las **muestras de filetes de trucha arco-iris cocinadas “en su jugo” y almacenadas a refrigeración a 2 y 10° C durante 0, 3, 21 y 45 días** las denominaremos:

Tiempo de almacenamiento	Temperatura de almacenamiento	
	2°C	10°C
Día 3	Tv ₃ (2°)	Tv ₃ (10°)
Día 21	Tv ₂₁ (2°)	Tv ₂₁ (10°)
Día 45	Tv ₄₅ (2°)	Tv ₄₅ (10°)

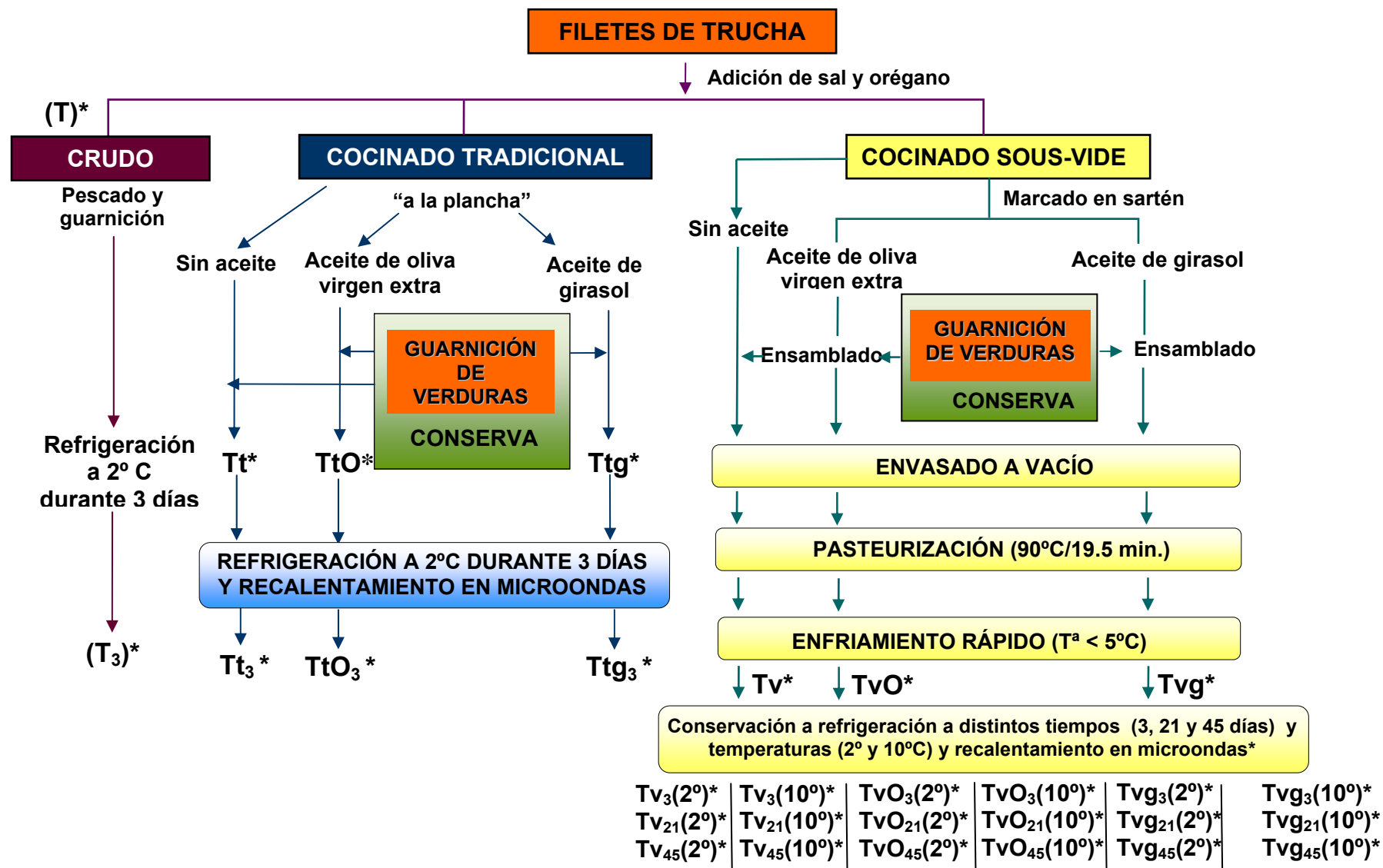
De la misma forma, las **muestras de trucha cocinadas sous-vide con aceite de oliva y almacenadas a refrigeración a 2 y 10° C durante 0, 3, 21 y 45 días** las denominaremos:

Tiempo de almacenamiento	Temperatura de almacenamiento	
	2°C	10°C
Día 3	TvO ₃ (2°)	TvO ₃ (10°)
Día 21	TvO ₂₁ (2°)	TvO ₂₁ (10°)
Día 45	TvO ₄₅ (2°)	TvO ₄₅ (10°)

Y las cocinadas con **aceite de girasol**:

Tiempo de almacenamiento	Temperatura de almacenamiento	
	2°C	10°C
Día 3	Tvg ₃ (2°)	Tvg ₃ (10°)
Día 21	Tvg ₂₁ (2°)	Tvg ₂₁ (10°)
Día 45	Tvg ₄₅ (2°)	Tvg ₄₅ (10°)

Figura 1: ESQUEMA DE LA PREPARACIÓN DE LOS PLATOS DE TRUCHA ARCO-IRIS Y VEGETALES



III.II.2.- ESTUDIO DEL CONTENIDO EN NUTRIENTES DEL ALIMENTO A LO LARGO DEL ALMACENAMIENTO EN LOS DISTINTOS TIPOS DE PROCESADOS.

III.II.2.1.- TOMA DE MUESTRA Y ANÁLISIS REALIZADOS

La toma de muestras se llevó a cabo en cada una de las etapas señaladas con asterisco en la Figura 1, y que se encuentran agrupadas en la tabla 2. En cada una de estas muestras se determinó el **contenido en humedad y macronutrientes (proteína, grasa, azúcares y cenizas)** y también el **contenido en minerales (Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn y P), ácidos grasos y aminoácidos**.

TABLA 2a. NOMENCLATURA UTILIZADA EN LAS MUESTRAS Y SU DESCRIPCIÓN. TRUCHA CRUDA Y PROCESADA POR EL MÉTODO TRADICIONAL	
MUESTRA	DESCRIPCIÓN
T	Trucha cruda
T ₃	Trucha cruda almacenada 3 días a 2° C.
Tt	Trucha recién cocinada por el método tradicional y sin aceite.
Tt ₃	Trucha cocinada método tradicional sin aceite tras 3 días de almacenamiento a 2° C.
TtO	Trucha recién cocinada método tradicional en aceite de oliva.
TtO ₃	Trucha cocinada método tradicional en aceite de oliva tras 3 días de almacenamiento a 2° C.
Ttg:	Trucha recién cocinada método tradicional en aceite de girasol.
Ttg ₃	Trucha cocinada método tradicional en aceite de girasol tras 3 días de almacenamiento a 2° C.

TABLA 2b. NOMENCLATURA UTILIZADA EN LAS MUESTRAS Y SU DESCRIPCIÓN (continuación). TRUCHA PROCESADA SOUS VIDE.	
MUESTRA	DESCRIPCIÓN
Tv	Trucha recién procesada <i>sous-vide</i> sin aceite.
Tv₃(2°C)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> sin aceite tras 3 días de almacenamiento a 2° C.
Tv₃(10°C)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> sin aceite tras 3 días de almacenamiento a 10° C.
Tv₂₁(2°C)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> sin aceite tras 21 días de almacenamiento a 2° C.
Tv₂₁(10°C)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> sin aceite tras 21 días de almacenamiento a 10° C.
Tv₄₅(2°C)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> sin aceite tras 45 días de almacenamiento a 2° C.
Tv₄₅(10°C)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> sin aceite tras 45 días de almacenamiento a 10° C.
TvO	Trucha recién procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva.
TvO₃(2°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva tras 3 días de almacenamiento a 2° C.
TvO₃(10°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva tras 3 días de almacenamiento a 10° C.
TvO₂₁(2°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva tras 21 días de almacenamiento a 2° C.
TvO₂₁(10°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva tras 21 días de almacenamiento a 10° C.
TvO₄₅(2°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva tras 45 días de almacenamiento a 2° C.
TvO₄₅(10°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de oliva tras 45 días de almacenamiento a 10° C.
Tvg	Trucha recién procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol.
Tvg₃	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 3 días de almacenamiento a 2° C.
Tvg₃(2°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 3 días de almacenamiento a 2° C.
Tvg₃(10°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 3 días de almacenamiento a 10° C.
Tvg₂₁(2°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 21 días de almacenamiento a 2° C.
Tvg₂₁(10°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 21 días de almacenamiento a 10° C.
Tvg₄₅(2°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 45 días de almacenamiento a 2° C.
Tvg₄₅(10°)	Trucha procesada <i>sous-vide</i> en aceite de girasol tras 45 días de almacenamiento a 10° C.

III.II.2.2.- TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS

- **Determinación del contenido en humedad:** se determinó por **dsecación de la muestra en una estufa (marca SELECTA) de aire forzado a una temperatura de $100 \pm 2^\circ \text{C}$, hasta peso constante.** El contenido en agua el alimento se determinó por diferencia de pesada antes y después del tratamiento. (AOAC, 1993).



Estufa SELECTA

- **Determinación del contenido en proteína:** Mediante la **determinación de Nitrógeno total** por el **MÉTODO KJELDAHL**. La conversión de nitrógeno a proteína se realizó multiplicando por el **factor de conversión 6,25**. El método consiste en carbonizar y oxidar las sustancias orgánicas del alimento al calentarlas con sulfúrico concentrado, provocando así, la transformación del nitrógeno en amonio, usando como catalizadores selenio y sulfato potásico. El amonio, al añadir sosa cáustica se transformó en amoniaco, que se destiló sobre una solución de ácido bórico y se tituló con ácido clorhídrico.

Se utilizaron los siguientes equipos: un **digestor BÜCHI 435**, un **destilador BÜCHI (B-323)** y un **valorador automático METROHM (719S Titrino)**. (AOAC, 1993).

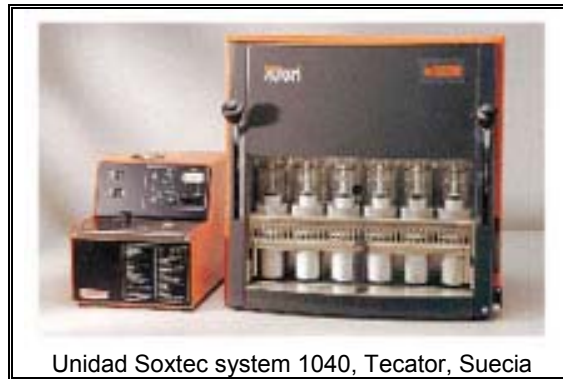


Digestor BÜCHI 435

Destilador BÜCHI B-323

Valorador METROHM
719S Titrino

- **Determinación del contenido en grasa total:** La grasa contenida en el alimento fue determinada por extracción directa con éter de petróleo (BP 40-60°) mediante el SISTEMA SOXTEC de extracción continua (soxtec system 1040, Tecator, Suecia).



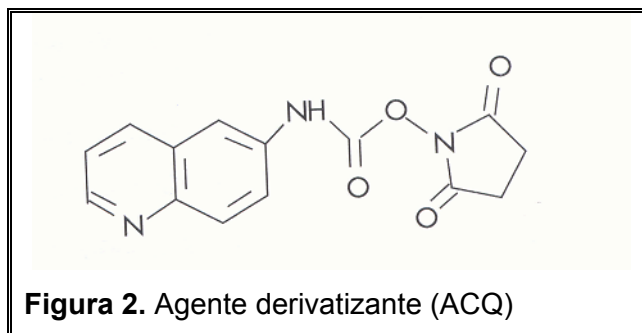
- **Determinación del contenido en cenizas:** El cálculo del porcentaje de cenizas del alimento se determinó por diferencia de peso con respecto a la muestra inicial mediante la incineración de la misma en un horno mufla a 450° C (Vulcan 3-550 Ney). (AOAC, 1993).
- **Determinación del contenido en minerales:** Los minerales se analizaron en el filtrado de la disolución ácida de las cenizas (HCl/ HNO₃/ H₂O en las proporciones 1/1/2). Los elementos Calcio, Magnesio, Sodio, Potasio, Hierro, Cobre y Zinc se determinaron por ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA-EAA (Varian Spectr AA-200). Para la determinación del Calcio y del magnesio fue necesario adicionar a muestras y estándares cloruro de lantano (LaCl) al 0,5% con el fin de evitar posibles interferencias. El fósforo se determinó por ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ATÓMICA EN PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE ICP-AES (Perkin Elmer mod 1000).



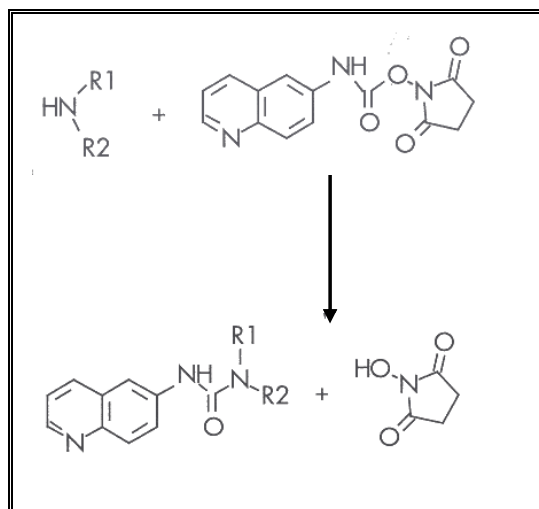
- **Determinación del contenido en aminoácidos:** El análisis del contenido en aminoácidos de las muestras se realizó mediante **hidrólisis ácida de la proteína con ácido clorhídrico (HCl) 6N, en atmósfera de nitrógeno, a una temperatura de 110° C, durante 24 horas.** El ácido se evaporó a sequedad en un **rotavapor (BÜCHI R-114)** lavando con **agua bidestilada (Milli Q)** varias veces. El residuo seco se redisolvió en un **tampón de citrato de litio (pH 2.2)** y se **congeló a -30° C** hasta su análisis. Como **estándar interno** se utilizó el **ácido γ -aminobutírico**. Las muestras así tratadas se analizaron por **CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) (Waters módulo de separación 2690)** con detector de fluorescencia (Waters 474) tras su derivatización por el sistema AccQ-Tag.



El método AccQ-Tag se basa en un agente derivatizante desarrollado específicamente para el análisis de aminoácidos, 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil carbamato (ACQ). (Figura 2)



El agente derivatizante reacciona rápidamente con los aminoácidos primarios y secundarios para producir ureas altamente estables que presentan fluorescencia a 395 nm. La reacción que se produce aparece esquematizada en la siguiente Figura:



Como fases móviles se utilizaron: Fase A Tampón AccQ-Tag; Fase B acetonitrilo, Fase C Agua Milli Q. El gradiente utilizado con los distintos solventes, durante el proceso fue el siguiente:

Tiempo	Flujo	%A	%B	%C
Inicial	1.0	100	0	0
0.5	1.0	99	1	0
18.0	1.0	95	5	0
19.0	1.0	91	9	0
29.5	1.0	83	17	0
33.0	1.0	0	60	40
36.0	1.0	100	0	0
65.0	1.0	0	60	40
100.0	0.0	0	60	40

La columna AccQ-Tag utilizada es una columna Nova-PakTM C18, 4 μm . Como estándar externo se utilizó una ampolla (1ml) que contiene una mezcla 2.5 mM de 17 aminoácidos hidrolizados, con excepción de la cisteína que se encuentra en concentración 1.25 mM.

- **Determinación del contenido en ácidos grasos:** La extracción de la grasa alimentaria se realizó con cloroformo/metanol siguiendo el **método de Bligh & Dyer**, (1959), efectuándose sobre el extracto una purificación mediante lavado con una mezcla $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ /solución de NaCl 0.58% (3:48:47) según el **método de Folch et al.**, (1957). El extracto clorofórmico ya purificado se evapora en un rotavapor (BÜCHI R-114) hasta sequedad.

Para el análisis cromatográfico de los ácidos grasos procedentes de la grasa extraída del alimento se siguió la **técnica de Metcalfe et al., (1966) ligeramente modificada por Figueroa (1984) e Higon (1985)** realizándose en tres etapas: 1º) saponificación con sosa en metanol 0.5M; 2º) metilación de los ácidos grasos con $\text{BF}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ y 3º) extracción de los ésteres metílicos con hexano. La cuantificación de los ácidos grasos se realizó mediante **CROMATOGRAFÍA GASEOSA**, utilizando un equipo **Hewlett Packard GC-6890 con detector de masas HP5973**. El gas transportador utilizado fue Helio y la columna una capilar Omegawax 250 (30m x 0.25mm x 0.25 μm), cuya fase estacionaria está compuesta por polietilenglicol.



Cromatógrafo de Gases HP-6890 con detector de masas HP-5973

La temperatura inicial de la columna fue de 150° C y la final de 240° C, el incremento de temperatura se realizó con las siguientes rampas: Rampa 1: de 150° C a 200° C (a razón de 10° C/ min.) y Rampa 2: de 200° C a 240° C (a razón de 1° C/ min.). La temperatura del inyector fue de 200° C, a una presión de 7,64 psi y un flujo de 53.4 ml/min. El tamaño de la muestra fue de 1 μl . La identificación de los picos se realizó comparando sus tiempos de retención absolutos y relativos con aquellos de patrones comerciales (*Lipid Standard fatty acid methyl ester mixture* 189-19, Sigma, St, Louis, USA).

III.II.2.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

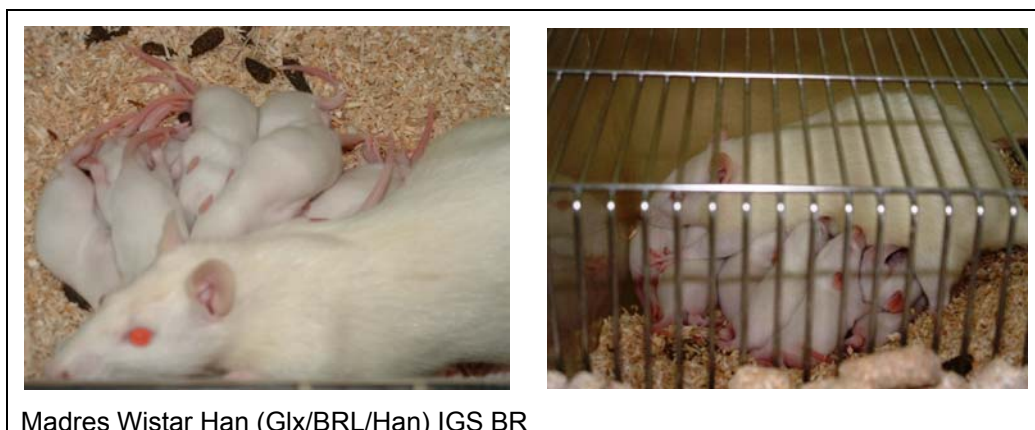
El estudio estadístico de los datos se realizó en primer lugar con un análisis de la distribución de las distintas variables de lo que se obtuvo que cada una de ellas, en el conjunto de la muestra seguía una distribución próxima a lo normal, por lo que se optó por la realización de **pruebas paramétricas asumiendo la normalidad en los grupos**.

El modelo aplicado es un modelo jerarquizado en el cual se realizaron **Análisis de Varianza (ANOVA) de cuatro vías** (con 4 fuentes de variación) para cada uno de los parámetros evaluados, obteniéndose que todos ellos fueran significativos. ANOVA de 4 vías: **Tratamiento, Aceite, Temperatura** (Tratamiento), **Tiempo** (Tratamiento) Obteniéndose R^2 en los ANOVA cercanos a 1 lo cual nos indica que se trataba de un buen modelo. La homogeneidad de varianzas se comprobó con el contraste de Levene. El **nivel mínimo de significación** se estableció en el 5% y se expresará en todos los casos como $p < 0.05$. Los test de pares empleados para la comparación entre muestras fueron el **test LSD** y el **test de Tamhane** en aquellos casos en los que no se cumplía la condición de homogeneidad de varianzas. En todas las pruebas se utilizó el **programa SPSS 12.0 para Windows versión 12.0.1**. (SPSS Inc., 1989-2003)

III.II.3.- ENSAYO BIOLÓGICO.

III.II.3.1.- ANIMALES E INSTALACIONES

Para todos los ensayos se utilizaron **ratas Wistar Han seleccionadas en el momento del destete (21 días)** a partir de ratas madres gestantes **Wistar Han (Glx/BRL/Han) IGS BR** suministradas por **Charles River Laboratories®** (Les Oncins-Lyon, Francia). Se utilizaron un total de **70 ratas** con un **peso medio de $40,0 \pm 0,5$ gramos**, distribuidas en **7 lotes de 10 ratas cada uno (5 machos y 5 hembras)**. Cada rata fue introducida en una **jaula metabólica individual** que permite la **recogida por separado de heces y orina**, así como el **control de la ingesta**. Las jaulas se mantuvieron durante todo el estudio en una **cámara termorregulada a $22 \pm 2^\circ \text{C}$** , con una **humedad relativa del 60-70 %** y con un **fotoperiodo controlado de luz-oscuridad de 12-12 horas**.





Células metabólicas individuales

Todo el estudio se realizó en el **Servicio Animalario Universitario de la Universidad de León** (Campus de Vegazana) registrado como establecimiento usuario en el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), con el n° 24089-25^a, de acuerdo a lo establecido por la legislación española y europea (Real Decreto 223/1988 de 14 de Marzo del MAPA, sobre la protección de los animales utilizados en experimentación animal y con otros fines científicos, y la Directiva del Consejo de Europa UE86/609/CEE).

**EDIFICIO ANIMALARIO de la UNIVERSIDAD DE LEÓN. Campus de Vegazana. León**

III.II.3.2.- DISEÑO Y ELABORACIÓN DE LAS DIETAS

Se elaboraron dietas **semisintéticas e isocalóricas, ajustadas a las necesidades nutricionales de las ratas**, cuyos **ingredientes** son los siguientes:

- **almidón de trigo** (Cerestar Ibérica SA, Barcelona)
- **sacarosa** (Pasty Line SA, Madrid)
- **celulosa microcristalina** (Manuel Riesgo SA, Madrid)
- **aceite de oliva virgen extra** (Puleva SA, Granada),
- **corrector vitamínico** (Sigma-Aldrich, Steinheim)
- **corrector mineral** (Merck, Darmstadt)
- **antioxidantes BHT y BHA (50:50)** (Merck, Darmstadt)
- Según los ensayos, la **fente proteica** estaba constituida, o bien por **caseína láctica** (Manuel Riesgo SA, Madrid), suplementada con **DL-Metionina** (Sigma-Aldrich, Steinheim), o bien por **trucha cruda (T)** o **trucha procesada (TtO, TvO₃ (2°), TvO₃ (10°), TvO₂₁ (2°) y TvO₄₅ (2°))**:
 - **Dieta I: Caseína (dieta control)**
 - **Dieta II: Trucha cruda (T)**
 - **Dieta III: Trucha cocinada tradicional en aceite de oliva (TtO)**
 - **Dieta IV: Trucha procesada (TvO₃ 2°)**
 - **Dieta V: Trucha procesada (TvO₃ 10°)**
 - **Dieta VI: Trucha procesada (TvO₂₁ 2°)**
 - **Dieta VII: Trucha procesada (TvO₄₅ 2°)**

Hay que tener en cuenta que para satisfacer el **aporte proteico del 10 %** en las dietas a base de trucha cruda ó procesada *sous-vide* (Dietas II a VII), el alimento además de proteína, esta aportando subsidiariamente una cantidad de grasa y de sales minerales. El **aporte de minerales satisfecho por el pescado fue descontado del corrector mineral exógeno añadido a la dieta.**

Con el objetivo de conseguir una correcta homogenización de todos los ingredientes, todas las dietas fueron pasadas por **tamices de 1,000, 0,500 y 0,250 milímetros de diámetro de poro** (CISA, Barcelona).

La **composición en nutrientes teórica de las dietas ajustadas a las recomendaciones dietéticas del *National Research Council* (1995) para este animal y**

fase de crecimiento, fue de: proteína 10%, grasa 10%, fibra 5%, hidratos de carbono (almidón, azúcar 50:50) los análisis de las mismas en la tablas I, II y III. Los componentes del corrector vitamínico y mineral completo se indican a su vez, en los esquemas B y C.

III.II.3.3.- ESQUEMA EXPERIMENTAL

Esta experiencia ha comprendido un **periodo inicial de adaptación a la dieta de las ratas recién destetadas** que duró **5 días** (del día 0 al día 5). A continuación, se realizó el **balance de nitrógeno y minerales (Ca, P, Mg, Fe, Cu y Zn)**, que duró **7 días** (del día 5 al día 12, ver imagen en la siguiente página); durante los cuales se procedió tanto a la **recogida diaria de heces y orina** como al **pesado de animales y control de la ingesta**. Se **sacrificaron** posteriormente todas las ratas procediéndose a la **extracción de hígado, bazo** y a la toma de muestras de **piel**.

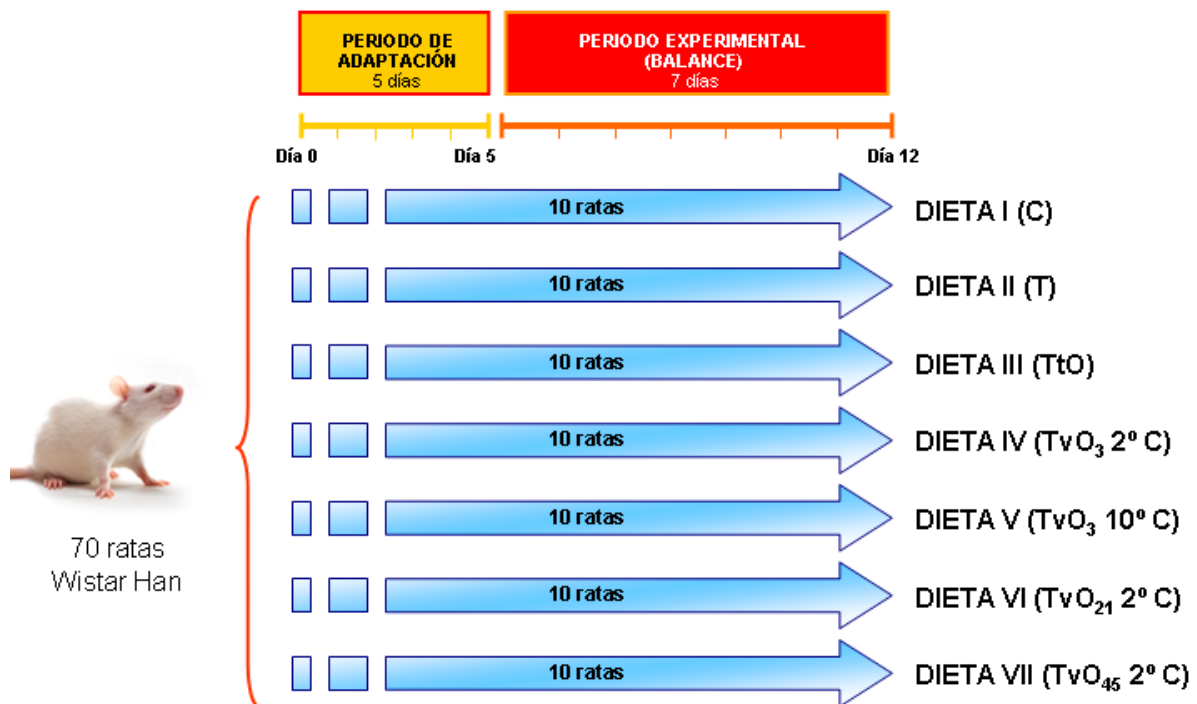


Figura: ESQUEMA EXPERIMENTAL

El **balance de nitrógeno** se realizó siguiendo la **técnica descrita por H.H. Mitchell (1924)** pero sin periodo endógeno. Durante toda la experiencia, tanto la comida como la **bebida (agua desionizada) se administraron "ab libitum"**. La **recogida de orina** correspondiente a los periodos de balance se llevó a cabo **sobre ácido clorhídrico al 5 ‰** (Merck, Darmstadt), filtrándose a través de papel Whatman N°41 (Whatman, Clifton, NY) y se enrasó a 500 ml con la misma disolución, congelándose a -30° C hasta el momento de su análisis. Para evitar posibles errores en el análisis de la orina, debidos a la contaminación ambiental, o de los recipientes, se prepararon blancos adecuados durante el periodo de balance que se manipularon de la misma forma que las muestras hasta el análisis final.

Las **heces** se pesaron, secaron y homogenizaron, incinerándose una parte para la determinación de minerales y destinándose otra para el análisis de su contenido en nitrógeno. Los **hígados, bazo y muestras de piel** de las ratas obtenidas en el momento del sacrificio se limpiaron cuidadosamente, **se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido** (Air Liquide, Asturias), se pesaron y posteriormente se almacenaron a -30° C hasta el momento de su análisis.



Imagen: Recogida de hígados, bazo y piel tras el sacrificio de las ratas

III.II.3.4.- PARÁMETROS CONTROLADOS

Durante el experimento se controlaron los siguientes parámetros:

- **Peso de los animales:** Las **pesadas** de los animales se realizaron en ayunas los **días 0, 5, 8 y 12** de la experiencia, según la **técnica del PER (Protein Efficiency Ratio)**; empleándose para ello una **balanza Sartorius BP 3100 S** (Sartorius, Göttingen).

- **Ingesta sólida**: se realizó durante los periodos de balance de forma individualizada y por diferencia de peso entre el bote lleno (ajustado a un peso determinado) y el bote tras la ingesta. Se empleó una **balanza Sartorius BP 3100 S** (Sartorius, Göttingen), ajustando a la segunda cifra decimal.
- **Eliminación fecal y urinaria de nitrógeno**.
- **Eliminación fecal y urinaria de los siguientes minerales**: calcio, magnesio, fósforo, hierro, cobre y zinc.
- **Concentración de hierro, cobre y zinc en hígado, bazo y piel**.

III.II.3.5.- ÍNDICES UTILIZADOS

Se determinaron los siguientes parámetros:

- **Eficacia alimentaria (EA)**: definida como el **incremento de peso en gramos por ingesta de sustancia seca en gramos**.

$$EA = \frac{\text{Incremento de peso por día}}{\text{g sustancia seca ingerida por día}}$$

- **Coeficiente de eficacia en Crecimiento (CEC) (o Protein Efficiency Ratio, PER)**: definido como el **incremento de peso en gramos por la ingesta proteica en gramos**.

$$PER = \frac{\text{Incremento de peso (g)}}{\text{Ingesta proteica (g)}}$$

- Para el estudio de los **balances de nitrógeno** se han adoptado los siguientes índices:

- **Nitrógeno absorbido (A)**: Diferencia entre el **nitrógeno ingerido (I)** y el **nitrógeno eliminado por vía fecal (F)**.

$$A = I - F$$

- **Nitrógeno retenido (R)**: Diferencia entre el **nitrógeno absorbido (A)** y el **nitrógeno eliminado por vía urinaria (O)**.

$$R = A - O = (I - F) - O$$

- **Coefficiente de Digestibilidad Aparente (CDA)**: definido como la cantidad de nitrógeno absorbido con respecto al nitrógeno ingerido, referido a 100.

$$CDA = \% A / I = \frac{(I - F)}{I} \times 100$$

- **Valor Biológico Aparente (VBA)**: Cantidad de **nitrógeno retenido** con respecto al nitrógeno absorbido, referido a 100.

$$VBA = \% R / A = \frac{(I - F) - O}{(I - F)} \times 100$$

- **Utilización Neta de la Proteína (UNP)**: Cantidad de **nitrógeno retenido** con respecto al nitrógeno ingerido, referido a 100.

$$UNPA = \% R / I = \frac{(I - F) - O}{I} \times 100$$

- Para el estudio de los **balances de los minerales** (Ca, Mg, P, Fe, Cu y Zn) se han adoptado los siguientes índices:

- **Mineral Absorbido (A)**: Diferencia entre el **mineral ingerido (I)** y el **eliminado por vía fecal (F)**.

$$A = I - F$$

- **Mineral Retenido (R)**: Diferencia entre el **mineral absorbido (A)** y el **eliminado por vía urinaria (O)**.

$$R = A - O = (I - F) - O$$

- **Utilización Digestiva:** definido como la **cantidad de mineral absorbido con respecto al ingerido, referido a 100.**

$$\% A / I = \frac{(I - F)}{I} \times 100$$

- **Utilización Metabólica:** Cantidad de **mineral retenido con respecto al absorbido, referido a 100.**

$$\% R / A = \frac{(I - F) - O}{(I - F)} \times 100$$

- **Utilización Nutritiva ó Biodisponibilidad:** Cantidad de **mineral retenido con respecto al ingerido, referido a 100.**

$$\% R / I = \frac{(I - F) - O}{I} \times 100$$

III.II.3.6.- COMPOSICIÓN DEL CORRECTOR VITAMÍNICO

COMPOSICIÓN DEL CORRECTOR VITAMÍNICO (mg / Kg de dieta)

Colina.....	1.111,1
Ácido fólico.....	1,11
Niacina (pp).....	22,22
Pantotenato de Ca	8,88
Riboflavina (Vit. B ₂).....	3,33
Tiamina (Vit. B ₁).....	4,44
Vitamina B ₆	6,66
Vitamina B ₁₂	0,055
Vitamina A.....	4.400 UI
Vitamina D ₃	1.111 UI
Vitamina K (menadiona).....	0,055
Vitamina E.....	33,33

III.II.3.7.- COMPOSICIÓN DEL CORRECTOR MINERAL

COMPOSICIÓN DEL CORRECTOR MINERAL

(mg / Kg de dieta)

Ioduro potásico.....	0,021
Sulfato de cobre 5 H ₂ O	2,664
Fluoruro sódico	0,243
Sulfato de manganeso. H ₂ O	16,920
Sulfato ferroso. 7 H ₂ O.....	19,920
Cloruro sódico.....	90.603
(CO ₃ Mg) ₄ (MgOH) ₂	88,68
Sulfato de magnesio. 7 H ₂ O.....	225
Fosfato ácido de calcio.....	680
Fosfato monopotásico.....	820
Fosfato monosódico (NaH ₂ PO ₄).....	294,38
Carbonato cálcico.....	1.000
Hidroxicarbonato de zinc.....	2.233
Bicarbonato potásico.....	610.343
Cromato sódico.....	0,11
Selenito de sodio.....	0,024

III.II.3.8.- ANÁLISIS DEL CONTENIDO EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO

CONTENIDO EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO DE LA TRUCHA (g/100 g dieta)

DIETA	HUMEDAD	PROTEÍNA	GRASA	CENIZAS
Caseína	5.40 ± 0.05	9.46 ± 0.17	7.62 ± 0.40	2.89 ± 0.19
T	4.92 ± 0.09	9.51 ± 0.06	7.70 ± 0.06	3.51 ± 0.03
TtO	4.92 ± 0.10	9.59 ± 0.31	7.60 ± 0.09	3.66 ± 0.05
TvO ₃ 2°C	5.01 ± 0.09	9.52 ± 0.11	7.67 ± 0.15	3.51 ± 0.09
TvO ₃ 10°C	4.91 ± 0.01	9.55 ± 0.13	7.53 ± 0.20	3.52 ± 0.11
TvO ₂₁ 2°C	4.94 ± 0.07	9.50 ± 0.08	7.68 ± 0.01	3.15 ± 0.11
TvO ₄₅ 2°C	4.90 ± 0.05	9.55 ± 0.04	7.66 ± 0.02	3.46 ± 0.31

Valores medios ± desviación Standard

CONTENIDO EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO DE LA TRUCHA (g/100 g sustancia seca)

DIETA	PROTEÍNA	GRASA	CENIZAS
Caseína	10.00 ± 0.18	8.06 ± 0.43	3.05 ± 0.20
T	10.01 ± 0.06	8.09 ± 0.06	3.69 ± 0.03
TtO	10.09 ± 0.33	8.00 ± 0.09	3.85 ± 0.05
TvO ₃ 2°C	10.02 ± 0.12	8.08 ± 0.15	3.69 ± 0.10
TvO ₃ 10°C	10.05 ± 0.14	8.00 ± 0.22	3.70 ± 0.11
TvO ₂₁ 2°C	10.00 ± 0.08	8.08 ± 0.02	3.32 ± 0.12
TvO ₄₅ 2°C	10.04 ± 0.05	8.06 ± 0.02	3.64 ± 0.32

Valores medios ± desviación Standard

III.II.3.9.- ANÁLISIS DEL CONTENIDO EN ALGUNOS MINERALES DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO

CONTENIDO EN Ca, Mg, P, Na, K, Fe, Cu y Zn DE LAS DIETAS UTILIZADAS EN EL ENSAYO DE LA TRUCHA

DIETA	<u>Calcio</u>	<u>Magnesio</u>	<u>Fósforo</u>	<u>Sodio</u>	<u>Potasio</u>	<u>Hierro</u>	<u>Cobre</u>	<u>Zinc</u>
	(mg/g dieta)			(µg/g dieta)				
Caseína	5.99 ± 0.16	0.51 ± 0.04	4.40 ± 0.20	0.81 ± 0.09	3.28 ± 0.17	46.12 ± 3.71	7.50 ± 0.57	53.51 ± 7.13
T	7.16 ± 0.16	0.75 ± 0.02	4.72 ± 0.11	1.64 ± 0.06	3.46 ± 0.10	50.68 ± 5.63	8.48 ± 0.66	43.12 ± 6.34
TtO	6.57 ± 0.21	0.65 ± 0.03	5.32 ± 0.21	2.25 ± 0.06	5.52 ± 0.28	55.72 ± 6.48	7.12 ± 0.69	50.82 ± 7.61
TvO ₃ 2°C	6.14 ± 0.13	0.58 ± 0.03	4.77 ± 0.29	1.44 ± 0.09	4.67 ± 0.28	73.56 ± 9.00	9.14 ± 0.78	43.38 ± 7.20
TvO ₃ 10°C	6.54 ± 0.19	0.62 ± 0.04	4.89 ± 0.34	1.52 ± 0.10	4.76 ± 0.26	59.99 ± 4.36	8.85 ± 0.69	43.72 ± 6.37
TvO ₂₁ 2°C	6.82 ± 0.31	0.63 ± 0.02	5.07 ± 0.22	1.56 ± 0.07	4.95 ± 0.22	64.72 ± 7.73	12.11 ± 0.86	51.32 ± 7.09
TvO ₄₅ 2°C	6.48 ± 0.32	0.62 ± 0.04	5.00 ± 0.31	1.57 ± 0.16	4.79 ± 0.32	62.71 ± 7.02	11.47 ± 0.91	46.92 ± 6.32

Valores medios ± desviación Standard

III.III.- ESTUDIO DE LA CALIDAD SENSORIAL.

III.III.1.- PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Para el análisis sensorial se seleccionaron las **muestras de trucha arco-iris cocinadas de modo tradicional y procesadas mediante la tecnología *sous-vide***, ambas con **aceite de oliva** recién preparados (**muestras TtO y TvO**) y también almacenadas a refrigeración (2° C) durante tres días (**muestras TtO₃ y TvO₃ (2°)**). (Ver figura 1).

III.III.2.- TIPOS DE PRUEBAS

Con el fin de **describir**, y en algunos casos **cuantificar**, los **atributos perceptibles** que inciden en la calidad global de la trucha arco-iris procesada *sous-vide* con aceite de oliva, se realizaron **pruebas descriptivas simples** tanto a las muestras recién preparadas (**TvO**), como a las almacenadas 3 días a refrigeración (**TvO₃ 2°**). Además se realizó una **prueba diferencial**, (también llamada de comparación o de discriminación), como es la **prueba triangular**, para determinar si hay alguna diferencia sensorial entre los pares de muestras **TvO vs. TtO y TvO₃ vs. TtO₃**.

Para ambos ensayos se tuvo en cuenta la **Norma UNE 87-008-92**.

III.III.3.- CONDICIONES GENERALES DE LAS PRUEBAS

- **Local:** Todas las pruebas se llevaron a cabo en la **sala de catas del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), de la Universidad de León** (C/La Serna 58, León), que cumple plenamente con las condiciones de diseño, luz y temperatura que vienen especificadas en la Norma UNE 87-004. La temperatura a la cual se realizaron las pruebas fue de 20-22° C, con una humedad relativa de 60-70 %. Todas las pruebas se realizaron con luz natural.

- **Hora de realización de las pruebas:** las pruebas se realizaron siempre en horario de mañana (entre las 11:00 y las 13:00 horas).
- **Utensilios:** Se usaron siempre recipientes de un solo uso. A los catadores se le presentaron, además de la ficha de la cata (o cuestionario), un lápiz, agua de mineralización débil y una rebanada de pan tostado de sabor neutro, (sin sal ni azúcar), para enjuagar y limpiar el paladar.
- **Jueces:** Participaron durante el estudio un total de 10 jueces entrenados o “panelistas”, definiéndose como tal a aquella persona que posee una suficiente habilidad contrastada para la detección de alguna propiedad sensorial o algún sabor o textura en particular, que ha recibido cierta enseñanza teórica y práctica acerca de la evaluación sensorial, y que sabe qué es lo que se desea medir exactamente en la prueba. En este caso ha participado personal del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos y del propio Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL), ambos de la Universidad de León. (Imagen 6) Los criterios principales para escoger los 10 jueces fueron: 1) Habilidad para la detección de las diferentes propiedades sensoriales, eliminando a aquellas personas que presentaron alguna enfermedad o defecto que afectó a alguno de los sentidos involucrados en las evaluación requerida; 2) la disponibilidad para las pruebas; 3) el interés y motivación.



Imagen 6. Sala de catas del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL) de la Universidad de León

III.III.4.- DISEÑO DE LA PRUEBA DESCRIPTIVA SIMPLE

Conceptualmente, los perfiles se basan en la idea de que la sensación que un alimento provoca en el consumidor está definida por una serie de atributos identificables y que las diferencias sensoriales entre un grupo de muestras se deben a la menor o mayor intensidad de dichos atributos en cada una de ellas.

La prueba trata de obtener una descripción cualitativa de los atributos individuales que inciden en la calidad global de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) procesada mediante la tecnología sous-vide en aceite de oliva recién preparado (TvO) y tras tres días de almacenamiento a 2° C, (TvO₃ 2°)

- a. **Procedimiento:** La cata se realizó con 10 panelistas para cada una de las características previamente definidas **APARIENCIA, OLOR, SABOR, RANCIDEZ Y TEXTURA**, utilizando una **escala hedónica de siete puntos** y registrando individualmente los resultados.

Utilizando este tipo de escalas se logra objetivar las respuestas de los jueces acerca de las sensaciones provocadas por el producto alimenticio. Después del análisis sensorial se llevó a cabo una discusión moderada por el responsable del grupo. Con las respuestas individuales se elaboró el **perfil descriptivo cuantitativo** de cada atributo evaluado.

- b. **Términos relativos a los atributos organolépticos de la prueba y escala utilizada:**

- **Apariencia:** propiedad sensorial que comprende un conjunto de atributos, como el color, la forma, el tamaño, etc., que son percibidos por el sentido de la vista y el tacto.

1	2	3	4	5	6	7
<i>Alterado</i>	---	---	---	---	---	<i>Fresco</i>

- **Olor:** propiedad organoléptica perceptible por el órgano olfativo cuando inspira determinadas sustancias volátiles

1	2	3	4	5	6	7
<i>Mal olor</i>	---	---	---	---	---	<i>Fresco</i>

- **Sabor:** sensaciones percibidas por el órgano del gusto cuando es estimulado por ciertas sustancias solubles.

1	2	3	4	5	6	7
<i>Empalagoso</i>	---	---	---	---	---	<i>Fresco</i>

- **Rancidez:** propiedad organoléptica percibida por el gusto, el olfato y la vista, como consecuencia de una pérdida general de frescura.

1	2	3	4	5	6	7
<i>Fuerte</i>	---	---	---	---	---	<i>Sin rancidez</i>

- **Textura:** Conjunto de propiedades mecánicas, geométricas y de superficie de un producto, perceptibles por los mecano-receptores, los receptores táctiles y en ciertos casos los visuales.

1	2	3	4	5	6	7
<i>Blanda</i>	---	---	---	---	---	<i>Firme</i>

c. **Cuestionario empleado:** El cuestionario empleado se detalla en la Figura 3.

d. **Tratamiento estadístico:**

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el **programa SPSS 12.0 ver.01 para Windows. (SPSS Inc. 1989-2003)**. Las variables se describieron mediante la **media** y la **desviación estándar**. Para ver la diferencia entre las medias se utilizó el **test “t” de Student**, con un nivel de significación de **p<0.05**.

III.III.5.- DISEÑO DE LA PRUEBA DISCRIMINATORIA

Una prueba diferencial, trata de determinar si existen diferencias sensoriales entre dos productos. Para la realización del ensayo se utilizó una **prueba triangular**, según **Norma UNE 87-008-92**. Se eligió esta prueba, ya que es la recomendada por la bibliografía para detectar pequeñas diferencias sensoriales entre muestras procesadas sous-vide y sometidas a un tratamiento culinario tradicional (Creed, 1998).

- a. **Procedimiento:** A cada catador se le presentaron una serie de tres muestras bajo clave, dos de las cuales son idénticas, y se le pidió que seleccione la muestra que considera distinta. Las muestras se presentaron un número igual de veces en cada una de las posiciones que corresponden a las dos series de las tres permutaciones distintas, que son: BAA, ABB, AAB, BBA, ABA, BAB. Para la interpretación de los resultados se siguió la Norma UNE 87-006-92, consistente en un contraste de hipótesis unilateral, donde la hipótesis nula es que no es posible distinguir entre los productos, es decir que las muestras son iguales.

- b. **Cuestionario:** El cuestionario empleado se detalla en la Figura 4.

- c. **Tratamiento estadístico:** Para la interpretación de los resultados se siguió la Norma UNE 87-006-92, que propone la utilización de un **contraste de hipótesis unilateral**, donde la hipótesis nula (H_0), es que no es posible distinguir entre los productos, es decir que las muestras son iguales. En este caso, la probabilidad (P) de identificar la muestra que es distinta entre las otras dos es igual a $P_0 = 1/3$. La prueba es unilateral. Como lo que se deseaba saber es si es posible distinguir entre los dos productos, se rechazará la hipótesis nula a favor de la hipótesis alternativa (H_a), $P > 1/3$. Si el número de respuestas correctas fuera mayor o igual a la cifra en la correspondiente de la tabla 3, según el nivel de significación deseado (5 %, 1 % o 0.1 %), eso quiere decir que la proporción de respuestas correctas es significativamente superior a $P_0 = 1/3$.

FIGURA 4. CUESTIONARIO PRUEBA DIFERENCIAL

Nombre del catador:.....

Fecha: Prueba N°: Muestra:

Enfrente de usted hay tres muestras codificadas. Dos son iguales y una es diferente. Empezando por la izquierda, evalúe las muestras y rodee con un círculo el código de aquella que es diferente a las otras dos. Usted puede volver a evaluar las muestras. Si no encuentra diferencia aparente, anote su mejor estimación por incierta que esta sea.

278 834 542

COMENTARIOS.....

.....

.....

.....

Muchas gracias.

IV. RESULTADOS

IV.I.- ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos relativos al **estudio de la calidad microbiológica de la trucha procesada sous-vide**.

En concreto, en las **tablas M.1. y M.2.** se muestran respectivamente los **valores medios de pH y actividad de agua** obtenidos en los tres lotes de trucha procesada mediante la tecnología sous-vide, tratamiento A (90° C/15 min.), tratamiento B (90° C/5 min.) y tratamiento C (65° C/10 min.), a distintos tiempos (crudo, 0, 3, 14, 21 y 45 días) y temperaturas de almacenamiento (2 y 10 °C).

En las **figuras M.1., M.2., M.3., M.4., M.5., M.6., M.7. y M.8.** se representa gráficamente el **efecto del procesado y las condiciones de almacenamiento en los valores medios de pH, actividad de agua, flora aerobia mesófila viable, flora anaerobia mesófila viable, flora psicrotrofa viable, flora acidoláctica, esporulados aerobios y esporulados anaerobios**, en la trucha procesada mediante la tecnología sous-vide.

Finalmente comentar que, tal y como se explica en la discusión de los resultados, no fue detectada la presencia de ***Staphyococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*** y ***Listeria monocytogenes***, así como tampoco fue aislado ninguna **bacteria anaerobia estricta del medio ágar clostridium reforzado**.

IV.I.1.- Tabla M.1. Valores medios de pH

Tabla M.1. Valores medios de **pH** obtenidos en los tres lotes de trucha procesada mediante la tecnología sous-vide (A, B, C) a distintos tiempos (0, 3, 14, 21 y 45 días) y temperaturas de almacenamiento (a: 2° C y b: 10° C).

Muestras	Días de almacenamiento					
	Crudo	0	3	14	21	45
Aa	6,46 ± 0,02	6,45 ± 0,02	6,55 ± 0,03	6,55 ± 0,02	6,60 ± 0,02	6,66 ± 0,02
Ab	6,46 ± 0,03	6,46 ± 0,03	6,56 ± 0,02	6,60 ± 0,02	6,69 ± 0,03	6,71 ± 0,03
Ba	6,45 ± 0,03	6,47 ± 0,02	6,46 ± 0,04	6,58 ± 0,04	6,62 ± 0,02	6,69 ± 0,03
Bb	6,46 ± 0,03	6,49 ± 0,03	6,48 ± 0,02	6,62 ± 0,02	6,67 ± 0,04	6,72 ± 0,04
Ca	6,49 ± 0,02	6,50 ± 0,04	6,52 ± 0,04	6,61 ± 0,04	6,66 ± 0,02	6,66 ± 0,02
Cb	6,46 ± 0,03	6,49 ± 0,03	6,56 ± 0,02	6,60 ± 0,02	6,63 ± 0,02	6,74 ± 0,04

Valores medios ± desviación estándar de 5 determinaciones

*: Diferencias significativas con respecto al mismo lote almacenado a distinta temperatura

Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.

Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.1.2.- Tabla M.2. Valores medios de actividad de agua

Tabla M.2. Valores medios de actividad de agua obtenidos en los tres lotes de trucha procesada mediante la tecnología sous-vide (A, B, C) a distintos tiempos (0, 3, 14, 21 y 45 días) y temperaturas de almacenamiento (a: 2° C y b: 10° C).

Muestras	Días de almacenamiento					
	Crudo	0	3	14	21	45
Aa	0,993 ± 0,003	0,991 ± 0,002	0,991 ± 0,001	0,993 ± 0,002	0,993 ± 0,002	0,993 ± 0,003
Ab	0,990 ± 0,002	0,989 ± 0,001	0,993 ± 0,002	0,992 ± 0,002	0,990 ± 0,002	0,990 ± 0,002
Ba	0,991 ± 0,002	0,993 ± 0,002	0,990 ± 0,001	0,992 ± 0,003	0,993 ± 0,004	0,992 ± 0,002
Bb	0,990 ± 0,003	0,993 ± 0,002	0,993 ± 0,002	0,991 ± 0,003	0,991 ± 0,002	0,992 ± 0,002
Ca	0,993 ± 0,003	0,991 ± 0,003	0,991 ± 0,003	0,990 ± 0,002	0,991 ± 0,002	0,992 ± 0,003
Cb	0,989 ± 0,001	0,993 ± 0,002	0,991 ± 0,002	0,991 ± 0,003	0,990 ± 0,002	0,991 ± 0,002

Valores medios ± desviación estándar de 5 determinaciones

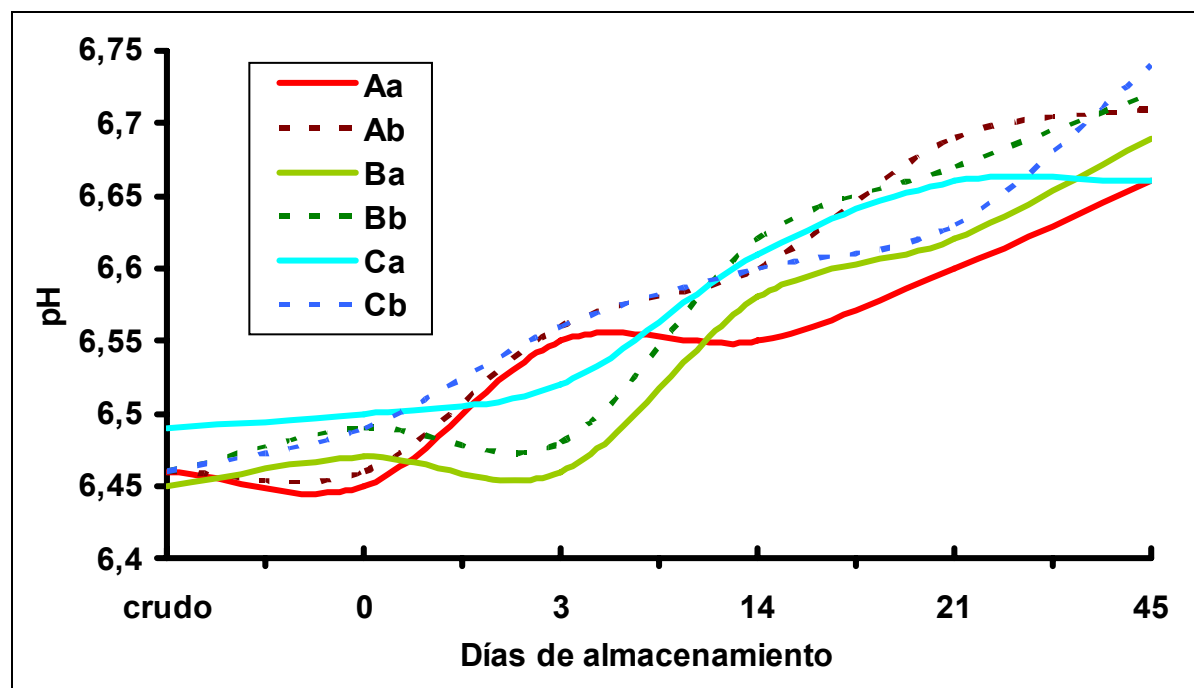
*: Diferencias significativas con respecto al mismo lote almacenado a distinta temperatura

Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.

Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.1.3.- Figura M.1. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento sobre el pH

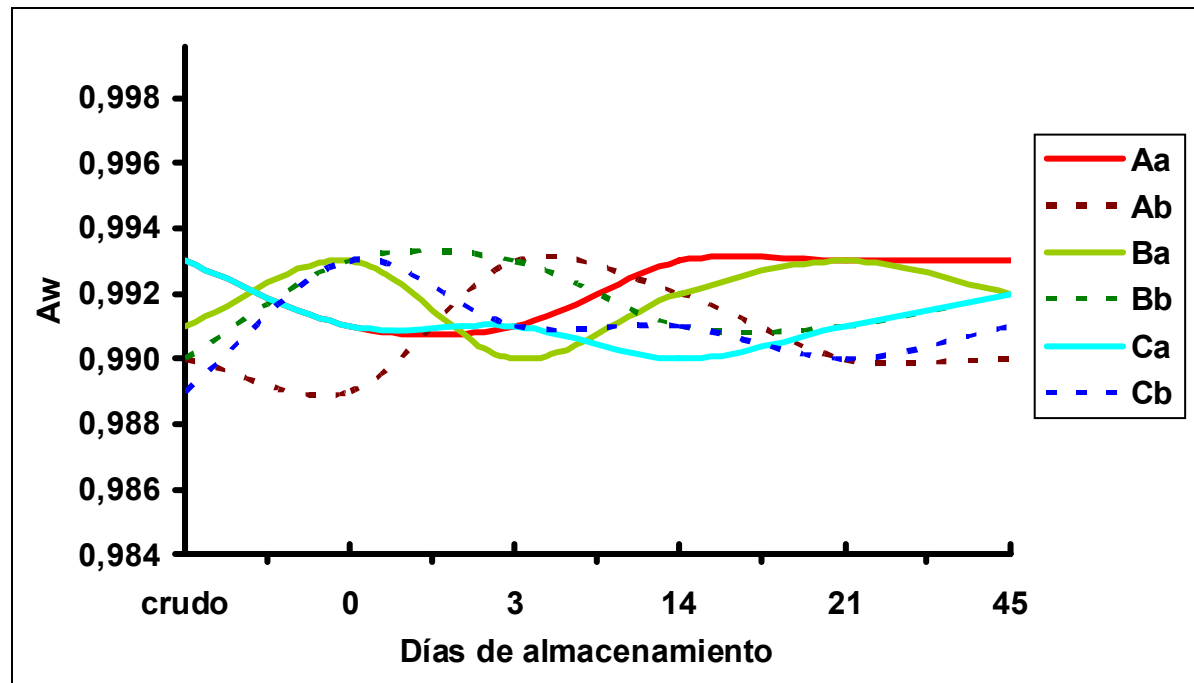
Figura M.1. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en los valores medio de pH en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.1.4.- Figura M.2. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento sobre la actividad de agua

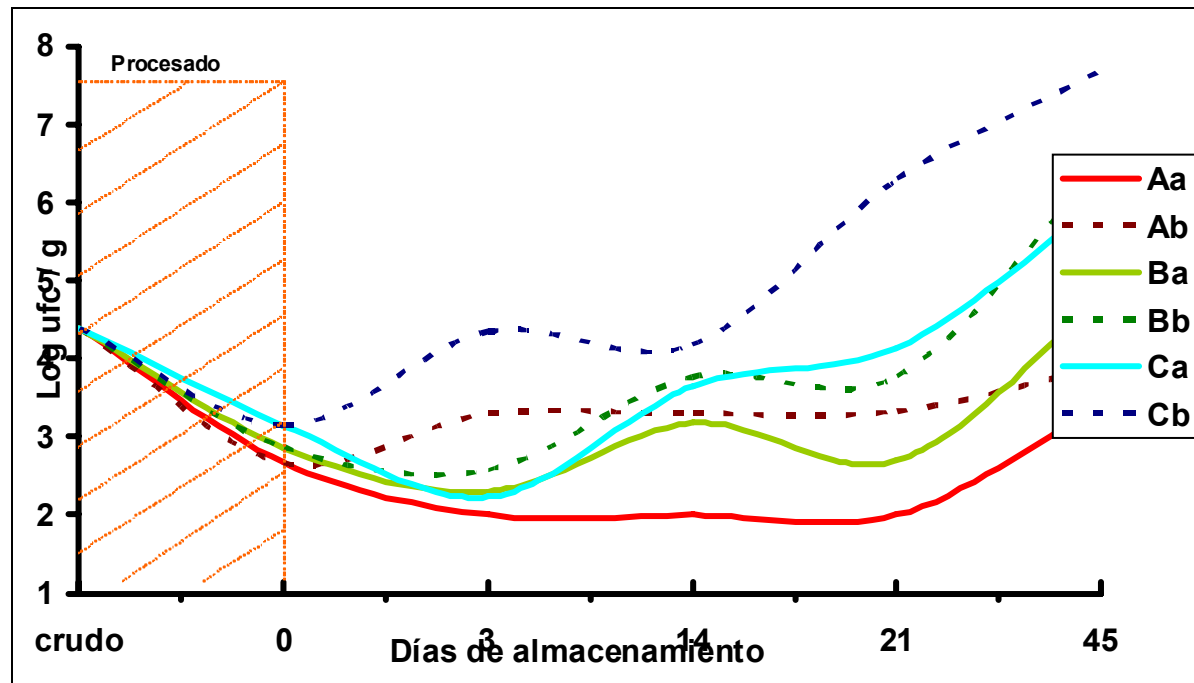
Figura M.2. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en los valores medio de actividad de agua en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.1.5.- Figura M.3. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora aerobia mesófila

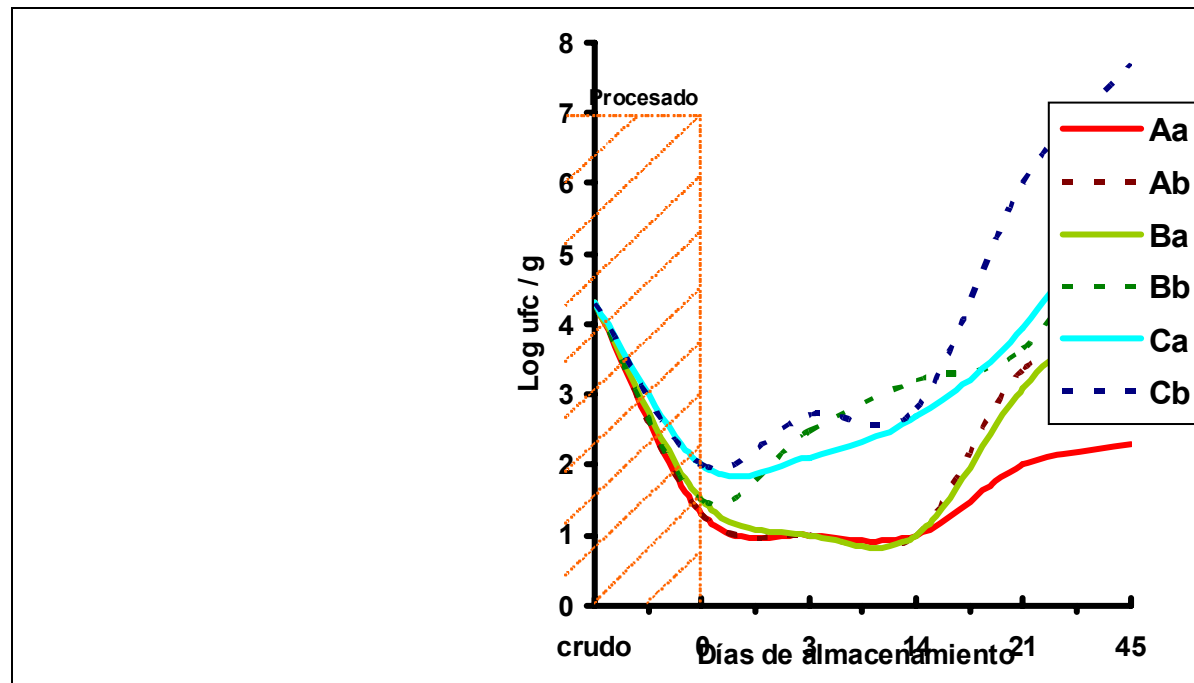
Figura M.3. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de **flora aerobia mesófila** viable en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
 Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.I.6.- Figura M.4. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora anaerobia mesófila

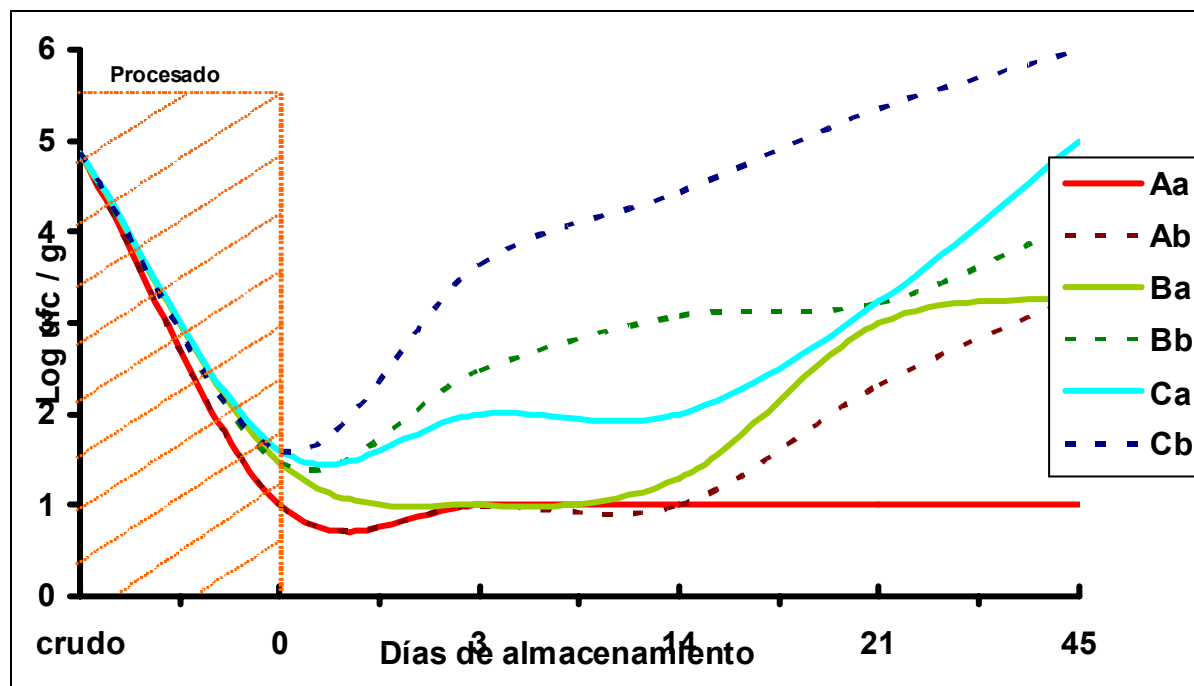
Figura M.4. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de **flora anaerobia mesófila** viable en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.1.7.- Figura M.5. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora psicrotrofa

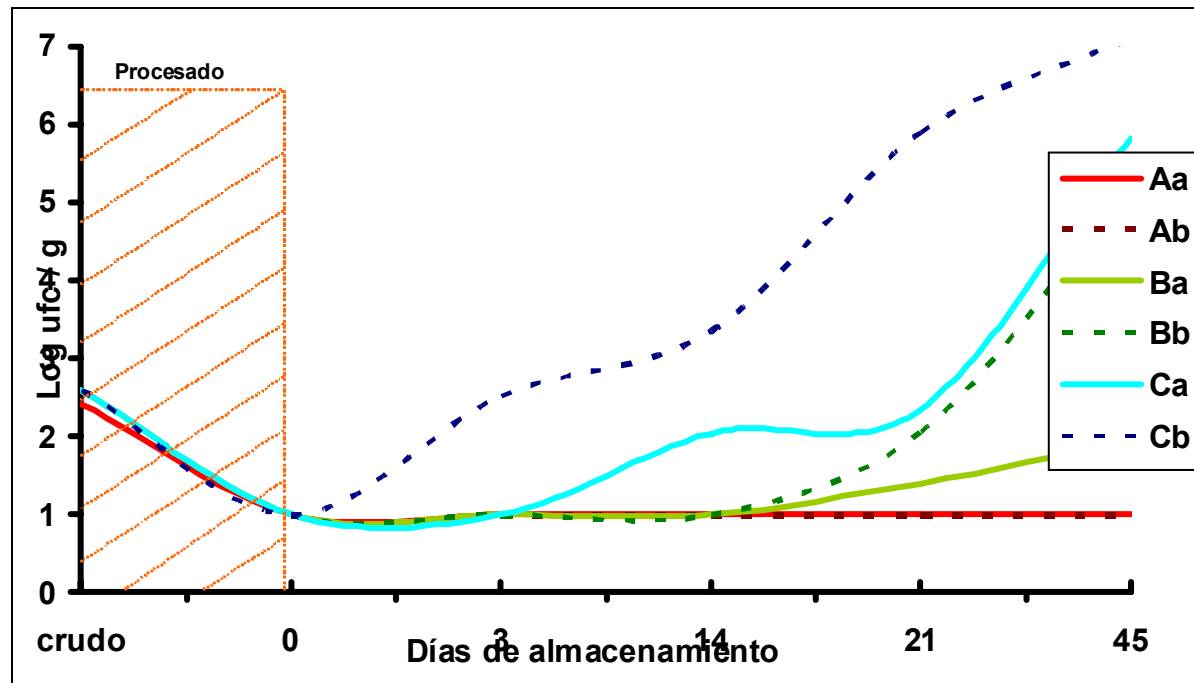
Figura M.5. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de **psicrotrofos** en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C / 10 min.
Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.I.8.- Figura M.6. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de flora acidoláctica

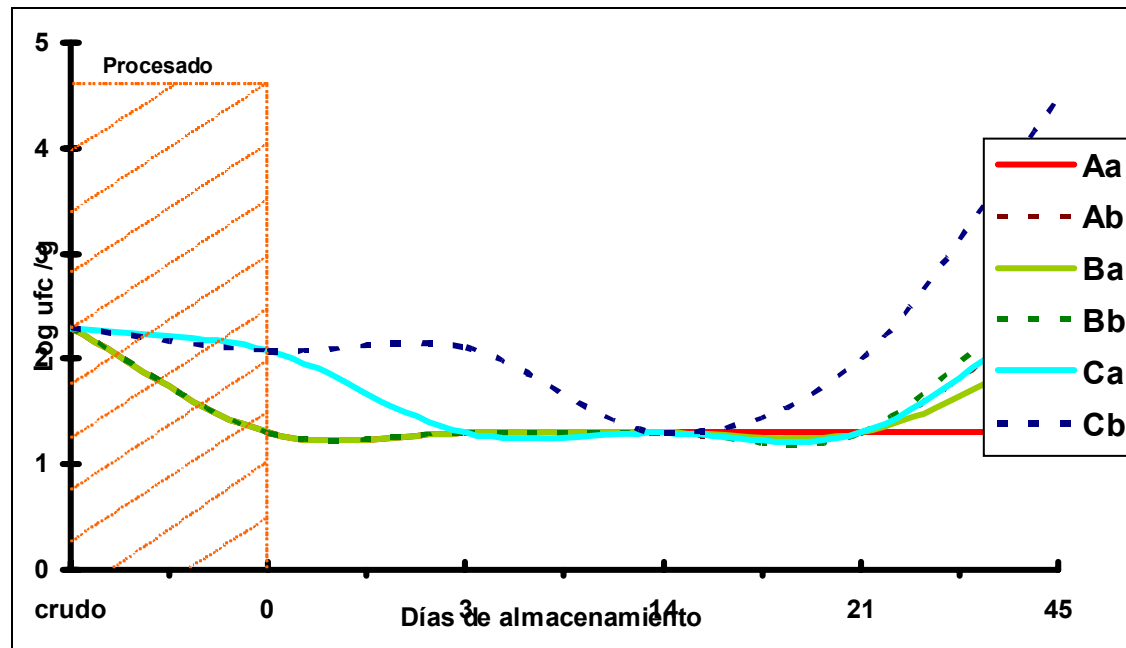
Figura M.6. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de **flora acidoláctica** viable en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.I.9.- Figura M.7. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de esporulados aerobios

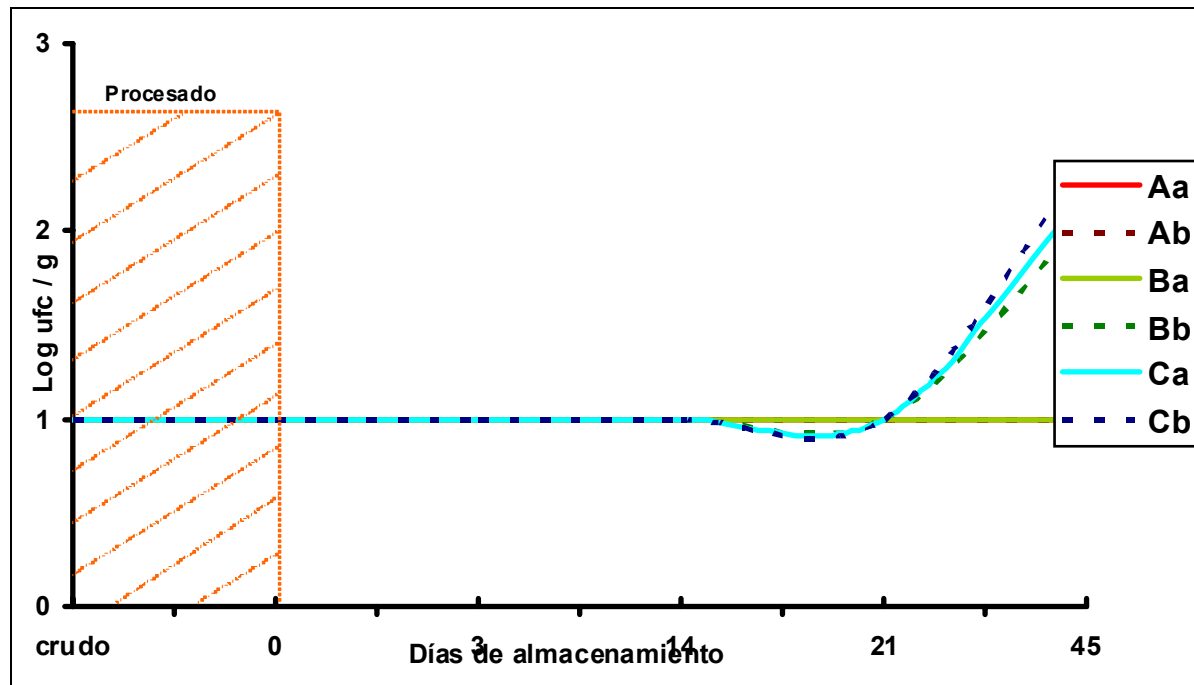
Figura M.7. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de **esporulados aerobios** en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
 Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.I.10.- FIGURA M.8. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de esporulados anaerobios

Figura 8. Efecto del procesado y de las condiciones de almacenamiento en la población de **esporulados anaerobios** en la trucha procesada mediante la tecnología sous vide.



Tratamientos: A: 90° C / 15 min.; B: 90° C / 5 min. y C: 70° C/10 min.
 Temperatura de almacenamiento: a: 2° C y b: 10° C

IV.II.- ESTUDIO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL.

En las siguientes tablas se muestran los resultados obtenidos relativos al estudio del contenido en **HUMEDAD**, contenido **MACRONUTRIENTES** (proteína, grasa, azúcares y cenizas), contenido en **MINERALES** (Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn y P), contenido en **ÁCIDOS GRASOS** y **AMINOÁCIDOS** de la **trucha cruda**, trucha procesada **sous vide** y trucha procesada por el **método tradicional, con o sin aceite (oliva o girasol)** y a lo largo del **almacenamiento** (0, 3, 21 y 45 días) a distintas **temperaturas** 2 y 10 °C.

En concreto, los resultados obtenidos aparecen expresados en las siguientes tablas:

A Comparativa de la trucha cruda con la trucha procesada por el método tradicional o procesada sous vide sin y con distintos tipos de aceite (oliva y girasol), almacenada a refrigeración durante 3 días a 2° C:

- **Tablas N.1. a N.3.:** Contenido en **agua y macronutrientes**.
- **Tablas N.4. a N.9.:** Contenido **mineral** (Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn y P).
- **Tablas N.10. a N.21.:**Contenido en **ácidos grasos** (C14:0, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:1 w-7, C18:2, C18:3, C20:1, C20:4, C20:5, C22:1, C22:5, C22:6) e **índices de calidad de la grasa** (Σ AGS, Σ AGM, Σ AGP, AGP/AGS, (AGP+AGM)/AGS, w-3, w-6, w-6/w-3).
- **Tablas N.22. a N.27.:** Contenido en **aminoácidos** (ASP, SER, GLU, GLY, HIS, ARG, THR, ALA, PRO, TYR, VAL, MET, LYS, ILE, LEU y PHE).

B Comparativa de la trucha procesada sous vide, sin y con distintos tipos de aceite (oliva y girasol), a lo largo del almacenamiento (3, 21, y 45 días) a 2° y 10° C:

- **Tablas N.28. a N.30.:** Contenido en **agua y macronutrientes**.
- **Tablas N.31. a N.36.:** Contenido **mineral** (Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Zn y P).
- **Tablas N.37. a N.48.:**Contenido en **ácidos grasos** (C14:0, C15:0, C15:1, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:1 w-7, C18:2, C18:3, C20:1, C20:4, C20:5, C22:1, C22:5, C22:6) e **índices de calidad de la grasa** (Σ AGS, Σ AGM, Σ AGP, AGP/AGS, (AGP+AGM)/AGS, w-3, w-6, w-6/w-3).

- **Tablas N.49. a N.54.:** Contenido en **aminoácidos** (ASP, SER, GLU, GLY, HIS, ARG, THR, ALA, PRO, TYR, VAL, MET, LYS, ILE, LEU y PHE).

C **Ensayo biológico:**

- **Tablas N.54. a N.56.:** **Composición en nutrientes** de las dietas utilizadas en el ensayo (gramos/100 gramos sustancia seca), composición del corrector vitamínico (mg/Kg de dieta) y composición del corrector mineral (mg/100g de dieta).
- **Tablas N.57. a N.59.:** Contenido en **humedad, proteína, grasa, cenizas y minerales** (Ca, Mg, P, Na, K, Fe, Cu y Zn) de las dietas utilizadas en el ensayo.
- **Tablas N.60. a N.67.:** **Eficacia alimentaria, utilización nutritiva de la proteína, balance de calcio, balance de magnesio, balance de fósforo, balance de hierro, balance de cobre y balance de zinc** de dietas cuya fuente proteica son la trucha cruda y tratada sous vide.
- **Tablas N.68. y N.69.:** **Contenido mineral del hígado y bazo** de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

IV.II.1.- Tabla N.1. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Proteína	Grasa	Cenizas
	g/ 100 g alimento				g/100 g sustancia seca		
T	73.20 ± 0.44	19.59 ± 0.42	6.58 ± 0.21	1.23 ± 0.09	72.91 ± 1.56	24.48 ± 0.75	4.60 ± 0.35
T3	72.71 ± 0.21*	19.91 ± 0.4	6.24 ± 0.17	1.23 ± 0.05	72.94 ± 0.16	22.89 ± 0.64*	4.52 ± 0.13
Tt	68.20 ± 0.40*	24.43 ± 0.28*	5.88 ± 0.71*	1.40 ± 0.05*	76.81 ± 0.89*	18.49 ± 0.22*	4.39 ± 0.15
Tt3	67.73 ± 0.38*	24.47 ± 0.71*	6.24 ± 0.08▪	1.26 ± 0.05▪	75.83 ± 2.18*	19.34 ± 0.26*▪	3.91 ± 0.15*▪
Tv	65.91 ± 0.18*♦	22.44 ± 0.30*♦	10.01 ± 0.09*♦	1.22 ± 0.02♦	65.84 ± 0.88*♦	29.38 ± 0.26*♦	3.59 ± 0.05*♦
Tv3 (2°)	69.04 ± 0.37*▪♦	21.81 ± 0.28*▪♦	7.72 ± 0.08*▪♦	1.43 ± 0.01*▪♦	70.44 ± 0.91*▪♦	24.95 ± 0.27*♦	4.60 ± 0.04*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3(2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.2.- Tabla N.2. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Proteína	Grasa	Cenizas
	g/ 100 g alimento				g/100 g sustancia seca		
T	73.20 ± 0.44	19.59 ± 0.42	6.58 ± 0.21	1.23 ± 0.09	72.91 ± 1.56	24.48 ± 0.75	4.60 ± 0.35
T3	72.71 ± 0.21	19.91 ± 0.4	6.24 ± 0.17	1.23 ± 0.05	72.94 ± 0.16	22.89 ± 0.64*	4.52 ± 0.13
TtO	66.07 ± 0.65*	23.32 ± 0.39*	9.04 ± 0.09*	2.00 ± 0.03*	68.74 ± 1.00*	26.65 ± 0.27*	5.90 ± 0.08*
TtO3	64.64 ± 0.31*▪	25.55 ± 0.07*▪	7.77 ± 0.13*▪	2.06 ± 0.02*	72.25 ± 0.18▪	21.97 ± 0.37*▪	5.82 ± 0.05*
TvO	65.00 ± 0.80*♦	25.27 ± 0.09*♦	8.19 ± 0.05*♦	1.48 ± 0.04*♦	72.21 ± 0.25♦	23.40 ± 0.13♦	4.22 ± 0.11♦
TvO3 (2°)	66.03 ± 0.11*▪♦	25.33 ± 0.55*	6.63 ± 0.18▪♦	1.64 ± 0.02*▪♦	74.58 ± 1.61	19.53 ± 0.55*▪♦	4.84 ± 0.08▪♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°))

IV.II.3.- Tabla N.3. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Proteína	Grasa	Cenizas
	g/ 100 g alimento				g/100 g sustancia seca		
T	73.20 ± 0.44	19.59 ± 0.42	6.58 ± 0.21	1.23 ± 0.09	72.91 ± 1.56	24.48 ± 0.75	4.60 ± 0.35
T3	72.71 ± 0.21	19.91 ± 0.4	6.24 ± 0.17	1.23 ± 0.05	72.94 ± 0.16	22.89 ± 0.64	4.52 ± 0.13
Ttg	65.03 ± 0.41*	25.23 ± 2.20*	7.58 ± 0.24*	2.24 ± 0.19*	72.16 ± 6.31	21.68 ± 0.67*	6.41 ± 0.04*
Ttg3	66.81 ± 0.59*▪	23.35 ± 0.31*	6.74 ± 0.10*▪	2.13 ± 0.01*	70.35 ± 0.94	20.30 ± 0.30*▪	6.41 ± 0.04*
Tvg	65.55 ± 0.96*	25.33 ± 0.05*	7.25 ± 0.09*	1.61 ± 0.04*♦	73.54 ± 0.16	21.04 ± 0.25*	4.67 ± 0.10*♦
Tvg3 (2°)	66.80 ± 0.53*▪	24.24 ± 0.35*♦	7.38 ± 0.17*♦	0.39 ± 0.03*▪♦	73.00 ± 1.04	22.23 ± 0.51*▪♦	4.19 ± 0.09*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tvg respecto a Ttg) (Tvg3 (2°) respecto a Ttg3).

IV.II.4.- Tabla N.4. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/100 g alimento)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
T	0.44 ± 0.03	0.23 ± 0.05	0.70 ± 0.01	36.4 ± 3.3	484.6 ± 42.9	20.11 ± 2.32	24.91 ± 0.37	595.8 ± 74.6
T3	0.46 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.78 ± 0.01*	44.2 ± 4.1	495.2 ± 14.5	21.89 ± 2.43	25.41 ± 0.35	704.7 ± 100.0*
Tt	0.77 ± 0.18*	0.11 ± 0.02*	0.86 ± 0.04*	179.2 ± 17.0*	568.8 ± 25.3*	34.18 ± 5.93*	26.71 ± 0.54*	244.5 ± 17.9*
Tt3	0.70 ± 0.11*	0.13 ± 0.02*	0.95 ± 0.12*	181.8 ± 3.7*	576.1 ± 25.1*	30.67 ± 7.20*	25.14 ± 0.65▪	254.8 ± 19.3*
Tv	0.61 ± 0.05	0.23 ± 0.06♦	0.84 ± 0.12*	149.7 ± 5.0*♦	598.9 ± 9.0*	19.85 ± 4.36♦	24.27 ± 0.22♦	249.7 ± 15.4*
Tv3 (2°)	0.63 ± 0.11	0.27 ± 0.06♦	0.84 ± 0.05*	225.9 ± 12.8*•♦	552.3 ± 17.9*	16.89 ± 1.79♦	22.18 ± 1.22•♦	225.8 ± 16.2*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.5.- Tabla N.5. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g alimento)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
T	0.44 ± 0.03	0.23 ± 0.05	0.70 ± 0.01	36.4 ± 3.3	484.6 ± 42.9	20.11 ± 2.32	24.91 ± .37	595.8 ± 74.6
T3	0.46 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.78 ± 0.01*	44.2 ± 4.1	495.2 ± 14.5	21.89 ± 2.43	25.41 ± 0.35	704.7 ± 100.0*
TtO	0.87 ± 0.20*	0.26 ± 0.09	0.81 ± 0.06	412.6 ± 10.7*	702.7 ± 19.4*	22.38 ± 8.37	29.32 ± 0.48*	287.3 ± 21.8*
TtO3	0.79 ± 0.00*	0.27 ± 0.05	0.90 ± 0.02*	440.0 ± 18.3*	646.7 ± 29.4*	16.25 ± 0.70	28.8 ± 0.52*	301.0 ± 23.0*
TvO	0.54 ± 0.02*	0.27 ± 0.02	0.86 ± 0.07	191.2 ± 20.5*♦	623.7 ± 26.9*♦	18.50 ± 5.42	27.71 ± 1.96	256.2 ± 24.8*
TvO3 (2°)	0.54 ± 0.02*	0.17 ± 0.04▪	0.97 ± 0.02*♦	318.9 ± 14.3*▪♦	599.5 ± 15.5*♦	16.35 ± 0.89	23.01 ± 4.56	247.3 ± 15.1*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°)).

IV.II.6.- Tabla N.6. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g alimento)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
T	0.44 ± 0.03	0.23 ± 0.05	0.70 ± 0.01	36.4 ± 3.3	484.6 ± 42.9	20.11 ± 2.32	24.91 ± .37	595.8 ± 74.6
T3	0.46 ± 0.04	0.23 ± 0.03	0.78 ± 0.01	44.2 ± 4.1	495.2 ± 14.5	21.89 ± 2.43	25.41 ± 0.35	704.7 ± 100.0*
Ttg	0.35 ± 0.12	0.08 ± 0.03*	0.90 ± 0.14*	349.0 ± 80.4*	430.2 ± 48.8*	24.47 ± 6.31	26.23 ± 4.56	255.0 ± 39.9*
Ttg3	0.40 ± 0.09	0.18 ± 0.07▪	1.06 ± 0.08*	393.9 ± 21.1*	429.9 ± 19.1*	31.38 ± 4.06*	25.0 ± 2.24	252.5 ± 29.8*
Tvg	0.41 ± 0.13	0.21 ± 0.02♦	0.84 ± 0.12*	218.4 ± 33.0*♦	401.6 ± 54.3*♦	23.52 ± 10.60	22.86 ± 3.42	222.3 ± 39.1*
Tvg3 (2°)	0.39 ± 0.11	0.32 ± 0.10*	0.86 ± 0.06*♦	185.8 ± 34.9*♦	358.7 ± 37.2*♦	19.36 ± 4.92♦	20.88 ± 2.12	221.1 ± 30.4*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Ttg respecto a Tvg) (Ttg3 respecto a Tvg3 (2°)).

IV.II.7.- Tabla N.7. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometido a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g sustancia seca)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
T	1.62 ± 0.11	0.84 ± 0.18	2.61 ± 0.04	135.4 ± 12.1	1803.5 ± 159.6	74.9 ± 8.6	92.9 ± 1.4	2217.5 ± 277.6
T3	1.70 ± 0.16	0.85 ± 0.11	2.88 ± 0.02*	133.8 ± 64.7	1814.5 ± 53.0	80.2 ± 8.9	93.1 ± 1.3	2582.2 ± 366.5
Tt	2.41 ± 0.56	0.33 ± 0.06 *	2.72 ± 0.14	563.6 ± 53.4*	1788.6 ± 79.6	104.5 ± 18.6*	84.0 ± 1.7*	768.9 ± 56.2*
Tt3	2.17 ± 0.35	0.41 ± 0.06*	2.95 ± 0.39	563.4 ± 11.3*	1785.3 ± 77.7	95.1 ± 22.3*	77.9 ± 2.0*•	789.5 ± 59.8*
Tv	1.78 ± 0.13	0.68 ± 0.16♦	2.44 ± 0.35	439.1 ± 14.7*♦	1759.7 ± 26.4	58.2 ± 12.8*♦	71.2 ± 0.6*♦	732.4 ± 45.1*
Tv3 (2°)	2.05 ± 0.38	0.88 ± 0.18♦	2.71 ± 0.16	729.5 ± 41.4*•♦	1783.8 ± 57.7	54.6 ± 5.8*♦	71.6 ± 3.9*♦	729.4 ± 52.4*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); • Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.8.- Tabla N.8. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g sustancia seca)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
T	1.62 ± 0.11	0.84 ± 0.18	2.61 ± 0.04	135.4 ± 12.1	1803.5 ± 159.6	74.9 ± 8.6	92.7 ± 1.4	2217.5 ± 277.6
T3	1.70 ± 0.16	0.85 ± 0.11	2.88 ± 0.02*	133.8 ± 64.7	1814.5 ± 53.0	80.2 ± 8.9	93.1 ± 1.3	2582.2 ± 366.5*
TtO	2.56 ± 0.60	0.78 ± 0.28	2.39 ± 0.19	1216.1 ± 31.6*	2070.9 ± 57.2*	65.9 ± 24.7	86.4 ± 1.4*	846.7 ± 64.4 *
TtO3	2.22 ± 0.01*	0.76 ± 0.14	2.53 ± 0.06	1244.2 ± 51.7*	1828.8 ± 83.0▪	45.9 ± 2.0*	81.7 ± 1.5*▪	851.1 ± 64.9*
TvO	1.53 ± 0.06	0.76 ± 0.07	2.46 ± 0.21	546.4 ± 58.5*♦	1782.0 ± 76.8	52.9 ± 15.5	79.2 ± 5.6	732.1 ± 70.7*
TvO3 (2°)	1.59 ± 0.08	0.50 ± 0.11*♦	2.85 ± 0.07*	939.0 ± 42.0*♦	1765.1 ± 45.6	48.2 ± 2.6*	67.7 ± 13.4	728.2 ± 44.7*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°)).

IV.II.9.- Tabla N.9. Contenido mineral de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (mg/ 100 g sustancia seca)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
T	1.62 ± 0.11	0.84 ± 0.18	2.61 ± 0.04	135.4 ± 12.1	1803.5 ± 159.6	74.9 ± 8.6	92.7 ± 1.4	2217.5 ± 277.6
T3	1.70 ± 0.16	0.85 ± 0.11	2.88 ± 0.02	133.8 ± 64.7	1814.5 ± 53.0	80.2 ± 8.9	93.1 ± 1.3	2582.2 ± 366.5
Ttg	0.99 ± 0.33*	0.25 ± 0.09*	2.56 ± 0.42*	998.2 ± 229.8*	1230.2 ± 139.7*	70.0 ± 18.0	75.0 ± 13.0*	729.2 ± 114.2*
Ttg3	1.21 ± 0.27*	0.55 ± 0.20*▪	3.19 ± 0.24*▪	1186.9 ± 63.6*	1295.2 ± 57.8*	94.5 ± 12.2*▪	75.3 ± 6.7*	860.9 ± 89.8*
Tvg	1.20 ± 0.37*	0.60 ± 0.07*♦	2.44 ± 0.35	634.1 ± 95.7*♦	1165.6 ± 157.7*♦	68.3 ± 30.8	66.3 ± 9.9*	645.4 ± 113.6*♦
Tvg3 (2°)	1.18 ± 0.33*	0.96 ± 0.30*♦	2.60 ± 0.17♦	599.6 ± 105.1*♦	1080.4 ± 112.1*♦	58.3 ± 14.8♦	62.9 ± 6.4*	665.7 ± 91.7*♦

Valores son media ± DS de 5 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tvg respecto a Ttg) (Tvg3 (2°) respecto a Ttg3).

IV.II.10.- Tabla N.10. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).

	T	T3	Tt	Tt3	Tv	Tv3(2°)
C14:0	5.34 ± 0.09	5.23 ± 0.08	5.00 ± 0.21	5.13 ± 0.19	5.47 ± 0.11♦	4.56 ± 0.20*♦
C15:0	0.51 ± 0.02	0.47 ± 0.09	0.48 ± 0.06	0.46 ± 0.05	0.50 ± 0.11	0.48 ± 0.08
C15:1	0.31 ± 0.21	0.73 ± 0.03*	0.17 ± 0.05*	0.21 ± 0.05*	0.15 ± 0.04*	---
C16:0	21.08 ± 0.14	19.95 ± 0.32	19.82 ± 0.63*	20.49 ± 0.71	19.51 ± 1.08*	18.20 ± 2.42
C16:1	6.12 ± 0.53	6.69 ± 0.47	6.82 ± 0.77	6.73 ± 0.57	7.40 ± 0.18	6.79 ± 0.29
C18:0	2.80 ± 0.18	3.19 ± 0.48	2.98 ± 0.14	3.03 ± 0.19	2.71 ± 0.20	2.67 ± 0.56
C18:1	22.30 ± 0.30	21.39 ± 0.93	22.02 ± 1.02	21.66 ± 0.60	23.33 ± 0.42	22.99 ± 2.13
C18:1 w-7	2.62 ± 0.40	2.86 ± 0.07	2.70 ± 0.15	2.74 ± 0.21	2.79 ± 0.14	2.81 ± 0.22
C18:2	2.74 ± 0.11	3.91 ± 0.16*	4.76 ± 0.13*	4.74 ± 0.17*	3.38 ± 0.19*♦	3.40 ± 0.21*♦
C18:3	0.28 ± 0.06	0.22 ± 0.03*	---	0.40 ± 0.23*	---	---
C20:1	4.57 ± 0.22	5.31 ± 0.16*	4.94 ± 0.14	4.61 ± 0.31	5.48 ± 0.36*♦	5.68 ± 0.44*♦
C20:4	---	---	---	---	---	---
C20:5	4.99 ± 0.09	5.10 ± 0.10	5.09 ± 0.31	4.81 ± 0.26	4.86 ± 0.32	5.30 ± 0.97
C22:1	4.47 ± 0.56	4.40 ± 0.26	4.12 ± 0.66	3.65 ± 0.40	4.97 ± 0.58	5.63 ± 0.26♦
C22:5	4.60 ± 0.29	4.43 ± 0.22	2.64 ± 0.42*	2.52 ± 0.35*	3.06 ± 0.43*	2.52 ± 0.43*
C22:6	16.58 ± 0.39	16.05 ± 0.25	18.17 ± 1.63	18.67 ± 1.22	15.64 ± 0.70	15.86 ± 1.34

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.11.- Tabla N.11. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).

	T	T3	TtO	TtO3	TvO	TvO3(2°)
C14:0	5.34 ± 0.09	5.23 ± 0.08	3.37 ± 0.08*	3.96 ± 0.12*•	4.80 ± 0.06*♦	4.92 ± 0.87
C15:0	0.51 ± 0.02	0.47 ± 0.09	0.30 ± 0.06*	0.34 ± 0.03*	0.36 ± 0.02*	0.39 ± 0.00*
C15:1	0.31 ± 0.21	0.73 ± 0.03*	0.14 ± 0.03*	---	0.38 ± 0.15	---
C16:0	21.08 ± 0.14	19.95 ± 0.32	17.32 ± 0.26*	17.83 ± 0.69*	17.36 ± 1.27*	24.01 ± 9.01
C16:1	6.12 ± 0.53	6.69 ± 0.47	4.68 ± 0.22*	5.18 ± 0.33*	6.94 ± 0.53♦	4.64 ± 1.33
C18:0	2.80 ± 0.18	3.19 ± 0.48	2.60 ± 0.20	2.90 ± 0.31	2.66 ± 0.08	3.48 ± 1.19
C18:1	22.30 ± 0.30	21.39 ± 0.93	39.54 ± 1.60*	36.87 ± 1.54*	28.38 ± 1.54*♦	28.71 ± 0.16*♦
C18:1 w-7	2.62 ± 0.40	2.86 ± 0.07	2.52 ± 0.19	2.57 ± 0.18	2.72 ± 0.16	2.31 ± 0.49
C18:2	2.74 ± 0.11	3.91 ± 0.16*	5.25 ± 0.14*	4.99 ± 0.08*	3.96 ± 0.25*♦	3.69 ± 0.65
C18:3	0.28 ± 0.06	0.22 ± 0.03*	---	---	---	---
C20:1	4.57 ± 0.22	5.31 ± 0.16*	3.31 ± 0.07*	3.64 ± 0.14*•	4.91 ± 0.29♦	4.50 ± 0.53
C20:4	---	---	---	---	---	---
C20:5	4.99 ± 0.09	5.10 ± 0.10	3.44 ± 0.28*	3.82 ± 0.18*	5.06 ± 0.30*♦	4.63 ± 0.51*•♦
C22:1	4.47 ± 0.56	4.40 ± 0.26	2.73 ± 0.25*	3.04 ± 0.30	4.07 ± 0.58	4.31 ± 0.25♦
C22:5	4.60 ± 0.29	4.43 ± 0.22	2.43 ± 0.16*	2.24 ± 0.15*	2.48 ± 0.33*	1.34 ± 0.20*•♦
C22:6	16.58 ± 0.39	16.05 ± 0.25	11.93 ± 1.28*	12.83 ± 0.61*	14.90 ± 0.83*	12.17 ± 5.89*

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); • Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TvO respecto a TtO) (TvO3 (2°) respecto a TtO3).

IV.II.12.- Tabla N.12. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de ácidos grasos determinados).

	T	T3	Ttg	Ttg3	Tvg	Tvg3(2°)
C14:0	5.34 ± 0.09	5.23 ± 0.08	3.11 ± 0.03*	3.37 ± 0.08*	4.57 ± 0.13*♦	4.73 ± 0.07*♦
C15:0	0.51 ± 0.02	0.47 ± 0.09	---	---	---	---
C15:1	0.31 ± 0.21	0.73 ± 0.03*	---	---	---	---
C16:0	21.08 ± 0.14	19.95 ± 0.32	15.15 ± 0.10*	14.68 ± 0.27*	17.76 ± 0.09*♦	17.70 ± 0.08*♦
C16:1	6.12 ± 0.53	6.69 ± 0.47	4.43 ± 0.07*	4.41 ± 0.01*	6.22 ± 0.11♦	6.59 ± 0.20♦
C18:0	2.80 ± 0.18	3.19 ± 0.48	3.48 ± 0.04	3.42 ± 0.08	2.97 ± 0.08	3.06 ± 0.14
C18:1	22.30 ± 0.30	21.39 ± 0.93	25.21 ± 0.05*	26.95 ± 0.23*	23.16 ± 0.03*♦	23.14 ± 0.21*♦
C18:1 w-7	2.62 ± 0.40	2.86 ± 0.07	2.14 ± 0.06	2.26 ± 0.08	2.46 ± 0.10	2.51 ± 0.13
C18:2	2.74 ± 0.11	3.91 ± 0.16*	25.53 ± 0.04*	24.78 ± 0.29*	9.24 ± 0.05*♦	9.79 ± 0.04*♦
C18:3	0.28 ± 0.06	0.22 ± 0.03*	---	---	---	---
C20:1	4.57 ± 0.22	5.31 ± 0.16*	3.30 ± 0.12*	3.35 ± 0.07*	4.92 ± 0.27♦	5.03 ± 0.16♦
C20:4	---	---	---	---	---	---
C20:5	4.99 ± 0.09	5.10 ± 0.10	3.19 ± 0.18*	3.05 ± 0.09*	4.82 ± 0.16*♦	4.83 ± 0.32*♦
C22:1	4.47 ± 0.56	4.40 ± 0.26	3.04 ± 0.24*	3.13 ± 0.08*	4.67 ± 0.26♦	4.81 ± 0.18♦
C22:5	4.60 ± 0.29	4.43 ± 0.22	---	---	---	2.65 ± 0.12
C22:6	16.58 ± 0.39	16.05 ± 0.25	10.37 ± 0.29*	8.64 ± 0.40*	16.22 ± 0.40*♦	14.34 ± 0.16*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tvg respecto a Ttg) (Ttg3 respecto a Tvg3 (2°)).

IV.II.13.- Tabla N.13. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).

	T	T3	Tt	Tt3	Tv	Tv3(2°)
C14:0	0.28 ± 0.00	0.26 ± 0.00*	0.24 ± 0.01*	0.27 ± 0.01*	0.44 ± 0.01*♦	0.28 ± 0.01*▪
C15:0	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00*	0.04 ± 0.01*♦	---
C15:1	---	---	---	---	---	---
C16:0	1.11 ± 0.01	1.00 ± 0.02*	0.93 ± 0.03*	1.02 ± 0.04*▪	1.56 ± 0.09*♦	1.12 ± 0.15*▪
C16:1	0.32 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.32 ± 0.04	0.34 ± 0.03	0.59 ± 0.01*♦	0.42 ± 0.02*
C18:0	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.16 ± 0.03
C18:1	1.17 ± 0.02	1.07 ± 0.05	1.03 ± 0.05*	1.08 ± 0.03*	1.87 ± 0.03*♦	1.42 ± 0.13*♦
C18:1 w-7	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.00	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.17 ± 0.01
C18:2	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.23 ± 0.00	0.24 ± 0.01	0.27 ± 0.02*	0.21 ± 0.01*
C18:3	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	---	0.02 ± 0.01*	---	---
C20:1	0.24 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.23 ± 0.00	0.23 ± 0.02	0.44 ± 0.03*♦	0.35 ± 0.03*♦
C20:4	---	---	---	---	---	---
C20:5	0.26 ± 0.00	0.25 ± 0.00*	0.24 ± 0.01*	0.24 ± 0.01*	0.39 ± 0.03*♦	0.33 ± 0.06*♦
C22:1	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.01	0.19 ± 0.03	0.18 ± 0.02	0.40 ± 0.05*♦	0.35 ± 0.02*♦
C22:5	0.24 ± 0.02	0.22 ± 0.01*	0.13 ± 0.02*	0.13 ± 0.02*	0.24 ± 0.03*♦	0.15 ± 0.03*
C22:6	0.87 ± 0.02	0.80 ± 0.01*	0.85 ± 0.08*	0.93 ± 0.06*	1.25 ± 0.06*♦	0.98 ± 0.08*▪

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.14.- Tabla N.14. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).

	T	T3	TtO	TtO3	TvO	TvO3(2°)
C14:0	0.28 ± 0.00	0.26 ± 0.00*	0.24 ± 0.01*	0.25 ± 0.00*	0.31 ± 0.00	0.26 ± 0.05
C15:0	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00*	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01
C15:1	---	---	0.01 ± 0.01	---	0.02 ± 0.01	---
C16:0	1.11 ± 0.01	1.00 ± 0.02*	1.25 ± 0.02*	1.11 ± 0.04*▪	1.14 ± 0.08*	1.27 ± 0.48
C16:1	0.32 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.32 ± 0.02	0.45 ± 0.03*♦	0.25 ± 0.07▪
C18:0	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.00	0.19 ± 0.06
C18:1	1.17 ± 0.02	1.07 ± 0.05	2.86 ± 0.11*	2.28 ± 0.10*▪	1.86 ± 0.01*♦	1.52 ± 0.01*▪♦
C18:1 w-7	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.00	0.18 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.12 ± 0.03
C18:2	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.38 ± 0.01*	0.31 ± 0.01*▪	0.26 ± 0.02*♦	0.20 ± 0.03♦
C18:3	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	---	---	---	---
C20:1	0.24 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.32 ± 0.02*♦	0.24 ± 0.03▪
C20:4	---	---	---	---	---	---
C20:5	0.26 ± 0.00	0.25 ± 0.00*	0.25 ± 0.02*	0.24 ± 0.01*	0.33 ± 0.02*♦	0.25 ± 0.02*▪
C22:1	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.18 ± 0.10
C22:5	0.24 ± 0.02	0.22 ± 0.01*	0.17 ± 0.01*	0.14 ± 0.01*	0.13 ± 0.03	0.07 ± 0.01*♦
C22:6	0.87 ± 0.02	0.80 ± 0.01*	0.86 ± 0.09*	0.80 ± 0.04*	0.98 ± 0.06*	0.65 ± 0.31

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°)).

IV.II.15.- Tabla N.15. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).

	T	T3	Ttg	Ttg3	Tvg	Tvg3(2°)
C14:0	0.28 ± 0.00	0.26 ± 0.00*	0.19 ± 0.00*	0.18 ± 0.00*	0.26 ± 0.01*♦	0.25 ± 0.00*♦
C15:0	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00	---	---	---	---
C15:1	---	---	---	---	---	---
C16:0	1.11 ± 0.01	1.00 ± 0.02*	0.92 ± 0.01*	0.79 ± 0.01*▪	1.03 ± 0.01*♦	1.04 ± 0.01*♦
C16:1	0.32 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.27 ± 0.01*	0.24 ± 0.00*	0.36 ± 0.01*♦	0.39 ± 0.01*♦
C18:0	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.21 ± 0.00*	0.19 ± 0.01*	0.17 ± 0.00*	0.18 ± 0.01*
C18:1	1.17 ± 0.02	1.07 ± 0.05*	1.59 ± 0.00*	1.46 ± 0.01*	1.34 ± 0.01*♦	1.37 ± 0.01*♦
C18:1 w-7	0.14 ± 0.02	0.14 ± 0.00	0.13 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.01
C18:2	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01	1.49 ± 0.00*	1.33 ± 0.01*	0.54 ± 0.01*♦	0.58 ± 0.00*♦
C18:3	0.01 ± 0.00	0.01 ± 0.00	---	---	---	---
C20:1	0.24 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.20 ± 0.01*	0.18 ± 0.00*	0.29 ± 0.02*♦	0.30 ± 0.01*♦
C20:4	---	---	---	---	---	---
C20:5	0.26 ± 0.00	0.25 ± 0.01	0.19 ± 0.01*	0.16 ± 0.01*▪	0.28 ± 0.01*♦	0.29 ± 0.01*♦
C22:1	0.23 ± 0.03	0.22 ± 0.01	0.18 ± 0.01*	0.17 ± 0.00*	0.27 ± 0.02♦	0.28 ± 0.01♦
C22:5	0.24 ± 0.02	0.22 ± 0.01	---	---	---	0.15 ± 0.01
C22:6	0.87 ± 0.02	0.80 ± 0.01*	0.63 ± 0.02*	0.46 ± 0.02*▪	0.94 ± 0.02*♦	0.85 ± 0.01*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Ttg respecto a Tvg) (Ttg3 respecto a Tvg3 (2°)).

IV.II.16.- Tabla N.16. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	T	T3	Tt	Tt3	Tv	Tv3(2°)
ΣAGS	29.73 ± 0.15	28.84 ± 0.39*	28.42 ± 0.59*	29.15 ± 0.70*	28.50 ± 0.85*	25.96 ± 2.80*♦
ΣAGM	40.38 ± 0.61	41.09 ± 0.95	40.70 ± 1.37	39.51 ± 0.80	44.11 ± 0.30*♦	43.90 ± 2.80*♦
ΣAGP	28.91 ± 0.25	29.49 ± 0.37*	30.65 ± 1.69*	30.74 ± 1.14*	26.94 ± 1.01*♦	27.09 ± 2.94*♦
AGP/AGS	0.97 ± 0.01	1.02 ± 0.01*	1.08 ± 0.08*	1.06 ± 0.06*	0.95 ± 0.03*♦	1.06 ± 0.22*
(AGP+AGM)/AGS	2.33 ± 0.02	2.45 ± 0.05*	2.51 ± 0.07*	2.41 ± 0.07*	2.50 ± 0.10*	2.76 ± 0.29*♦
w-3	26.34 ± 0.15	25.72 ± 0.35*	25.40 ± 1.57*	26.24 ± 1.43	23.56 ± 0.44*	23.68 ± 2.73*♦
w-6	2.74 ± 0.11	3.91 ± 0.16*	4.76 ± 0.13*	4.74 ± 0.17*	3.38 ± 0.19*♦	3.40 ± 0.21*♦
w-6/w-3	0.10 ± 0.00	0.15 ± 0.01*	0.18 ± 0.01*	0.18 ± 0.01*	0.14 ± 0.01*♦	0.14 ± 0.01*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.17.- Tabla N.17. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	T	T3	TtO	TtO3	TvO	TvO3(2°)
ΣAGS	29.73 ± 0.15	28.84 ± 0.39*	23.62 ± 0.13*	25.36 ± 0.29*▪	26.09 ± 0.53*♦	32.68 ± 1.79♦
ΣAGM	40.38 ± 0.61	41.09 ± 0.95	52.86 ± 1.72*	51.00 ± 1.83*	47.40 ± 0.53*♦	43.61 ± 3.87*♦
ΣAGP	28.91 ± 0.25	29.49 ± 0.37*	23.05 ± 1.53*	22.98 ± 1.97*	25.90 ± 1.41*♦	21.55 ± 6.98
AGP/AGS	0.97 ± 0.01	1.02 ± 0.01*	0.98 ± 0.06	0.91 ± 0.08*	0.99 ± 0.07	0.77 ± 0.42*♦
(AGP+AGM)/AGS	2.33 ± 0.02	2.45 ± 0.05*	3.21 ± 0.02*	2.92 ± 0.03*▪	2.81 ± 0.09*♦	2.25 ± 0.95*
w-3	26.34 ± 0.15	25.72 ± 0.35*	17.80 ± 1.66*	18.00 ± 1.95*	21.95 ± 1.27*♦	17.86 ± 6.40
w-6	2.74 ± 0.11	3.91 ± 0.16*	5.25 ± 0.14*	4.99 ± 0.08*▪	3.96 ± 0.25*♦	3.69 ± 0.65*
w-6/w-3	0.10 ± 0.00	0.15 ± 0.01*	0.30 ± 0.04*	0.28 ± 0.03*	0.18 ± 0.01*♦	0.20 ± 0.01*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TvO respecto a TtO) (TvO3 (2°) respecto a TtO3).

IV.II.18.- Tabla N.18. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	T	T3	Ttg	Ttg3	Tvg	Tvg3(2°)
ΣAGS	29.73 ± 0.15	28.84 ± 0.39*	21.74 ± 0.10*	21.48 ± 0.24*▪	25.30 ± 0.14*♦	25.49 ± 0.13*♦
ΣAGM	40.38 ± 0.61	41.09 ± 0.95	39.12 ± 0.18*	40.10 ± 0.30*▪	41.43 ± 0.39*♦	42.08 ± 0.22*♦
ΣAGP	28.91 ± 0.25	29.49 ± 0.37*	38.09 ± 0.07*	36.47 ± 0.53*▪	33.32 ± 0.51*♦	31.62 ± 0.12*▪♦
AGP/AGS	0.97 ± 0.01	1.02 ± 0.01*	1.75 ± 0.01*	1.70 ± 0.04*	1.31 ± 0.03*♦	1.24 ± 0.00*▪♦
(AGP+AGM)/AGS	2.33 ± 0.02	2.45 ± 0.05*	3.55 ± 0.02*	3.57 ± 0.05*	2.95 ± 0.02*♦	2.89 ± 0.02*▪♦
w-3	26.34 ± 0.15	25.72 ± 0.35*	13.56 ± 0.11*	11.69 ± 0.43*▪	23.98 ± 0.51*♦	21.82 ± 0.15*▪♦
w-6	2.74 ± 0.11	3.91 ± 0.16*	24.53 ± 0.04*	24.78 ± 0.29*	9.24 ± 0.05*♦	9.79 ± 0.04*▪♦
w-6/w-3	0.10 ± 0.00	0.15 ± 0.01*	1.81 ± 0.02*	2.12 ± 0.08*▪	0.39 ± 0.01*♦	0.45 ± 0.00*▪♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tvg respecto a Ttg) (Tvg3 (2°) respecto a Ttg3).

IV.II.19.- Tabla N.19. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento)

	T	T3	Tt	Tt3	Tv	Tv3(2°)
ΣAGS	1.56 ± 0.01	1.44 ± 0.02*	1.34 ± 0.03*	1.46 ± 0.03*▪	2.28 ± 0.07*♦	1.60 ± 0.17*▪
ΣAGM	2.12 ± 0.03	2.05 ± 0.05	1.91 ± 0.06*	1.97 ± 0.4*	3.53 ± 0.02*♦	2.71 ± 0.17*▪♦
ΣAGP	1.53 ± 0.01	1.43 ± 0.09*	1.36 ± 0.20*	1.55 ± 0.07*	2.16 ± 0.08*♦	1.67 ± 0.18*▪
AGP/AGS	0.98 ± 0.00	0.99 ± 0.06	1.01 ± 0.17*	1.06 ± 0.07*	0.95 ± 0.06*	1.06 ± 0.22*
(AGP+AGM)/AGS	2.34 ± 0.03	2.42 ± 0.09*	2.45 ± 0.15*	2.42 ± 0.08*	2.50 ± 0.10*	2.76 ± 0.29*
w-3	1.38 ± 0.01	1.24 ± 0.09*	1.22 ± 0.07*	1.31 ± 0.07*	1.89 ± 0.08*	1.46 ± 0.17*
w-6	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01*	0.14 ± 0.12	0.24 ± 0.01*	0.27 ± 0.02*	0.21 ± 0.01*
w-6/w-3	0.10 ± 0.00	0.16 ± 0.02*	0.11 ± 0.09	0.18 ± 0.01*	0.14 ± 0.01*	0.15 ± 0.01*

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.20.- Tabla N.20. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de alimento).

	T	T3	TtO	TtO3	TvO	TvO3(2°)
ΣAGS	1.56 ± 0.01	1.44 ± 0.02*	1.71 ± 0.01*	1.58 ± 0.02*▪	1.71 ± 0.03*	1.73 ± 0.57
ΣAGM	2.12 ± 0.03	2.05 ± 0.05	3.82 ± 0.12*	3.18 ± 0.11*▪	3.11 ± 0.04*♦	2.31 ± 0.21♦
ΣAGP	1.53 ± 0.01	1.43 ± 0.09*	1.67 ± 0.11*	1.43 ± 0.12	1.70 ± 0.09*	1.15 ± 0.37*
AGP/AGS	0.98 ± 0.00	0.99 ± 0.06	0.98 ± 0.06	0.91 ± 0.08*	0.99 ± 0.07	0.77 ± 0.42*
(AGP+AGM)/AGS	2.34 ± 0.03	2.42 ± 0.09	3.21 ± 0.02*	2.92 ± 0.03*▪	2.81 ± 0.09*♦	2.25 ± 0.95
w-3	1.38 ± 0.01	1.24 ± 0.09*	1.29 ± 0.12*	1.12 ± 0.12*	1.44 ± 0.08	0.95 ± 0.34*
w-6	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01*	0.38 ± 0.01*	0.31 ± 0.01*▪	0.26 ± 0.02*♦	0.20 ± 0.03*♦
w-6/w-3	0.10 ± 0.00	0.16 ± 0.02*	0.30 ± 0.04*	0.28 ± 0.03*	0.18 ± 0.01*♦	0.22 ± 0.06*

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°)).

IV.II.21.- Tabla N.21. Σ Ácidos grasos e índices de calidad de la grasa de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días (g/ 100 g de alimento)

	T	T3	Ttg	Ttg3	Tvg	Tvg3(2°)
ΣAGS	1.56 ± 0.01	1.44 ± 0.02*	1.32 ± 0.01*	1.16 ± 0.01*	1.47 ± 0.01*♦	1.50 ± 0.01*♦
ΣAGM	2.12 ± 0.03	2.05 ± 0.05	2.37 ± 0.01	2.16 ± 0.01	2.40 ± 0.02♦	2.49 ± 0.01♦
ΣAGP	1.53 ± 0.01	1.43 ± 0.09*	2.31 ± 0.00*	1.97 ± 0.03*▪	1.76 ± 0.03*♦	1.87 ± 0.01*
AGP/AGS	0.98 ± 0.00	0.99 ± 0.06	1.75 ± 0.01*	1.70 ± 0.04*	1.20 ± 0.03*♦	1.24 ± 0.00*♦
(AGP+AGM)/AGS	2.34 ± 0.03	2.42 ± 0.09*	3.55 ± 0.02*	3.57 ± 0.05*	2.83 ± 0.02*♦	2.89 ± 0.02*♦
w-3	1.38 ± 0.01	1.24 ± 0.09*	0.82 ± 0.01	0.63 ± 0.02*	1.22 ± 0.03*♦	1.29 ± 0.01*♦
w-6	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01*	1.49 ± 0.00*	1.33 ± 0.01*▪	0.54 ± 0.00*♦	0.58 ± 0.00*♦
w-6/w-3	0.10 ± 0.00	0.16 ± 0.02*	1.81 ± 0.02*	2.12 ± 0.08*	0.44 ± 0.01*♦	0.45 ± 0.06*♦

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Ttg respecto a Tvg) (Ttg3 respecto a Tvg3 (2°)).

IV.II.22.- Tabla N.22. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de aminoácidos determinados)

	T	T3	Tt	Tt3	Tv	Tv3(2°)
ASP	2.25 ± 0.01	4.29 ± 0.01*	3.07 ± 0.01*	3.63 ± 0.01*▪	4.23 ± 0.01*♦	4.11 ± 0.01*♦
SER	3.43 ± 0.01	3.14 ± 0.01*	2.62 ± 0.01*	3.18 ± 0.01*▪	3.00 ± 0.02*♦	2.92 ± 0.01*♦
GLU	3.84 ± 0.01	6.35 ± 0.02*	4.34 ± 0.02*	5.64 ± 0.02*▪	6.19 ± 0.03*♦	6.03 ± 0.03*♦
GLY	3.03 ± 0.01	4.56 ± 0.00*	4.02 ± 0.02*	4.84 ± 0.02*▪	4.61 ± 0.05*♦	4.55 ± 0.04*♦
HIS	4.75 ± 0.01	1.99 ± 0.00*	4.64 ± 0.02*	2.07 ± 0.01*▪	2.00 ± 0.01*♦	1.98 ± 0.01*♦
ARG	6.66 ± 0.04	5.18 ± 0.04*	6.51 ± 0.05*	5.48 ± 0.02*▪	5.63 ± 0.01*♦	5.48 ± 0.04*
THR	7.30 ± 0.01	5.53 ± 0.03*	8.25 ± 0.02*	5.90 ± 0.01*▪	5.59 ± 0.01*♦	5.57 ± 0.04*
ALA	7.55 ± 0.03	10.70 ± 0.05*	7.03 ± 0.01*	9.28 ± 0.01*▪	12.60 ± 0.08*♦	12.47 ± 0.16*♦
PRO	1.61 ± 0.01	1.81 ± 0.00*	1.26 ± 0.01*	1.84 ± 0.01*▪	1.79 ± 0.00*♦	1.68 ± 0.01*♦
TYR	3.67 ± 0.01	2.59 ± 0.02*	6.00 ± 0.01*	2.63 ± 0.01*▪	2.50 ± 0.01*♦	2.31 ± 0.01*♦
VAL	8.91 ± 0.04	9.37 ± 0.05*	5.74 ± 0.01*	9.80 ± 0.01*▪	8.35 ± 0.02♦	9.07 ± 0.05♦
MET	4.16 ± 0.01	3.48 ± 0.02*	4.69 ± 0.02*	3.62 ± 0.01*▪	3.42 ± 0.01*♦	3.20 ± 0.04*♦
LYS	3.15 ± 0.05	5.72 ± 0.02*	1.10 ± 0.06*	1.12 ± 0.05*	5.67 ± 0.03*♦	5.55 ± 0.09*♦
ILE	9.42 ± 0.01	9.65 ± 0.00*	6.30 ± 0.07*	10.06 ± 0.03*▪	8.88 ± 0.01*♦	8.84 ± 0.05*♦
LEU	13.98 ± 0.01	15.36 ± 0.01*	9.66 ± 0.03*	15.50 ± 0.04*▪	14.83 ± 0.05*♦	14.13 ± 0.05*♦
PHE	11.63 ± 0.03	8.02 ± 0.01*	17.55 ± 0.02*	8.54 ± 0.02*▪	8.60 ± 0.04*♦	8.15 ± 0.11*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables ((Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.23.- Tabla N.23. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de aminoácidos determinados).

	T	T3	TtO	TtO3	TvO	TvO3(2°)
ASP	2.25 ± 0.01	4.29 ± 0.01*	4.34 ± 0.01*	4.20 ± 0.01*▪	4.67 ± 0.01*♦	4.28 ± 0.04*▪
SER	3.43 ± 0.01	3.14 ± 0.01*	3.28 ± 0.01*	3.13 ± 0.03*▪	3.10 ± 0.01*♦	3.05 ± 0.02*▪♦
GLU	3.84 ± 0.01	6.35 ± 0.02*	5.64 ± 0.07*	5.86 ± 0.02*▪	6.33 ± 0.01*♦	6.27 ± 0.04*♦
GLY	3.03 ± 0.01	4.56 ± 0.00*	4.77 ± 0.01*	4.39 ± 0.03*▪	4.77 ± 0.01*	4.61 ± 0.01*▪♦
HIS	4.75 ± 0.01	1.99 ± 0.00*	2.21 ± 0.01*	2.05 ± 0.02*▪	2.07 ± 0.01*♦	2.03 ± 0.01*▪
ARG	6.66 ± 0.04	5.18 ± 0.04*	5.79 ± 0.59	5.70 ± 0.04*	5.72 ± 0.01*	5.62 ± 0.01*▪
THR	7.30 ± 0.01	5.53 ± 0.03*	5.57 ± 0.01*	5.42 ± 0.01*▪	5.86 ± 0.01*♦	5.76 ± 0.01*▪♦
ALA	7.55 ± 0.03	10.70 ± 0.05*	11.76 ± 0.07*	12.35 ± 0.03*▪	11.41 ± 0.04*♦	11.71 ± 0.01*▪♦
PRO	1.61 ± 0.01	1.81 ± 0.00*	1.75 ± 0.01*	1.77 ± 0.03	1.65 ± 0.00♦	1.76 ± 0.01▪
TYR	3.67 ± 0.01	2.59 ± 0.02*	2.74 ± 0.01*	2.41 ± 0.03*▪	2.59 ± 0.01*♦	2.65 ± 0.06*
VAL	8.91 ± 0.04	9.37 ± 0.05*	8.99 ± 0.02*	9.03 ± 0.01*	8.24 ± 0.02*♦	9.37 ± 0.03*▪♦
MET	4.16 ± 0.01	3.48 ± 0.02*	3.63 ± 0.01*	3.60 ± 0.02*▪	3.78 ± 0.02*♦	3.43 ± 0.01*▪♦
LYS	3.15 ± 0.05	5.72 ± 0.02*	6.19 ± 0.01*	6.38 ± 0.01*▪	6.07 ± 0.01*♦	5.78 ± 0.06*▪♦
ILE	9.42 ± 0.01	9.65 ± 0.00*	8.47 ± 0.02*	8.61 ± 0.05*	9.49 ± 0.01*♦	9.09 ± 0.07♦
LEU	13.98 ± 0.01	15.36 ± 0.01*	13.28 ± 0.04*	13.56 ± 0.03*▪	16.14 ± 0.04*♦	15.02 ± 0.08*▪♦
PHE	11.63 ± 0.03	8.02 ± 0.01*	8.23 ± 0.06*	7.83 ± 0.03*▪	6.79 ± 0.01*♦	6.52 ± 0.01*▪♦

Valores son media ± DS de 5 determinaciones.

Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°)).

IV.II.24.- Tabla N.24. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de aminoácidos determinados).

	T	T3	Ttg	Ttg3	Tvg	Tvg3(2°)
ASP	2.25 ± 0.01	4.29 ± 0.01*	4.36 ± 0.03*	4.46 ± 0.04*	4.18 ± 0.06*♦	4.00 ± 0.03*♦
SER	3.43 ± 0.01	3.14 ± 0.01*	3.09 ± 0.02*	3.09 ± 0.02*	3.23 ± 0.04*♦	3.25 ± 0.01*♦
GLU	3.84 ± 0.01	6.35 ± 0.02*	6.36 ± 0.03*	6.56 ± 0.07*	6.19 ± 0.05*♦	5.99 ± 0.10*♦
GLY	3.03 ± 0.01	4.56 ± 0.00*	4.70 ± 0.05*	4.46 ± 0.04*	4.80 ± 0.05*	4.95 ± 0.03*
HIS	4.75 ± 0.01	1.99 ± 0.00*	2.03 ± 0.01*	1.96 ± 0.02*	2.15 ± 0.02*	2.02 ± 0.01*
ARG	6.66 ± 0.04	5.18 ± 0.04*	5.54 ± 0.06*	5.44 ± 0.08*	5.70 ± 0.07*	5.65 ± 0.07*
THR	7.30 ± 0.01	5.53 ± 0.03*	5.58 ± 0.03*	5.47 ± 0.05*	5.81 ± 0.03*♦	5.79 ± 0.03*♦
ALA	7.55 ± 0.03	10.70 ± 0.05*	12.81 ± 0.07*	13.05 ± 0.05*	11.76 ± 0.12*♦	11.79 ± 0.06*♦
PRO	1.61 ± 0.01	1.81 ± 0.00*	1.66 ± 0.01	1.71 ± 0.01*	1.69 ± 0.02	1.76 ± 0.01*
TYR	3.67 ± 0.01	2.59 ± 0.02*	2.60 ± 0.01*	2.43 ± 0.02*▪	2.72 ± 0.04*♦	2.62 ± 0.01*♦
VAL	8.91 ± 0.04	9.37 ± 0.05*	8.91 ± 0.04	9.13 ± 0.07*▪	9.07 ± 0.11	9.02 ± 0.03*♦
MET	4.16 ± 0.01	3.48 ± 0.02*	3.19 ± 0.00*	3.17 ± 0.01*	3.37 ± 0.04*♦	3.27 ± 0.01*♦
LYS	3.15 ± 0.05	5.72 ± 0.02*	6.02 ± 0.01*	6.34 ± 0.07*	5.79 ± 0.06*♦	5.87 ± 0.02*♦
ILE	9.42 ± 0.01	9.65 ± 0.00*	8.83 ± 0.02*	8.97 ± 0.06*	8.98 ± 0.08*	8.99 ± 0.02*
LEU	13.98 ± 0.01	15.36 ± 0.01*	13.83 ± 0.02*	13.60 ± 0.54	14.00 ± 0.08*♦	14.31 ± 0.04*♦
PHE	11.63 ± 0.03	8.02 ± 0.01*	7.46 ± 0.46*	7.13 ± 0.58*	7.40 ± 0.98*	7.74 ± 0.30*

Valores son media ± DS de 5 determinaciones.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Ttg respecto a Tvg) (Ttg3 respecto a Tvg3 (2°)).

IV.II.25.- Tabla N.25. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada sous vide y sometida a un cocinado tradicional. Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento)

	T	T3	Tt	Tt3	Tv	Tv3(2°)
ASP	0.44 ± 0.00	0.85 ± 0.01*	0.75 ± 0.00*	0.89 ± 0.00*	0.95 ± 0.00*	0.90 ± 0.01*
SER	0.67 ± 0.00	0.63 ± 0.01	0.64 ± 0.00	0.78 ± 0.01*	0.67 ± 0.00	0.64 ± 0.01♦
GLU	0.75 ± 0.00	1.26 ± 0.06*	1.06 ± 0.01*	1.38 ± 0.00*▪	1.39 ± 0.01*♦	1.32 ± 0.01*♦
GLY	0.60 ± 0.01	0.91 ± 0.00*	0.98 ± 0.01*	1.19 ± 0.01*▪	1.04 ± 0.01*♦	0.99 ± 0.01*♦
HIS	0.93 ± 0.00	0.40 ± 0.00*	1.13 ± 0.01*	0.51 ± 0.00*▪	0.45 ± 0.00*♦	0.43 ± 0.00*♦
ARG	1.30 ± 0.01	1.03 ± 0.01*	1.59 ± 0.01*	1.34 ± 0.00*▪	1.26 ± 0.00*♦	1.20 ± 0.01*♦
THR	1.43 ± 0.00	1.10 ± 0.01*	2.01 ± 0.01*	1.44 ± 0.01*▪	1.25 ± 0.00*♦	1.21 ± 0.01*♦
ALA	1.48 ± 0.01	2.13 ± 0.01*	1.72 ± 0.00*	2.13 ± 0.01*▪	2.83 ± 0.02*♦	2.27 ± 0.03*♦
PRO	0.32 ± 0.01	0.36 ± 0.00	0.31 ± 0.00	0.45 ± 0.00*	0.40 ± 0.00*	0.37 ± 0.00*
TYR	0.72 ± 0.00	0.52 ± 0.01*	1.47 ± 0.01*	0.64 ± 0.01*▪	0.56 ± 0.00*♦	0.50 ± 0.00*♦
VAL	1.74 ± 0.01	1.87 ± 0.01*	1.40 ± 0.00*	2.40 ± 0.00*▪	1.87 ± 0.00*♦	1.98 ± 0.01*♦
MET	0.82 ± 0.01	0.69 ± 0.01*	1.15 ± 0.01*	0.89 ± 0.01*▪	0.77 ± 0.00*♦	0.70 ± 0.01*♦
LYS	0.62 ± 0.01	1.14 ± 0.01*	0.27 ± 0.02*	0.25 ± 0.01*	1.27 ± 0.01*♦	1.21 ± 0.02*♦
ILE	1.84 ± 0.01	1.92 ± 0.00*	1.54 ± 0.02*	2.46 ± 0.01*▪	1.99 ± 0.00*♦	1.93 ± 0.31*♦
LEU	2.74 ± 0.00	3.06 ± 0.00*	2.36 ± 0.01*	3.79 ± 0.01*▪	3.33 ± 0.01*♦	3.08 ± 0.01*▪♦
PHE	2.28 ± 0.01	1.60 ± 0.01*	4.29 ± 0.00*	2.09 ± 0.01*▪	1.93 ± 0.01*♦	1.78 ± 0.02*♦

Valores son media ± DS de 5 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Tt3 respecto a Tt) y (Tv3 (2°) respecto a Tv); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Tv respecto a Tt) (Tv3 (2°) respecto a Tt3).

IV.II.26.- Tabla N.26. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de oliva (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).

	T	T3	TtO	TtO3	TvO	TvO3(2°)
ASP	0.44 ± 0.00	0.85 ± 0.01*	1.01 ± 0.00	1.07 ± 0.00	1.18 ± 0.00	1.08 ± 0.01*
SER	0.67 ± 0.00	0.63 ± 0.01*	0.76 ± 0.01*	0.80 ± 0.01*	0.78 ± 0.01♦	0.77 ± 0.01♦
GLU	0.75 ± 0.00	1.26 ± 0.06*	1.31 ± 0.01*	1.50 ± 0.01*	1.60 ± 0.00♦	1.59 ± 0.01♦
GLY	0.60 ± 0.01	0.91 ± 0.00*	1.11 ± 0.00*	1.12 ± 0.01*	1.21 ± 0.00*	1.17 ± 0.00*
HIS	0.93 ± 0.00	0.40 ± 0.00*	0.52 ± 0.01*	0.52 ± 0.01*	0.52 ± 0.00*	0.51 ± 0.01*
ARG	1.30 ± 0.01	1.03 ± 0.01*	1.35 ± 0.14	1.46 ± 0.01*	1.44 ± 0.00♦	1.42 ± 0.00*
THR	1.43 ± 0.00	1.10 ± 0.01*	1.30 ± 0.00	1.39 ± 0.01*	1.48 ± 0.00	1.46 ± 0.00♦
ALA	1.48 ± 0.01	2.13 ± 0.01*	2.74 ± 0.01*	3.15 ± 0.01*	2.88 ± 0.01♦	2.97 ± 0.01*♦
PRO	0.32 ± 0.01	0.36 ± 0.00*	0.41 ± 0.01*	0.45 ± 0.01*	0.42 ± 0.00♦	0.45 ± 0.01*
TYR	0.72 ± 0.00	0.52 ± 0.01*	0.64 ± 0.00	0.62 ± 0.01*	0.65 ± 0.01*	0.67 ± 0.02
VAL	1.74 ± 0.01	1.87 ± 0.01*	2.10 ± 0.01*	2.31 ± 0.01*	2.08 ± 0.01♦	2.37 ± 0.01*♦
MET	0.82 ± 0.01	0.69 ± 0.01*	0.85 ± 0.01*	0.92 ± 0.01*	0.96 ± 0.01♦	0.87 ± 0.01*♦
LYS	0.62 ± 0.01	1.14 ± 0.01*	1.44 ± 0.01*	1.63 ± 0.01*	1.53 ± 0.01♦	1.47 ± 0.01*♦
ILE	1.84 ± 0.01	1.92 ± 0.00*	1.97 ± 0.01*	2.20 ± 0.01*	2.40 ± 0.00♦	2.30 ± 0.01♦
LEU	2.74 ± 0.00	3.06 ± 0.00*	3.10 ± 0.01*	3.46 ± 0.01*	4.08 ± 0.01♦	3.80 ± 0.02*♦
PHE	2.28 ± 0.01	1.60 ± 0.01*	1.92 ± 0.02*	2.00 ± 0.01*	1.72 ± 0.01♦	1.65 ± 0.00*♦

Valores son media ± DS de 5 determinaciones.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (TtO3 respecto a TtO) y (TvO3 (2°) respecto a TvO); ♦ Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (TtO respecto a TvO) (TtO3 respecto a TvO3 (2°)).

IV.II.27.- Tabla N.27. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha cruda, procesada con aceite de girasol (sous vide y cocinado tradicional). Influencia del almacenamiento a refrigeración (2° C) durante 3 días. (g/ 100 g de alimento).

	T	T3	Ttg	Ttg3	Tvg	Tvg3(2°)
ASP	0.44 ± 0.00	0.85 ± 0.01*	1.10 ± 0.01*	1.04 ± 0.01*▪	1.06 ± 0.01*♦	0.97 ± 0.00*▪♦
SER	0.67 ± 0.00	0.63 ± 0.01*	0.78 ± 0.01*	0.72 ± 0.01*	0.82 ± 0.01*♦	0.79 ± 0.01*
GLU	0.75 ± 0.00	1.26 ± 0.06*	1.60 ± 0.01*	1.53 ± 0.02*	1.57 ± 0.01*	1.45 ± 0.03*
GLY	0.60 ± 0.01	0.91 ± 0.00*	1.18 ± 0.01*	1.12 ± 0.01*	1.22 ± 0.01*	1.20 ± 0.01*
HIS	0.93 ± 0.00	0.40 ± 0.01*	0.51 ± 0.01*	0.46 ± 0.01*▪	0.54 ± 0.01*	0.49 ± 0.01*▪
ARG	1.30 ± 0.01	1.03 ± 0.01*	1.40 ± 0.02*	1.27 ± 0.02*▪	1.44 ± 0.02*	1.37 ± 0.02*▪♦
THR	1.43 ± 0.00	1.10 ± 0.01*	1.41 ± 0.01*	1.28 ± 0.02*▪	1.47 ± 0.01*♦	1.28 ± 0.01*▪
ALA	1.48 ± 0.01	2.13 ± 0.01*	3.23 ± 0.02*	3.05 ± 0.01*▪	2.98 ± 0.03*♦	2.86 ± 0.01*▪♦
PRO	0.32 ± 0.01	0.36 ± 0.01*	0.42 ± 0.01*	0.40 ± 0.01*	0.43 ± 0.01*	0.43 ± 0.01*
TYR	0.72 ± 0.00	0.52 ± 0.01*	0.66 ± 0.01*	0.57 ± 0.01*▪	0.69 ± 0.01*♦	0.64 ± 0.01*▪♦
VAL	1.74 ± 0.01	1.87 ± 0.01*	2.25 ± 0.01*	2.14 ± 0.01*▪	2.30 ± 0.03*♦	2.19 ± 0.01*▪♦
MET	0.82 ± 0.01	0.69 ± 0.01*	0.80 ± 0.01	0.74 ± 0.00*▪	0.85 ± 0.01	0.79 ± 0.00*▪
LYS	0.62 ± 0.01	1.14 ± 0.01*	1.52 ± 0.01*	1.48 ± 0.01*▪	1.47 ± 0.02*♦	1.42 ± 0.01*▪♦
ILE	1.84 ± 0.01	1.92 ± 0.00*	2.23 ± 0.01*	2.10 ± 0.01*▪	2.27 ± 0.02*	2.18 ± 0.00*▪
LEU	2.74 ± 0.00	3.06 ± 0.00	3.49 ± 0.02*	3.17 ± 0.13	3.55 ± 0.05*	3.47 ± 0.01*
PHE	2.28 ± 0.01	1.60 ± 0.01*	1.88 ± 0.12	1.66 ± 0.13	1.88 ± 0.25	1.88 ± 0.07

Valores son media ± DS de 5 determinaciones.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado crudo (T); ▪ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado sin almacenar (T3 respecto a T) (Ttg3 respecto a Ttg) y (Tvg3 (2°) respecto a Tvg); ♦ Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto al pescado procesado de forma tradicional a igualdad del resto de variables (Ttg respecto a Tvg) (Ttg3 respecto a Tvg3 (2°)).

IV.II.28.- Tabla N.28. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Proteína	Grasa	Cenizas
	g/ 100 g alimento				g/100 g sustancia seca		
Tv	65.91 ± 0.18 ^a	22.44 ± 0.30 ^a	10.01 ± 0.09 ^a	1.22 ± 0.02 ^a	65.84 ± 0.88 ^a	29.38 ± 0.26 ^a	3.59 ± 0.05 ^a
Tv3 (2°)	69.04 ± 0.37 ^b	21.81 ± 0.28 ^a	7.72 ± 0.08 ^b	1.43 ± 0.01 ^b	70.44 ± 0.91 ^b	24.95 ± 0.27 ^b	4.60 ± 0.04 ^b
Tv21 (2°)	68.49 ± 0.32 ^c	22.96 ± 0.39 ^b	6.89 ± 0.13 ^c	1.39 ± 0.04 ^b	72.86 ± 1.24 ^c	21.86 ± 0.43 ^c	4.40 ± 0.11 ^c
Tv45 (2°)	67.90 ± 0.20 ^d	22.16 ± 0.36 ^a	7.93 ± 0.09 ^d	1.77 ± 0.03 ^c	69.04 ± 1.12 ^b	24.72 ± 0.28 ^b	5.52 ± 0.09 ^d
Tv3 (10°)	69.36 ± 0.25 ^A	23.37 ± 0.14 ^{A*}	5.32 ± 0.05 ^{A*}	1.85 ± 0.03 ^{A*}	76.28 ± 0.44 ^{A*}	17.36 ± 0.15 ^{A*}	6.05 ± 0.09 ^{A*}
Tv21 (10°)	68.11 ± 0.09 ^{B*}	23.98 ± 0.63 ^{A*}	7.20 ± 0.13 ^{B*}	1.65 ± 0.02 ^{B*}	75.18 ± 1.99 ^A	22.57 ± 0.40 ^{B*}	5.16 ± 0.05 ^{B*}
Tv45 (10°)	68.15 ± 0.62 ^B	21.76 ± 0.58 ^B	8.16 ± 0.03 ^{C*}	1.57 ± 0.04 ^{C*}	68.33 ± 1.81 ^B	25.63 ± 0.11 ^{C*}	4.91 ± 0.14 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.29.- Tabla N.29. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Proteína	Grasa	Cenizas
	g/ 100 g alimento				g/100 g sustancia seca		
TvO	65.00 ± 0.80 ^a	25.27 ± 0.09 ^a	8.19 ± 0.05 ^a	1.48 ± 0.04 ^a	72.21 ± 0.25 ^a	23.40 ± 0.13 ^a	4.22 ± 0.11 ^a
TvO3 (2°)	66.03 ± 0.11 ^{bc}	25.33 ± 0.55 ^a	6.63 ± 0.18 ^b	1.64 ± 0.02 ^b	74.58 ± 1.61 ^b	19.53 ± 0.55 ^b	4.84 ± 0.08 ^b
TvO21 (2°)	65.58 ± 0.88 ^{ab}	24.77 ± 0.65 ^a	7.62 ± 0.09 ^c	1.77 ± 0.08 ^c	71.95 ± 1.89 ^{ac}	22.14 ± 0.26 ^c	5.13 ± 0.24 ^c
TvO45 (2°)	66.47 ± 0.57 ^c	23.57 ± 0.37 ^b	7.38 ± 0.07 ^d	1.80 ± 0.02 ^c	70.31 ± 1.10 ^c	22.01 ± 0.22 ^c	5.37 ± 0.06 ^d
TvO3 (10°)	65.84 ± 0.18 ^A	25.21 ± 0.31 ^A	7.29 ± 0.33 ^{A*}	1.66 ± 0.06 ^A	73.77 ± 0.90 ^A	21.33 ± 0.97 ^{A*}	4.86 ± 0.18 ^A
TvO21 (10°)	66.99 ± 1.38 ^{AB}	23.80 ± 0.43 ^{B*}	7.35 ± 0.07 ^{A*}	1.71 ± 0.01 ^A	72.10 ± 1.29 ^B	22.28 ± 0.22 ^B	5.17 ± 0.04 ^B
TvO45 (10°)	65.00 ± 0.18 ^{B*}	24.58 ± 0.30 ^{C*}	8.27 ± 0.05 ^{B*}	1.91 ± 0.03 ^{B*}	70.23 ± 0.85 ^C	23.63 ± 0.13 ^{C*}	5.49 ± 0.09 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.30.- Tabla N.30. Contenido en agua y macronutrientes de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C.

Muestra	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Proteína	Grasa	Cenizas
	g/ 100 g alimento				g/100 g sustancia seca		
Tvg	65.55 ± 0.96 ^a	25.33 ± 0.05 ^a	7.25 ± 0.09 ^a	1.61 ± 0.04 ^a	73.54 ± 0.16 ^a	21.04 ± 0.25 ^a	4.67 ± 0.10 ^a
Tvg3 (2°)	66.80 ± 0.53 ^b	24.24 ± 0.35 ^b	7.38 ± 0.17 ^a	0.39 ± 0.03 ^b	73.00 ± 1.04 ^b	22.23 ± 0.51 ^b	4.19 ± 0.09 ^b
Tvg21 (2°)	66.13 ± 0.19 ^c	23.69 ± 0.59 ^b	9.01 ± 0.12 ^b	1.59 ± 0.06 ^a	69.95 ± 1.50 ^c	26.61 ± 0.34 ^c	4.69 ± 0.17 ^a
Tvg45 (2°)	65.77 ± 1.11 ^a	24.15 ± 0.23 ^b	10.29 ± 0.30 ^c	1.32 ± 0.01 ^c	67.81 ± 0.56 ^d	28.90 ± 0.86 ^d	3.70 ± 0.04 ^c
Tvg3 (10°)	66.03 ± 0.53 ^A	25.21 ± 0.34 ^{A*}	7.50 ± 0.29 ^A	1.49 ± 0.03 ^{A*}	74.22 ± 1.01 ^A	22.08 ± 0.65 ^A	4.37 ± 0.08 ^{A*}
Tvg21 (10°)	66.68 ± 0.42 ^{B*}	24.78 ± 0.25 ^{B*}	7.15 ± 0.28 ^{A*}	1.59 ± 0.06 ^B	74.36 ± 0.76 ^{A*}	21.47 ± 0.74 ^{A*}	4.77 ± 0.17 ^B
Tvg45 (10°)	67.36 ± 0.22 ^{C*}	25.28 ± 0.09 ^{A*}	6.52 ± 0.16 ^{B*}	1.45 ± 0.03 ^{A*}	77.46 ± 0.29 ^{B*}	19.99 ± 0.44 ^{B*}	4.52 ± 0.09 ^{A*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.31.- Tabla N.31. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g alimento)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
Tv	0.61 ± 0.05	0.23 ± 0.06 ^a	0.84 ± 0.12 ^a	149.7 ± 5.0 ^a	598.0 ± 9.0	19.85 ± 4.36 ^a	24.27 ± 0.22 ^a	249.7 ± 15.4
Tv3 (2°)	0.63 ± 0.11	0.27 ± 0.06 ^a	0.84 ± 0.05 ^a	225.9 ± 12.8 ^b	552.3 ± 17.9	16.89 ± 1.79 ^a	22.18 ± 1.22 ^b	225.8 ± 16.2
Tv21 (2°)	0.59 ± 0.09	0.16 ± 0.03 ^b	0.96 ± 0.04 ^b	243.9 ± 20.1 ^b	545.4 ± 10.3	28.07 ± 4.91 ^b	23.34 ± 1.95 ^{ab}	221.3 ± 5.5
Tv45 (2°)	0.47 ± 0.02	0.17 ± 0.05 ^b	0.98 ± 0.02 ^b	226.0 ± 10.0 ^b	558.2 ± 13.1	21.23 ± 4.73 ^a	23.22 ± 1.47 ^{ab}	227.8 ± 8.4
Tv3 (10°)	0.62 ± 0.05 ^A	0.35 ± 0.08 ^A	0.89 ± 0.02 ^A	407.1 ± 3.6 ^{A*}	614.5 ± 10.2 ^A	30.10 ± 5.54 ^{A*}	24.11 ± 0.41 ^A	242.5 ± 7.0 ^A
Tv21 (10°)	0.54 ± 0.03 ^B	0.14 ± 0.02 ^B	1.04 ± 0.07 ^B	348.4 ± 12.1 ^{B*}	539.5 ± 14.6 ^B	29.38 ± 4.57 ^A	21.69 ± 1.59 ^B	216.3 ± 15.6 ^B
Tv45 (10°)	0.49 ± 0.03 ^B	0.15 ± 0.02 ^B	0.96 ± 0.01 ^C	338.4 ± 7.4 ^{B*}	555.7 ± 20.3 ^B	21.39 ± 3.55 ^B	21.60 ± 2.20 ^B	210.9 ± 0.9 ^{B*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.32.- Tabla N.32. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g alimento)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
TvO	0.54 ± 0.02	0.27 ± 0.02 ^a	0.86 ± 0.07 ^a	191.2 ± 20.5 ^a	623.7 ± 26.9 ^a	18.50 ± 5.42	27.71 ± 1.96 ^a	256.2 ± 24.8 ^a
TvO3 (2°)	0.54 ± 0.02	0.17 ± 0.04 ^b	0.97 ± 0.02 ^b	318.9 ± 14.3 ^b	599.5 ± 15.5 ^{ab}	16.35 ± 0.89	23.01 ± 4.56 ^{ab}	247.3 ± 15.1 ^a
TvO21 (2°)	0.52 ± 0.01	0.17 ± 0.02 ^b	1.01 ± 0.01 ^b	363.0 ± 11.2 ^c	577.2 ± 16.0 ^b	18.76 ± 6.55	22.29 ± 2.10 ^b	235.1 ± 7.9 ^{ab}
TvO45 (2°)	0.53 ± 0.04	0.11 ± 0.02 ^c	1.01 ± 0.02 ^b	401.7 ± 9.6 ^d	550.9 ± 12.1 ^c	25.79 ± 7.82	23.14 ± 0.82 ^b	215.1 ± 12.0 ^b
TvO3 (10°)	0.58 ± 0.03 ^A	0.13 ± 0.01 ^A	0.92 ± 0.03 ^{A*}	354.7 ± 22.2 ^{A*}	585.4 ± 22.5 ^A	19.12 ± 4.01 ^A	24.05 ± 2.20	245.2 ± 21.7 ^A
TvO21 (10°)	0.52 ± 0.02 ^B	0.12 ± 0.01 ^{A*}	0.90 ± 0.03 ^{A*}	360.6 ± 16.8 ^A	555.9 ± 16.8 ^B	21.99 ± 6.73 ^{AB}	22.27 ± 0.80	207.6 ± 4.3 ^{B*}
TvO45 (10°)	0.57 ± 0.03 ^A	0.09 ± 0.00 ^B	1.04 ± 0.05 ^B	404.9 ± 27.9 ^B	567.4 ± 17.1 ^{AB}	27.62 ± 4.81 ^B	22.73 ± 2.00	215.5 ± 18.3 ^B

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.33.- Tabla N.33. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g alimento)

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
Tvg	0.41 ± 0.13 ^a	0.21 ± 0.02 ^a	0.84 ± 0.12	218.5 ± 33.0 ^a	401.6 ± 54.3 ^a	23.52 ± 10.60	22.86 ± 3.42 ^a	222.3 ± 39.1 ^a
Tvg3 (2°)	0.39 ± 0.11 ^{ab}	0.32 ± 0.10 ^b	0.86 ± 0.06	185.8 ± 34.9 ^b	358.7 ± 37.2 ^b	19.36 ± 4.92	20.88 ± 2.12 ^a	221.1 ± 30.4 ^a
Tvg21 (2°)	0.24 ± 0.12 ^c	0.12 ± 0.02 ^c	0.84 ± 0.07	236.3 ± 25.2 ^a	356.1 ± 32.3 ^b	20.83 ± 1.74	17.10 ± 2.60 ^b	207.5 ± 23.5 ^a
Tvg45 (2°)	0.30 ± 0.06 ^{bc}	0.09 ± 0.03 ^c	0.84 ± 0.09	173.7 ± 23.8 ^b	343.6 ± 34.6 ^b	20.11 ± 4.63	20.40 ± 1.97 ^a	170.4 ± 25.1 ^b
Tvg3 (10°)	0.59 ± 0.35	0.23 ± 0.08 ^A	0.83 ± 0.13	190.0 ± 59.4	334.0 ± 69.1	23.02 ± 9.12	20.03 ± 3.97	200.0 ± 35.3
Tvg21 (10°)	0.39 ± 0.12	0.08 ± 0.02 ^B	0.84 ± 0.15	248.2 ± 45.6	342.5 ± 57.8	21.87 ± 3.41	17.36 ± 4.00	178.7 ± 34.9
Tvg45 (10°)	0.39 ± 0.08	0.10 ± 0.03 ^B	0.82 ± 0.17	218.2 ± 20.5*	387.4 ± 31.7	21.97 ± 5.73	20.15 ± 3.67	195.7 ± 32.7

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.34.- Tabla N.34. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g de sustancia seca).

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
Tv	1.78 ± 0.13	0.68 ± 0.16 ^a	2.44 ± 0.35 ^a	439.1 ± 14.7 ^a	1759.7 ± 26.4	58.22 ± 12.78 ^a	71.20 ± 0.63	732.4 ± 45.1
Tv3 (2°)	2.05 ± 0.38	0.88 ± 0.18 ^a	2.71 ± 0.16 ^a	729.5 ± 41.4 ^b	1783.8 ± 57.7	54.57 ± 5.79 ^a	71.65 ± 3.92	729.4 ± 52.4
Tv21 (2°)	1.89 ± 0.29	0.52 ± 0.10 ^b	3.07 ± 0.14 ^b	773.8 ± 63.7 ^b	1730.8 ± 32.8	89.07 ± 15.59 ^b	74.07 ± 6.19	702.1 ± 17.6
Tv45 (2°)	1.46 ± 0.06	0.53 ± 0.16 ^b	3.06 ± 0.07 ^b	1327.2 ± 31.2 ^c	1739.0 ± 40.8	66.12 ± 14.73 ^a	72.33 ± 4.59	709.5 ± 26.2
Tv3 (10°)	2.04 ± 0.17 ^A	1.15 ± 0.25 ^A	2.91 ± 0.08 ^{A*}	1328.8 ± 11.8 ^{A*}	2005.6 ± 33.4 ^{A*}	89.31 ± 11.51 ^{A*}	78.68 ± 1.34 ^{A*}	791.5 ± 22.8 ^{A*}
Tv21 (10°)	1.70 ± 0.10 ^B	0.45 ± 0.06 ^B	3.26 ± 0.22 ^B	773.8 ± 63.7 ^B	1691.8 ± 45.9 ^B	92.12 ± 14.32 ^A	68.03 ± 4.99 ^B	678.3 ± 48.9 ^B
Tv45 (10°)	1.54 ± 0.11 ^B	0.47 ± 0.07 ^B	3.00 ± 0.04 ^B	1062.5 ± 23.1 ^{C*}	1744.7 ± 63.8 ^B	67.16 ± 11.15 ^B	67.81 ± 6.90 ^B	662.3 ± 2.8 ^{B*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.35.- Tabla N.35. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g de sustancia seca).

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
TvO	1.53 ± 0.06	0.76 ± 0.07 ^a	2.46 ± 0.21 ^a	546.4 ± 58.5 ^a	1782.0 ± 76.8 ^a	52.86 ± 15.49	79.19 ± 5.61 ^a	732.1 ± 70.7 ^a
TvO3 (2°)	1.59 ± 0.08	0.50 ± 0.11 ^b	2.85 ± 0.07 ^b	939.0 ± 42.0 ^b	1765.1 ± 45.6 ^a	48.16 ± 2.62	67.74 ± 13.42 ^{ab}	728.2 ± 44.7 ^a
TvO21 (2°)	1.52 ± 0.04	0.51 ± 0.06 ^b	2.95 ± 0.04 ^b	1054.5 ± 32.6 ^c	1677.0 ± 46.5 ^b	54.50 ± 19.04	64.76 ± 6.12 ^b	682.9 ± 23.1 ^{ab}
TvO45 (2°)	1.59 ± 0.13	0.33 ± 0.08 ^c	3.00 ± 0.05 ^b	1198.1 ± 28.8 ^d	1643.2 ± 36.1 ^b	76.91 ± 23.34	69.00 ± 2.45 ^{ab}	641.5 ± 35.7 ^b
TvO3 (10°)	1.70 ± 0.08 ^A	0.38 ± 0.04 ^A	2.70 ± 0.10 ^{A*}	1038.1 ± 65.0 ^{A*}	1713.1 ± 65.9 ^A	55.97 ± 11.75 ^A	70.37 ± 6.44	717.5 ± 63.3 ^A
TvO21 (10°)	1.59 ± 0.05 ^B	0.38 ± 0.05 ^{A*}	2.71 ± 0.10 ^{A*}	1092.4 ± 50.8 ^{AB}	1684.0 ± 50.9 ^{AB}	66.58 ± 20.40 ^{AB}	67.48 ± 2.41	628.9 ± 13.1 ^{B*}
TvO45 (10°)	1.63 ± 0.09 ^{AB}	0.26 ± 0.02 ^B	2.97 ± 0.15 ^B	11556.8 ± 79.7 ^B	1621.2 ± 50.0 ^B	78.90 ± 13.74 ^B	64.95 ± 5.69	615.7 ± 52.3 ^B

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.36.- Tabla N.36. Contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (mg/ 100 g de sustancia seca).

Muestra	Fe	Cu	Zn	Na	K	Ca	Mg	P
Tvg	1.20 ± 0.37 ^a	0.60 ± 0.07 ^a	2.44 ± 0.35	634.1 ± 95.7 ^a	1165.6 ± 157.7	68.28 ± 30.77	66.35 ± 9.92 ^a	645.4 ± 113.6 ^a
Tvg3 (2°)	1.18 ± 0.33 ^a	0.96 ± 0.30 ^b	2.60 ± 0.17	599.6 ± 105.1 ^a	1080.4 ± 112.1	58.30 ± 14.82	62.90 ± 6.39 ^a	665.7 ± 91.7 ^a
Tvg21 (2°)	0.70 ± 0.35 ^b	0.34 ± 0.06 ^c	2.48 ± 0.21	697.7 ± 74.5 ^a	965.0 ± 97.1	61.50 ± 5.15	60.22 ± 5.82 ^a	612.6 ± 69.3 ^a
Tvg45 (2°)	0.84 ± 0.15 ^b	0.25 ± 0.09 ^c	2.35 ± 0.25	487.8 ± 66.9 ^b	1032.2 ± 107.1	56.48 ± 13.00	48.02 ± 7.29 ^b	478.5 ± 70.5 ^b
Tvg3 (10°)	1.73 ± 1.04	0.69 ± 0.24 ^A	2.45 ± 0.38	559.3 ± 175.0 ^A	983.1 ± 203.2	67.78 ± 26.84	58.98 ± 11.67	588.7 ± 103.7
Tvg21 (10°)	1.17 ± 0.35	0.25 ± 0.06 ^B	2.52 ± 0.47	744.8 ± 136.8 ^B	1027.9 ± 173.4	65.64 ± 10.23	52.11 ± 12.00	536.2 ± 104.8
Tvg45 (10°)	1.21 ± 0.27*	0.30 ± 0.08 ^{AB}	2.56 ± 0.52	678.3 ± 63.8 ^{AB*}	1204.2 ± 98.7*	68.28 ± 17.79	62.63 ± 11.40	607.4 ± 101.6*

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.37.- Tabla N.37. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	Tv	Tv3(2°)	Tv21(2°)	Tv45(2°)	Tv3(10°)	Tv21(10°)	Tv45(10°)
C14:0	5.47 ± 0.11 ^a	4.56 ± 0.20 ^b	5.20 ± 0.11 ^c	5.42 ± 0.17 ^a	4.73 ± 0.51 ^A	5.77 ± 0.61 ^B	5.26 ± 0.11 ^{AB}
C15:0	0.50 ± 0.11	0.48 ± 0.08	0.46 ± 0.06	0.47 ± 0.06	0.44 ± 0.13	0.56 ± 0.14	0.43 ± 0.05
C15:1	0.15 ± 0.04	---	---	---	---	---	---
C16:0	19.51 ± 1.08	18.20 ± 2.42	20.21 ± 1.30	18.87 ± 1.17	21.47 ± 0.34 ^{A*}	25.44 ± 5.36 ^B	19.68 ± 0.66 ^{AB}
C16:1	7.40 ± 0.18	6.79 ± 0.29	6.80 ± 0.87	7.11 ± 0.55	6.28 ± 0.87	5.30 ± 2.29	6.79 ± 0.49
C18:0	2.71 ± 0.20	2.67 ± 0.56	3.31 ± 0.50	2.49 ± 0.12	6.41 ± 3.20	4.12 ± 1.55	3.04 ± 0.04 [*]
C18:1	23.33 ± 0.42	22.99 ± 2.13	24.06 ± 1.11	21.79 ± 1.44	21.56 ± 2.40 ^A	20.33 ± 3.28 ^B	23.32 ± 1.03 ^{AB}
C18:1 w-7	2.79 ± 0.14	2.81 ± 0.22	2.85 ± 0.03	2.78 ± 0.24	2.46 ± 0.25	2.97 ± 0.08	2.66 ± 0.22
C18:2	3.38 ± 0.19	3.40 ± 0.21	3.49 ± 0.05	3.39 ± 0.05	3.45 ± 0.05	5.09 ± 1.17 [*]	3.58 ± 0.08 [*]
C18:3	---	---	---	---	---	---	---
C20:1	5.48 ± 0.36 ^a	5.68 ± 0.44 ^a	4.41 ± 0.33 ^b	5.99 ± 0.09 ^a	4.67 ± 0.15 ^{A*}	6.06 ± 0.19 ^{B*}	5.33 ± 0.20 ^{C*}
C20:4	---	---	---	---	---	---	---
C20:5	4.86 ± 0.32	5.30 ± 0.97	5.29 ± 0.15	5.05 ± 0.29	5.05 ± 0.19	3.88 ± 0.95 [*]	5.00 ± 0.22
C22:1	4.97 ± 0.58 ^a	5.63 ± 0.26 ^a	3.47 ± 0.41 ^b	5.00 ± 0.57 ^a	4.08 ± 0.49 [*]	5.63 ± 1.42 [*]	4.76 ± 0.53
C22:5	3.06 ± 0.43 ^a	2.52 ± 0.43 ^a	1.69 ± 0.89 ^b	1.50 ± 0.34 ^b	1.72 ± 0.18 ^{A*}	1.44 ± 0.15 ^{B*}	1.36 ± 0.14 ^B
C22:6	15.64 ± 0.70	15.86 ± 1.34	16.26 ± 0.90	16.55 ± 1.23	15.48 ± 0.55	13.73 ± 1.33 [*]	15.81 ± 1.21

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C. Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C. * Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.38.- Tabla N.38. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	TvO	TvO3(2°)	TvO21(2°)	TvO45(2°)	TvO3(10°)	TvO21(10°)	TvO45(10°)
C14:0	4.80 ± 0.06	4.92 ± 0.87	4.92 ± 0.87	4.73 ± 0.08	4.67 ± 0.03 ^A	4.58 ± 0.06 ^{B*}	4.44 ± 0.05 ^C
C15:0	0.36 ± 0.02	0.39 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.39 ± 0.05	0.44 ± 0.08	0.39 ± 0.05	0.37 ± 0.02
C15:1	0.38 ± 0.15	---	---	---	---	---	---
C16:0	17.36 ± 1.27	24.01 ± 9.01	24.02 ± 9.02	18.87 ± 1.28	20.11 ± 0.77	18.23 ± 1.46	18.52 ± 1.73
C16:1	6.94 ± 0.53	4.64 ± 1.33	4.64 ± 1.33	6.32 ± 0.39	6.02 ± 0.41 ^A	6.21 ± 0.34 ^B	6.50 ± 0.25 ^B
C18:0	2.66 ± 0.08	3.48 ± 1.19	2.57 ± 0.11	2.82 ± 0.13	2.72 ± 0.20 ^{AB}	2.62 ± 0.04 ^A	2.72 ± 0.04 ^B
C18:1	28.38 ± 1.54	28.71 ± 0.16	28.48 ± 1.66	28.97 ± 2.63	28.18 ± 1.63	28.87 ± 0.73	28.53 ± 1.48
C18:1 w-7	2.72 ± 0.16	2.31 ± 0.49	2.69 ± 0.17	2.76 ± 0.14	2.59 ± 0.27	2.63 ± 0.20	2.85 ± 0.11
C18:2	3.96 ± 0.25	3.69 ± 0.65	4.16 ± 0.08	4.09 ± 0.09	4.12 ± 0.06	4.32 ± 0.56	4.14 ± 0.11
C18:3	---	---	---	---	---	---	---
C20:1	4.91 ± 0.29 ^{ab}	4.50 ± 0.53 ^{ab}	5.04 ± 0.20 ^a	4.40 ± 0.15 ^b	4.67 ± 0.15 ^A	5.01 ± 0.20 ^B	4.88 ± 0.28 ^{AB*}
C20:4	---	---	---	---	---	---	---
C20:5	5.06 ± 0.30 ^a	4.63 ± 0.51 ^{ab}	4.59 ± 0.33 ^{ab}	4.36 ± 0.36 ^b	4.33 ± 0.36	4.67 ± 0.47	4.19 ± 0.20
C22:1	4.07 ± 0.58	4.31 ± 0.25	4.32 ± 0.88	4.39 ± 0.59	3.94 ± 0.62	4.46 ± 0.87	3.89 ± 0.71
C22:5	2.48 ± 0.33 ^a	1.34 ± 0.20 ^b	1.17 ± 0.14 ^b	1.35 ± 0.01 ^b	1.32 ± 0.12 ^B	1.35 ± 0.21 ^B	1.35 ± 0.26 ^B
C22:6	14.90 ± 0.83	12.17 ± 5.89	14.90 ± 1.32	14.41 ± 1.52	16.08 ± 1.52 ^A	14.66 ± 1.37 ^{AB}	13.73 ± 0.12 ^B

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C. Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C. * Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.39.- Tabla N.39. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	Tvg	Tvg3(2°)	Tvg21(2°)	Tvg45(2°)	Tvg3(10°)	Tvg21(10°)	Tvg45(10°)
C14:0	4.57 ± 0.13 ^a	4.73 ± 0.07 ^b	4.89 ± 0.03 ^b	5.07 ± 0.15 ^c	4.62 ± 0.18 ^A	4.77 ± 0.10 ^A	5.21 ± 0.25 ^B
C15:0	---	---	---	---	---	---	---
C15:1	---	---	---	---	---	---	---
C16:0	17.76 ± 0.09 ^a	17.70 ± 0.08 ^a	17.93 ± 0.07 ^b	18.49 ± 0.09 ^c	17.91 ± 0.10 ^{A*}	19.40 ± 0.34 ^{B*}	17.70 ± 0.21 ^{A*}
C16:1	6.22 ± 0.11 ^a	6.59 ± 0.20 ^b	6.42 ± 0.08 ^b	6.54 ± 0.14 ^b	6.33 ± 0.07 ^A	5.14 ± 0.11 ^{B*}	6.13 ± 0.02 ^{C*}
C18:0	2.97 ± 0.08 ^a	3.06 ± 0.14 ^b	2.85 ± 0.03 ^c	2.74 ± 0.08 ^c	2.86 ± 0.14 ^{A*}	4.03 ± 0.17 ^B	3.01 ± 0.35 ^A
C18:1	23.16 ± 0.03 ^a	23.14 ± 0.21 ^a	22.85 ± 0.11 ^{ab}	22.60 ± 0.14 ^b	22.86 ± 0.42 ^{A*}	24.60 ± 0.39 ^B	22.58 ± 0.15 ^A
C18:1 w-7	2.46 ± 0.10 ^a	2.51 ± 0.13 ^a	2.38 ± 0.04 ^{ab}	2.28 ± 0.01 ^b	2.56 ± 0.09 ^A	2.29 ± 0.13 ^B	2.49 ± 0.08 ^{A*}
C18:2	9.24 ± 0.05 ^a	9.79 ± 0.04 ^a	8.51 ± 0.33 ^{ab}	8.16 ± 0.37 ^b	8.42 ± 0.08 ^{A*}	10.81 ± 0.13 ^{B*}	9.30 ± 0.30 ^{C*}
C18:3	---	---	---	---	---	---	---
C20:1	4.92 ± 0.27 ^a	5.03 ± 0.16 ^a	4.52 ± 0.08 ^b	4.84 ± 0.29 ^a	4.44 ± 0.14 ^{A*}	3.79 ± 0.37 ^{B*}	4.14 ± 0.17 ^{AB*}
C20:4	---	---	---	---	---	---	---
C20:5	4.82 ± 0.16	4.83 ± 0.32	4.60 ± 0.04	4.53 ± 0.15	4.89 ± 0.39 ^{AB}	4.20 ± 0.02 ^{A*}	4.90 ± 0.10 ^{B*}
C22:1	4.67 ± 0.26 ^a	4.81 ± 0.18 ^a	4.04 ± 0.06 ^b	4.76 ± 0.27 ^a	4.11 ± 0.19 [*]	3.64 ± 0.27	3.97 ± 0.25 [*]
C22:5	---	2.65 ± 0.12 ^a	2.11 ± 0.02 ^b	1.42 ± 0.11 ^c	2.24 ± 0.10 ^{A*}	1.80 ± 0.08 ^{B*}	1.26 ± 0.02 ^C
C22:6	16.22 ± 0.40 ^a	14.34 ± 0.16 ^b	14.49 ± 0.19 ^b	15.02 ± 0.33 ^c	16.86 ± 0.50 ^{A*}	13.13 ± 0.55 ^{B*}	15.56 ± 0.11 ^C

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.40.- Tabla N.40. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).

	Tv	Tv3(2°)	Tv21(2°)	Tv45(2°)	Tv3(10°)	Tv21(10°)	Tv45(10°)
C14:0	0.44 ± 0.01 ^a	0.28 ± 0.01 ^b	0.29 ± 0.00 ^b	0.34 ± 0.01 ^c	0.20 ± 0.02 ^{A*}	0.33 ± 0.03 ^{B*}	0.34 ± 0.01 ^B
C15:0	0.04 ± 0.01	---	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.02 ± 0.01 ^{A*}	0.03 ± 0.01 ^B	0.03 ± 0.00 ^B
C15:1	---	---	---	---	---	---	---
C16:0	1.56 ± 0.09 ^a	1.12 ± 0.15 ^b	1.12 ± 0.07 ^b	1.20 ± 0.07 ^b	0.91 ± 0.01 ^{A*}	1.46 ± 0.31 ^B	1.29 ± 0.04 ^B
C16:1	0.59 ± 0.01 ^a	0.42 ± 0.02 ^b	0.37 ± 0.05 ^b	0.45 ± 0.03 ^b	0.27 ± 0.04 ^{A*}	0.30 ± 0.13 ^A	0.44 ± 0.03 ^B
C18:0	0.22 ± 0.02 ^a	0.16 ± 0.03 ^b	0.18 ± 0.03 ^b	0.16 ± 0.01 ^b	0.27 ± 0.14 [*]	0.24 ± 0.09	0.20 ± 0.00 [*]
C18:1	1.87 ± 0.03 ^a	1.42 ± 0.13 ^b	1.33 ± 0.06 ^b	1.38 ± 0.09 ^b	0.92 ± 0.10 ^{A*}	1.17 ± 0.19 ^A	1.52 ± 0.07 ^{B*}
C18:1 w-7	0.22 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.01 ^b	0.16 ± 0.00 ^b	0.18 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^{A*}	0.07 ± 0.09 ^A	0.17 ± 0.02 ^B
C18:2	0.27 ± 0.02 ^a	0.21 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.00 ^b	0.21 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.00 ^{A*}	0.29 ± 0.07 ^{B*}	0.23 ± 0.01 ^{A*}
C18:3	---	---	---	---	---	---	---
C20:1	0.44 ± 0.03 ^a	0.35 ± 0.03 ^b	0.25 ± 0.02 ^c	0.38 ± 0.01 ^d	0.20 ± 0.00 ^{A*}	0.35 ± 0.01 ^{B*}	0.35 ± 0.01 ^{B*}
C20:4	---	---	---	---	---	---	---
C20:5	0.39 ± 0.03 ^a	0.33 ± 0.06 ^b	0.29 ± 0.01 ^b	0.32 ± 0.02 ^b	0.22 ± 0.01 ^{A*}	0.22 ± 0.06 ^A	0.33 ± 0.01 ^B
C22:1	0.40 ± 0.05 ^a	0.35 ± 0.02 ^b	0.19 ± 0.02 ^c	0.32 ± 0.04 ^b	0.17 ± 0.02 ^{A*}	0.33 ± 0.08 ^{B*}	0.31 ± 0.03 ^B
C22:5	0.24 ± 0.03 ^a	0.15 ± 0.03 ^b	0.09 ± 0.01 ^c	0.10 ± 0.02 ^c	0.07 ± 0.01 [*]	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.04
C22:6	1.25 ± 0.06 ^a	0.98 ± 0.08 ^{bc}	0.89 ± 0.05 ^c	1.05 ± 0.08 ^b	0.66 ± 0.02 ^{A*}	0.79 ± 0.08 ^{B*}	1.03 ± 0.08 ^C

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.41.- Tabla N.41. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).

	TvO	TvO3(2°)	TvO21(2°)	TvO45(2°)	TvO3(10°)	TvO21(10°)	TvO45(10°)
C14:0	0.31 ± 0.00 ^a	0.26 ± 0.05 ^{abc}	0.29 ± 0.01 ^b	0.26 ± 0.01 ^c	0.27 ± 0.01 ^A	0.27 ± 0.01 ^{A*}	0.29 ± 0.01 ^{B*}
C15:0	0.02 ± 0.00	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00
C15:1	0.02 ± 0.01	---	---	---	---	---	---
C16:0	1.14 ± 0.08	1.27 ± 0.48	1.15 ± 0.08	1.12 ± 0.08	1.17 ± 0.05	1.07 ± 0.09	1.22 ± 0.11
C16:1	0.45 ± 0.03 ^a	0.25 ± 0.07 ^b	0.38 ± 0.02 ^b	0.37 ± 0.03 ^b	0.35 ± 0.02 ^{A*}	0.36 ± 0.02 ^A	0.43 ± 0.02 ^{B*}
C18:0	0.17 ± 0.01	0.19 ± 0.06	0.16 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.01 ^{AB}	0.15 ± 0.00 ^A	0.18 ± 0.01 ^{B*}
C18:1	1.86 ± 0.01	1.52 ± 0.01	1.74 ± 0.10	1.71 ± 0.15	1.64 ± 0.09 [*]	1.70 ± 0.04	1.89 ± 0.10
C18:1 w-7	0.18 ± 0.01 ^a	0.12 ± 0.03 ^b	0.16 ± 0.01 ^{ab}	0.16 ± 0.01 ^{ab}	0.15 ± 0.02 ^A	0.16 ± 0.01 ^A	0.19 ± 0.01 ^{B*}
C18:2	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.00 ^{AB*}	0.25 ± 0.03 ^A	0.28 ± 0.00 ^{B*}
C18:3	---	---	---	---	---	---	---
C20:1	0.32 ± 0.02 ^a	0.24 ± 0.03 ^b	0.31 ± 0.01 ^a	0.26 ± 0.01 ^b	0.27 ± 0.01 ^{A*}	0.29 ± 0.01 ^B	0.32 ± 0.02 ^{C*}
C20:4	---	---	---	---	---	---	---
C20:5	0.33 ± 0.02 ^a	0.25 ± 0.02 ^{bd}	0.28 ± 0.02 ^{cd}	0.26 ± 0.02 ^d	0.25 ± 0.02	0.28 ± 0.03	0.28 ± 0.01
C22:1	0.27 ± 0.03	0.18 ± 0.10	0.26 ± 0.05	0.20 ± 0.04	0.23 ± 0.04	0.26 ± 0.05	0.26 ± 0.05
C22:5	0.13 ± 0.03	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.02
C22:6	0.98 ± 0.06	0.65 ± 0.31	0.91 ± 0.08	0.85 ± 0.09	0.94 ± 0.09	0.86 ± 0.08	0.91 ± 0.01

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.42.- Tabla N.42. Contenido en ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).

	Tvg	Tvg3(2°)	Tvg21(2°)	Tvg45(2°)	Tvg3(10°)	Tvg21(10°)	Tvg45(10°)
C14:0	0.26 ± 0.01 ^a	0.25 ± 0.00 ^a	0.35 ± 0.01 ^b	0.42 ± 0.01 ^c	0.298 ± 0.01	0.28 ± 0.01 [*]	0.27 ± 0.01 [*]
C15:0	---	---	---	---	---	---	---
C15:1	---	---	---	---	---	---	---
C16:0	1.03 ± 0.01 ^a	1.04 ± 0.01 ^a	1.29 ± 0.01 ^b	1.52 ± 0.01 ^c	1.06 ± 0.01 ^{A*}	1.13 ± 0.02 ^{B*}	0.91 ± 0.01 ^{C*}
C16:1	0.36 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.01 ^a	0.46 ± 0.01 ^b	0.54 ± 0.01 ^c	0.38 ± 0.01 ^A	0.30 ± 0.01 ^{B*}	0.31 ± 0.01 ^{B*}
C18:0	0.17 ± 0.00 ^a	0.18 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.01 ^b	0.22 ± 0.01 ^c	0.17 ± 0.01 ^A	0.23 ± 0.01 ^{B*}	0.16 ± 0.02 ^{A*}
C18:1	1.34 ± 0.01 ^a	1.37 ± 0.01 ^a	1.65 ± 0.01 ^b	1.86 ± 0.01 ^c	1.35 ± 0.02 ^A	1.43 ± 0.02 ^{B*}	1.16 ± 0.01 ^{C*}
C18:1 w-7	0.14 ± 0.00 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.00 ^b	0.19 ± 0.00 ^c	0.15 ± 0.01 ^A	0.13 ± 0.01 ^{B*}	0.13 ± 0.01 ^{B*}
C18:2	0.54 ± 0.01	0.58 ± 0.00	0.61 ± 0.02	0.68 ± 0.03	0.50 ± 0.01 ^{A*}	0.63 ± 0.01 ^B	0.48 ± 0.01 ^{A*}
C18:3	---	---	---	---	---	---	---
C20:1	0.29 ± 0.02 ^a	0.30 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.01 ^a	0.40 ± 0.03 ^b	0.26 ± 0.01 ^{A*}	0.22 ± 0.02 ^{B*}	0.21 ± 0.01 ^{B*}
C20:4	---	---	---	---	---	---	---
C20:5	0.28 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.00 ^b	0.37 ± 0.01 ^c	0.29 ± 0.03 ^A	0.24 ± 0.01 ^{B*}	0.25 ± 0.01 ^{B*}
C22:1	0.27 ± 0.02 ^a	0.28 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.02 ^b	0.24 ± 0.01 ^A	0.21 ± 0.01 ^{B*}	0.21 ± 0.01 ^{B*}
C22:5	---	0.15 ± 0.01 ^a	0.15 ± 0.00 ^a	0.12 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.01 ^{A*}	0.10 ± 0.01 ^{B*}	0.06 ± 0.01 ^{C*}
C22:6	0.94 ± 0.02 ^a	0.85 ± 0.01 ^b	1.05 ± 0.01 ^c	1.24 ± 0.03 ^d	1.00 ± 0.03 ^{A*}	0.76 ± 0.03 ^{B*}	0.80 ± 0.01 ^{B*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.43.- Tabla N.43. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	Tv	Tv3(2°)	Tv21(2°)	Tv45(2°)	Tv3(10°)	Tv21(10°)	Tv45(10°)
ΣAGS	28.50 ± 0.85 ^{ab}	25.96 ± 2.80 ^{ab}	29.27 ± 0.67 ^a	27.57 ± 0.69 ^b	33.26 ± 2.43 ^{A*}	35.94 ± 7.68 ^A	28.72 ± 0.26 ^{B*}
ΣAGM	44.11 ± 0.30	43.90 ± 2.80	41.61 ± 1.86	42.67 ± 1.69	39.05 ± 3.07 [*]	38.51 ± 5.68	42.86 ± 1.43
ΣAGP	26.94 ± 1.01	27.09 ± 2.94	26.06 ± 0.27	26.49 ± 1.78	25.70 ± 0.70 ^A	24.13 ± 1.24 ^{B*}	25.48 ± 1.27 ^B
AGP/AGS	0.95 ± 0.03	1.06 ± 0.22	0.89 ± 0.02	0.96 ± 0.09	0.78 ± 0.08 [*]	0.71 ± 0.20	0.89 ± 0.05
(AGP+AGM)/AGS	2.50 ± 0.10 ^{ab}	2.76 ± 0.29 ^{ab}	2.31 ± 0.03 ^a	2.51 ± 0.07 ^b	1.96 ± 0.26 [*]	1.85 ± 0.64	2.38 ± 0.02 [*]
w-3	23.56 ± 0.44 ^{ab}	23.68 ± 2.73 ^{ab}	22.57 ± 0.26 ^a	23.10 ± 1.82 ^b	22.25 ± 0.72 ^{A*}	19.04 ± 2.31 ^A	21.90 ± 1.26 ^B
w-6	3.38 ± 0.19 ^{ab}	3.40 ± 0.21 ^{ab}	3.49 ± 0.05 ^a	3.39 ± 0.05 ^b	3.45 ± 0.72 ^{A*}	5.09 ± 1.18 ^{B*}	3.58 ± 0.08 ^{A*}
w-6/w-3	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.00	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.28 ± 0.09 [*]	0.16 ± 0.01

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.44.-Tabla N.44. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesado sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	TvO	TvO3(2°)	TvO21(2°)	TvO45(2°)	TvO3(10°)	TvO21(10°)	TvO45(10°)
ΣAGS	26.09 ± 0.53	32.68 ± 10.79	26.68 ± 1.01	26.56 ± 1.39	27.98 ± 0.45	25.90 ± 1.38	26.08 ± 1.68
ΣAGM	47.40 ± 0.53	43.61 ± 3.87	46.85 ± 1.21	45.95 ± 2.69	45.40 ± 1.64	47.17 ± 0.44	46.66 ± 0.88
ΣAGP	25.90 ± 1.41	21.55 ± 6.98	24.81 ± 1.84	23.68 ± 2.52	25.85 ± 1.67 ^A	25.00 ± 1.46 ^{AB}	23.14 ± 0.99 ^B
AGP/AGS	0.99 ± 0.07	0.77 ± 0.42	0.93 ± 0.10	0.90 ± 0.14	0.92 ± 0.07	0.97 ± 0.10	0.89 ± 0.09
(AGP+AGM)/AGS	2.81 ± 0.09	2.25 ± 0.95	2.69 ± 0.12	2.63 ± 0.13	2.55 ± 0.04	2.80 ± 0.19	2.69 ± 0.17
w-3	21.95 ± 1.27	17.86 ± 6.40	20.65 ± 1.76	19.59 ± 2.61	21.73 ± 1.72	20.68 ± 2.02	19.00 ± 0.88
w-6	3.96 ± 0.25	3.69 ± 0.65	4.16 ± 0.20	4.09 ± 0.21	4.12 ± 0.06	4.32 ± 0.56	4.14 ± 0.11
w-6/w-3	0.18 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.22 ± 0.01

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.45.- Tabla N.45. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de ácidos grasos determinados)

	Tvg	Tvg3(2°)	Tvg21(2°)	Tvg45(2°)	Tvg3(10°)	Tvg21(10°)	Tvg45(10°)
ΣAGS	25.30 ± 0.14 ^a	25.49 ± 0.13 ^a	25.68 ± 0.08 ^a	26.29 ± 0.29 ^b	25.39 ± 0.23 ^A	28.20 ± 0.60 ^{B*}	25.92 ± 0.39 ^A
ΣAGM	41.43 ± 0.39 ^a	42.08 ± 0.22 ^b	40.22 ± 0.06 ^c	41.02 ± 0.28 ^a	40.30 ± 0.12 ^{A*}	39.45 ± 0.75 ^{AB}	39.32 ± 0.15 ^{B*}
ΣAGP	33.32 ± 0.51 ^a	31.62 ± 0.12 ^b	29.72 ± 0.37 ^c	29.12 ± 0.51 ^c	32.42 ± 0.41 ^{A*}	29.94 ± 0.48 ^B	31.03 ± 0.29 ^{C*}
AGP/AGS	1.31 ± 0.03 ^a	1.24 ± 0.00 ^b	1.16 ± 0.02 ^c	1.11 ± 0.03 ^d	1.28 ± 0.03 ^A	1.06 ± 0.04 ^{B*}	1.20 ± 0.03 ^{C*}
(AGP+AGM)/AGS	2.95 ± 0.02 ^a	2.89 ± 0.02 ^b	2.72 ± 0.02 ^c	2.67 ± 0.05 ^d	2.86 ± 0.04 ^A	2.46 ± 0.05 ^{B*}	2.72 ± 0.06 ^C
w-3	23.98 ± 0.51 ^a	21.82 ± 0.15 ^b	21.20 ± 0.18 ^c	20.97 ± 0.31 ^c	24.00 ± 0.41 ^{A*}	19.13 ± 0.46 ^{B*}	21.73 ± 0.03 ^{B*}
w-6	9.24 ± 0.05 ^a	9.79 ± 0.04 ^b	8.51 ± 0.34 ^c	8.16 ± 0.37 ^c	8.42 ± 0.08 ^{A*}	10.81 ± 0.13 ^{B*}	9.30 ± 0.30 ^{C*}
w-6/w-3	0.39 ± 0.01 ^a	0.45 ± 0.00 ^b	0.40 ± 0.02 ^a	0.39 ± 0.02 ^a	0.35 ± 0.01 ^{A*}	0.57 ± 0.02 ^{B*}	0.43 ± 0.01 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.46.- Tabla N.46. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de alimento)

	Tv	Tv3(2°)	Tv21(2°)	Tv45(2°)	Tv3(10°)	Tv21(10°)	Tv45(10°)
ΣAGS	2.28 ± 0.07 ^a	1.60 ± 0.17 ^{bc}	1.61 ± 0.04 ^b	1.75 ± 0.04 ^c	1.42 ± 0.10 ^A	2.07 ± 0.44 ^{AB*}	1.87 ± 0.02 ^{B*}
ΣAGM	3.53 ± 0.02 ^a	2.71 ± 0.17 ^b	2.29 ± 0.10 ^c	2.71 ± 0.11 ^b	1.66 ± 0.13 ^A	2.22 ± 0.33 ^B	2.80 ± 0.09 ^C
ΣAGP	2.16 ± 0.08 ^a	1.67 ± 0.18 ^{bc}	1.44 ± 0.01 ^b	1.68 ± 0.11 ^c	1.09 ± 0.03 ^{A*}	1.39 ± 0.07 ^B	1.66 ± 0.08 ^C
AGP/AGS	0.95 ± 0.06	1.06 ± 0.22	0.89 ± 0.02	0.96 ± 0.09	0.78 ± 0.08 [*]	0.71 ± 0.20	0.89 ± 0.05
(AGP+AGM)/AGS	2.50 ± 0.10 ^a	2.76 ± 0.29 ^a	2.31 ± 0.03 ^b	2.51 ± 0.07 ^a	1.96 ± 0.26 ^{A*}	1.85 ± 0.64 ^A	2.38 ± 0.02 ^{B*}
w-3	1.89 ± 0.08 ^a	1.46 ± 0.17 ^a	1.24 ± 0.01 ^b	1.47 ± 0.12 ^a	0.95 ± 0.03 ^{A*}	1.10 ± 0.13 ^{A*}	1.43 ± 0.08 ^B
w-6	0.27 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.15 ± 0.01 ^{A*}	0.29 ± 0.07 ^{B*}	0.23 ± 0.01 ^B
w-6/w-3	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.01 ^A	0.28 ± 0.09 ^{B*}	0.16 ± 0.01 ^A

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.47.- Tabla N.47. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de alimento)

	TvO	TvO3(2°)	TvO21(2°)	TvO45(2°)	TvO3(10°)	TvO21(10°)	TvO45(10°)
ΣAGS	1.71 ± 0.03	1.73 ± 0.57	1.63 ± 0.06	1.57 ± 0.08	1.63 ± 0.02 ^{AB}	1.52 ± 0.08 ^A	1.72 ± 0.11 ^{B*}
ΣAGM	3.11 ± 0.04 ^a	2.31 ± 0.21 ^b	2.86 ± 0.07 ^c	2.71 ± 0.16 ^c	2.65 ± 0.10 ^{A*}	2.78 ± 0.03 ^A	3.09 ± 0.06 ^{B*}
ΣAGP	1.70 ± 0.09 ^a	1.15 ± 0.37 ^b	1.51 ± 0.11 ^{ab}	1.40 ± 0.15 ^b	1.51 ± 0.10	1.47 ± 0.09	1.53 ± 0.06
AGP/AGS	0.99 ± 0.07	0.77 ± 0.42	0.93 ± 0.10	0.90 ± 0.14	0.92 ± 0.08	0.97 ± 0.10	0.89 ± 0.09
(AGP+AGM)/AGS	2.81 ± 0.09	2.25 ± 0.95	2.69 ± 0.12	2.63 ± 0.13	2.55 ± 0.04 ^A	2.79 ± 0.19 ^B	2.69 ± 0.17 ^{AB}
w-3	1.44 ± 0.08 ^a	0.95 ± 0.34 ^b	1.26 ± 0.11 ^b	1.16 ± 0.15 ^b	1.27 ± 0.10	1.22 ± 0.12	1.26 ± 0.06
w-6	0.26 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.26 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.24 ± 0.00 [*]	0.25 ± 0.03	0.28 ± 0.01 [*]
w-6/w-3	0.18 ± 0.01	0.22 ± 0.06	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.03	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.22 ± 0.01

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.48.- Tabla N.48. Σ Ácidos grasos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g de alimento)

	Tvg	Tvg3(2°)	Tvg21(2°)	Tvg45(2°)	Tvg3(10°)	Tvg21(10°)	Tvg45(10°)
ΣAGS	1.47 ± 0.01 ^a	1.50 ± 0.01 ^b	1.85 ± 0.01 ^c	2.17 ± 0.02 ^d	1.50 ± 0.01 ^A	1.64 ± 0.03 ^{B*}	1.33 ± 0.02 ^{C*}
ΣAGM	2.40 ± 0.02 ^a	2.49 ± 0.01 ^b	2.90 ± 0.01 ^c	3.39 ± 0.02 ^d	2.38 ± 0.01 ^{A*}	2.30 ± 0.04 ^{A*}	2.02 ± 0.01 ^{B*}
ΣAGP	1.76 ± 0.03 ^a	1.87 ± 0.01 ^b	2.14 ± 0.03 ^c	2.40 ± 0.04 ^d	1.92 ± 0.02 ^{A*}	1.74 ± 0.03 ^{B*}	1.60 ± 0.01 ^{C*}
AGP/AGS	1.20 ± 0.03 ^a	1.24 ± 0.01 ^b	1.16 ± 0.01 ^c	1.11 ± 0.03 ^d	1.28 ± 0.03 ^{A*}	1.06 ± 0.04 ^{B*}	1.20 ± 0.02 ^{C*}
(AGP+AGM)/AGS	2.83 ± 0.02 ^a	2.89 ± 0.02 ^b	2.72 ± 0.02 ^c	2.67 ± 0.05 ^c	2.87 ± 0.04 ^A	2.46 ± 0.05 ^{B*}	2.71 ± 0.06 ^{BC}
w-3	1.22 ± 0.03 ^a	1.29 ± 0.01 ^b	1.53 ± 0.01 ^c	1.73 ± 0.03 ^d	1.42 ± 0.02 ^{A*}	1.12 ± 0.02 ^{B*}	0.12 ± 0.00 ^{B*}
w-6	0.54 ± 0.00 ^a	0.58 ± 0.00 ^b	0.61 ± 0.02 ^c	0.68 ± 0.03 ^d	0.50 ± 0.01 ^{A*}	0.63 ± 0.01 ^{B*}	0.48 ± 0.01 ^{A*}
w-6/w-3	0.44 ± 0.01 ^a	0.45 ± 0.01 ^a	0.40 ± 0.01 ^b	0.39 ± 0.02 ^b	0.35 ± 0.01 ^{A*}	0.57 ± 0.01 ^{B*}	0.43 ± 0.01 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.49.- Tabla N.49. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g aminoácidos determinados).

	Tv	Tv3(2°)	Tv21(2°)	Tv45(2°)	Tv3(10°)	Tv21(10°)	Tv45(10°)
ASP	4.23 ± 0.01 ^a	4.11 ± 0.01 ^b	3.97 ± 0.01 ^c	4.19 ± 0.01 ^d	4.19 ± 0.01 ^{A*}	4.08 ± 0.01 ^{B*}	3.54 ± 0.03 ^{C*}
SER	3.00 ± 0.02 ^a	2.92 ± 0.01 ^b	3.06 ± 0.01 ^c	2.86 ± 0.01 ^d	3.00 ± 0.02 ^{A*}	2.93 ± 0.01 ^{B*}	2.83 ± 0.03 ^C
GLU	6.19 ± 0.03 ^a	6.03 ± 0.03 ^b	5.90 ± 0.02 ^c	6.08 ± 0.01 ^d	6.15 ± 0.04 ^{A*}	5.95 ± 0.02 ^B	5.21 ± 0.05 ^{C*}
GLY	4.61 ± 0.05 ^a	4.55 ± 0.04 ^b	4.67 ± 0.01 ^a	4.34 ± 0.01 ^c	4.69 ± 0.05 ^{A*}	4.63 ± 0.01 ^{A*}	4.28 ± 0.02 ^B
HIS	2.00 ± 0.01 ^a	1.98 ± 0.01 ^a	2.09 ± 0.01 ^b	1.88 ± 0.01 ^c	2.02 ± 0.01 ^{A*}	2.00 ± 0.01 ^{A*}	1.93 ± 0.01 ^{B*}
ARG	5.63 ± 0.01 ^a	5.48 ± 0.04 ^b	5.70 ± 0.02 ^c	5.23 ± 0.02 ^d	5.58 ± 0.01 ^{A*}	5.53 ± 0.03 ^{B*}	5.21 ± 0.02 ^C
THR	5.59 ± 0.01 ^a	5.57 ± 0.04 ^a	5.77 ± 0.01 ^b	5.33 ± 0.00 ^c	5.64 ± 0.02 ^{A*}	5.50 ± 0.02 ^{B*}	5.37 ± 0.02 ^C
ALA	12.60 ± 0.08 ^a	12.47 ± 0.16 ^a	12.83 ± 0.15 ^b	14.06 ± 0.07 ^c	12.06 ± 0.02 ^{A*}	13.08 ± 0.06 ^B	18.47 ± 0.14 ^{C*}
PRO	1.79 ± 0.00 ^a	1.68 ± 0.01 ^b	1.70 ± 0.02 ^b	1.68 ± 0.00 ^b	1.71 ± 0.01 ^{A*}	1.71 ± 0.01 ^A	1.56 ± 0.02 ^{B*}
TYR	2.50 ± 0.01 ^a	2.31 ± 0.01 ^b	2.58 ± 0.06 ^c	2.41 ± 0.05 ^d	2.44 ± 0.01 ^{A*}	2.55 ± 0.05 ^{AB}	2.58 ± 0.02 ^{B*}
VAL	8.35 ± 0.02 ^a	9.07 ± 0.05 ^b	8.59 ± 0.01 ^c	8.78 ± 0.01 ^d	8.96 ± 0.01 ^{A*}	8.82 ± 0.02 ^{B*}	7.77 ± 0.06 ^{C*}
MET	3.42 ± 0.01 ^a	3.20 ± 0.04 ^b	3.33 ± 0.01 ^c	3.14 ± 0.01 ^b	3.31 ± 0.01 ^{A*}	3.20 ± 0.06 ^{B*}	3.05 ± 0.02 ^{C*}
LYS	5.67 ± 0.03 ^a	5.55 ± 0.09 ^b	5.18 ± 0.01 ^c	5.61 ± 0.04 ^b	3.60 ± 0.01 ^A	5.42 ± 0.01 ^{B*}	4.47 ± 0.03 ^{C*}
ILE	8.88 ± 0.01 ^a	8.84 ± 0.05 ^a	8.40 ± 0.09 ^b	8.44 ± 0.02 ^b	8.67 ± 0.04 ^{A*}	8.53 ± 0.03 ^B	7.60 ± 0.05 ^{C*}
LEU	14.83 ± 0.05 ^a	14.13 ± 0.05 ^b	13.74 ± 0.08 ^c	13.81 ± 0.01 ^c	14.14 ± 0.03 ^A	13.81 ± 0.03 ^B	12.44 ± 0.09 ^{C*}
PHE	8.60 ± 0.04 ^a	8.15 ± 0.11 ^b	8.15 ± 0.01 ^b	8.23 ± 0.00 ^c	8.22 ± 0.01 ^{AB}	8.24 ± 0.01 ^{A*}	8.21 ± 0.01 ^B

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.50.- Tabla N.50. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g aminoácidos determinados).

	TvO	TvO3(2°)	TvO21(2°)	TvO45(2°)	TvO3(10°)	TvO21(10°)	TvO45(10°)
ASP	4.67 ± 0.01 ^a	4.28 ± 0.04 ^b	4.19 ± 0.02 ^c	4.22 ± 0.01 ^c	4.10 ± 0.02 ^{A*}	4.35 ± 0.02 ^{B*}	3.84 ± 0.01 ^{C*}
SER	3.10 ± 0.01 ^a	3.05 ± 0.02 ^b	4.10 ± 0.02 ^c	3.11 ± 0.01 ^a	3.11 ± 0.02 ^{A*}	3.08 ± 0.01 ^{A*}	3.15 ± 0.01 ^{B*}
GLU	6.33 ± 0.01 ^a	6.27 ± 0.04 ^b	5.85 ± 0.01 ^c	6.17 ± 0.02 ^d	6.07 ± 0.04 ^{A*}	6.32 ± 0.03 ^{B*}	5.67 ± 0.02 ^{C*}
GLY	4.77 ± 0.01 ^a	4.61 ± 0.01 ^b	4.89 ± 0.01 ^c	4.59 ± 0.01 ^d	4.63 ± 0.03 ^A	4.64 ± 0.02 ^{A*}	4.53 ± 0.02 ^{B*}
HIS	2.07 ± 0.01 ^a	2.03 ± 0.01 ^b	2.21 ± 0.01 ^c	2.12 ± 0.01 ^d	2.17 ± 0.01 ^{A*}	1.91 ± 0.01 ^{B*}	2.10 ± 0.01 ^C
ARG	5.72 ± 0.01 ^a	5.62 ± 0.01 ^b	5.31 ± 0.01 ^c	5.76 ± 0.02 ^d	5.87 ± 0.02 ^{A*}	5.44 ± 0.02 ^{B*}	5.47 ± 0.00 ^{B*}
THR	5.86 ± 0.01 ^a	5.76 ± 0.01 ^b	5.73 ± 0.01 ^c	5.81 ± 0.01 ^d	5.98 ± 0.01 ^{A*}	5.59 ± 0.02 ^{B*}	6.45 ± 0.06 ^{C*}
ALA	11.41 ± 0.04 ^a	11.71 ± 0.01 ^b	13.23 ± 0.01 ^c	13.45 ± 0.04 ^d	11.46 ± 0.03 ^{A*}	14.22 ± 0.10 ^{B*}	14.21 ± 0.10 ^{B*}
PRO	1.65 ± 0.00 ^a	1.76 ± 0.01 ^b	1.68 ± 0.01 ^c	1.68 ± 0.01 ^c	1.76 ± 0.01 ^A	1.72 ± 0.01 ^{B*}	1.59 ± 0.01 ^{C*}
TYR	2.59 ± 0.01 ^a	2.65 ± 0.06 ^b	2.69 ± 0.01 ^b	2.72 ± 0.00 ^b	2.83 ± 0.01 ^{A*}	2.58 ± 0.01 ^{B*}	2.74 ± 0.06 ^{AB}
VAL	8.24 ± 0.02 ^a	9.37 ± 0.03 ^b	8.75 ± 0.02 ^c	8.69 ± 0.02 ^d	9.19 ± 0.01 ^{A*}	8.55 ± 0.01 ^{B*}	7.97 ± 0.03 ^{C*}
MET	3.78 ± 0.02 ^a	3.43 ± 0.01 ^b	3.13 ± 0.01 ^c	3.22 ± 0.01 ^d	3.53 ± 0.01 ^{A*}	3.19 ± 0.01 ^{B*}	3.11 ± 0.03 ^{C*}
LYS	6.07 ± 0.01 ^a	5.78 ± 0.06 ^{ab}	5.46 ± 0.04 ^c	5.71 ± 0.01 ^{bc}	5.43 ± 0.05 ^{A*}	5.91 ± 0.01 ^{B*}	5.13 ± 0.03 ^{C*}
ILE	9.49 ± 0.01 ^a	9.09 ± 0.07 ^b	8.36 ± 0.03 ^c	8.47 ± 0.04 ^d	8.95 ± 0.07 ^A	8.30 ± 0.02 ^B	7.91 ± 0.02 ^{C*}
LEU	16.14 ± 0.04 ^a	15.02 ± 0.08 ^b	13.60 ± 0.09 ^c	13.86 ± 0.06 ^d	14.86 ± 0.16 ^A	13.97 ± 0.02 ^{B*}	12.86 ± 0.11 ^{C*}
PHE	6.79 ± 0.01 ^a	6.52 ± 0.01 ^{bc}	6.53 ± 0.01 ^b	6.50 ± 0.01 ^c	6.49 ± 0.01 ^A	6.57 ± 0.02 ^{B*}	6.45 ± 0.01 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.51.- Tabla N.51. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g aminoácidos determinados).

	Tvg	Tvg3(2°)	Tvg21(2°)	Tvg45(2°)	Tvg3(10°)	Tvg21(10°)	Tvg45(10°)
ASP	4.18 ± 0.06 ^a	4.00 ± 0.03 ^b	3.91 ± 0.02 ^c	4.48 ± 0.04 ^d	4.12 ± 0.02 ^{A*}	4.39 ± 0.01 ^{B*}	4.45 ± 0.06 ^C
SER	3.23 ± 0.04 ^a	3.25 ± 0.01 ^a	3.04 ± 0.01 ^b	3.05 ± 0.02 ^b	3.12 ± 0.01 ^{A*}	3.15 ± 0.02 ^{B*}	3.06 ± 0.01 ^C
GLU	6.19 ± 0.05 ^a	5.99 ± 0.10 ^b	5.83 ± 0.01 ^c	6.47 ± 0.05 ^d	6.09 ± 0.01 ^A	6.53 ± 0.02 ^{B*}	6.52 ± 0.02 ^B
GLY	4.80 ± 0.05 ^a	4.95 ± 0.03 ^b	4.67 ± 0.01 ^c	4.57 ± 0.03 ^c	4.70 ± 0.02 ^{A*}	4.92 ± 0.01 ^{B*}	4.55 ± 0.01 ^C
HIS	2.15 ± 0.023 ^a	2.02 ± 0.01 ^b	2.08 ± 0.01 ^c	1.90 ± 0.01 ^d	1.97 ± 0.01 [*]	1.93 ± 0.03 [*]	1.97 ± 0.01 [*]
ARG	5.70 ± 0.07 ^a	5.65 ± 0.07 ^{ab}	5.56 ± 0.03 ^b	5.22 ± 0.03 ^c	5.42 ± 0.06 ^{A*}	5.55 ± 0.02 ^B	5.24 ± 0.04 ^C
THR	5.81 ± 0.03 ^a	5.79 ± 0.03 ^a	5.60 ± 0.03 ^b	5.33 ± 0.03 ^c	5.49 ± 0.06 ^{AB*}	5.54 ± 0.01 ^{A*}	5.51 ± 0.04 ^{B*}
ALA	11.76 ± 0.12 ^a	11.79 ± 0.06 ^a	13.80 ± 0.07 ^b	13.10 ± 0.03 ^c	12.47 ± 0.02 ^{A*}	11.69 ± 0.01 ^{B*}	11.35 ± 0.01 ^{C*}
PRO	1.69 ± 0.02 ^a	1.76 ± 0.01 ^b	1.68 ± 0.01 ^a	1.81 ± 0.02 ^c	1.74 ± 0.00 ^A	1.85 ± 0.01 ^{B*}	1.81 ± 0.01 ^C
TYR	2.72 ± 0.04 ^a	2.62 ± 0.01 ^b	2.80 ± 0.02 ^c	2.43 ± 0.00 ^d	2.47 ± 0.02 ^{A*}	2.49 ± 0.00 ^{A*}	2.54 ± 0.01 ^{B*}
VAL	9.07 ± 0.11 ^a	9.02 ± 0.03 ^a	8.48 ± 0.03 ^b	9.01 ± 0.04 ^a	9.24 ± 0.02 ^{A*}	9.05 ± 0.01 ^{B*}	9.30 ± 0.01 ^{C*}
MET	3.37 ± 0.04 ^a	3.27 ± 0.01 ^b	3.26 ± 0.02 ^b	3.11 ± 0.01 ^c	3.20 ± 0.01 ^{A*}	3.23 ± 0.01 ^B	3.24 ± 0.01 ^{B*}
LYS	5.79 ± 0.06 ^a	5.87 ± 0.02 ^a	5.05 ± 0.03 ^b	6.18 ± 0.12 ^c	5.99 ± 0.04 ^{A*}	6.32 ± 0.01 ^{B*}	6.30 ± 0.01 ^B
ILE	8.98 ± 0.08 ^a	8.99 ± 0.02 ^a	8.48 ± 0.02 ^b	9.05 ± 0.06 ^a	9.24 ± 0.01 ^{A*}	9.07 ± 0.03 ^{B*}	9.36 ± 0.04 ^{C*}
LEU	14.00 ± 0.08 ^a	14.31 ± 0.04 ^b	13.20 ± 0.04 ^c	14.25 ± 0.10 ^b	14.23 ± 0.06 ^A	14.50 ± 0.05 ^{B*}	14.77 ± 0.08 ^{C*}
PHE	7.40 ± 0.98 ^a	7.74 ± 0.30 ^a	8.60 ± 0.31 ^b	7.65 ± 0.10 ^a	7.66 ± 0.27 ^{AB}	7.43 ± 0.02 ^{A*}	7.98 ± 0.04 ^{B*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.52.- Tabla N.52. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).

	Tv	Tv3(2°)	Tv21(2°)	Tv45(2°)	Tv3(10°)	Tv21(10°)	Tv45(10°)
ASP	0.95 ± 0.00 ^a	0.90 ± 0.01 ^b	0.91 ± 0.00 ^{bc}	0.93 ± 0.00 ^c	0.98 ± 0.01 ^{A*}	0.98 ± 0.00 ^{A*}	0.77 ± 0.01 ^{B*}
SER	0.67 ± 0.00 ^a	0.64 ± 0.01 ^b	0.70 ± 0.00 ^c	0.63 ± 0.01 ^b	0.70 ± 0.01 ^{A*}	0.70 ± 0.00 ^A	0.62 ± 0.01 ^B
GLU	1.39 ± 0.01 ^a	1.32 ± 0.01 ^b	1.35 ± 0.01 ^c	1.35 ± 0.00 ^c	1.44 ± 0.01 ^{A*}	1.42 ± 0.01 ^{A*}	1.13 ± 0.01 ^{B*}
GLY	1.04 ± 0.01 ^a	0.99 ± 0.01 ^b	1.07 ± 0.01 ^c	0.96 ± 0.00 ^d	1.10 ± 0.01 ^{A*}	1.11 ± 0.00 ^{A*}	0.93 ± 0.01 ^{B*}
HIS	0.45 ± 0.01	0.43 ± 0.01	0.48 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.47 ± 0.01 ^{A*}	0.48 ± 0.01 ^A	0.42 ± 0.01 ^B
ARG	1.26 ± 0.00 ^a	1.20 ± 0.01 ^b	1.31 ± 0.00 ^c	1.16 ± 0.01 ^d	1.30 ± 0.01 ^{A*}	1.32 ± 0.01 ^B	1.14 ± 0.01 ^C
THR	1.25 ± 0.00 ^a	1.21 ± 0.01 ^b	1.32 ± 0.01 ^c	1.18 ± 0.00 ^d	1.32 ± 0.01 ^{A*}	1.32 ± 0.01 ^A	1.17 ± 0.01 ^B
ALA	2.83 ± 0.02 ^a	2.27 ± 0.03 ^b	2.95 ± 0.03 ^c	3.11 ± 0.01 ^d	2.82 ± 0.01 ^{A*}	3.14 ± 0.01 ^{B*}	4.02 ± 0.03 ^{C*}
PRO	0.40 ± 0.00	0.37 ± 0.00	0.39 ± 0.00	0.37 ± 0.01	0.40 ± 0.00 ^{A*}	0.41 ± 0.00 ^A	0.34 ± 0.01 ^B
TYR	0.56 ± 0.00 ^a	0.50 ± 0.00 ^b	0.59 ± 0.01 ^c	0.53 ± 0.01 ^d	0.57 ± 0.00 ^{AB*}	0.61 ± 0.01 ^A	0.56 ± 0.00 ^B
VAL	1.87 ± 0.00 ^a	1.98 ± 0.01 ^b	1.97 ± 0.00 ^b	1.94 ± 0.01 ^c	2.09 ± 0.01 ^{A*}	2.11 ± 0.01 ^{B*}	1.69 ± 0.01 ^{C*}
MET	0.77 ± 0.00 ^a	0.70 ± 0.01 ^b	0.76 ± 0.01 ^a	0.70 ± 0.01 ^b	0.77 ± 0.01 ^{A*}	0.77 ± 0.00 ^A	0.68 ± 0.01 ^B
LYS	1.27 ± 0.01 ^a	1.21 ± 0.02 ^b	1.19 ± 0.01 ^b	1.24 ± 0.01 ^b	1.31 ± 0.01 ^{A*}	1.30 ± 0.00 ^{A*}	0.97 ± 0.02 ^B
ILE	1.99 ± 0.01 ^a	1.93 ± 0.31 ^b	1.93 ± 0.02 ^b	1.87 ± 0.01 ^c	2.02 ± 0.01 ^{A*}	2.04 ± 0.01 ^{B*}	1.65 ± 0.01 ^{C*}
LEU	3.33 ± 0.01 ^a	3.08 ± 0.01 ^b	3.15 ± 0.01 ^c	3.06 ± 0.00 ^b	3.31 ± 0.01 ^{A*}	3.31 ± 0.01 ^{A*}	2.71 ± 0.02 ^{B*}
PHE	1.93 ± 0.01 ^a	1.78 ± 0.02 ^b	1.87 ± 0.00 ^c	1.83 ± 0.02 ^b	1.92 ± 0.01 ^{A*}	1.97 ± 0.01 ^{B*}	1.79 ± 0.02 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.53.- Tabla N.53. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de oliva y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).

	TvO	TvO3(2°)	TvO21(2°)	TvO45(2°)	TvO3(10°)	TvO21(10°)	TvO45(10°)
ASP	1.18 ± 0.00 ^a	1.08 ± 0.01 ^b	1.04 ± 0.00 ^c	1.00 ± 0.01 ^d	1.03 ± 0.01 ^{A*}	1.03 ± 0.01 ^A	0.94 ± 0.00 ^{B*}
SER	0.78 ± 0.01 ^a	0.77 ± 0.01 ^a	1.02 ± 0.01 ^b	0.73 ± 0.01 ^c	0.78 ± 0.01 ^A	0.73 ± 0.01 ^{B*}	0.78 ± 0.01 ^{A*}
GLU	1.60 ± 0.00 ^a	1.59 ± 0.01 ^a	1.45 ± 0.00 ^b	1.46 ± 0.01 ^b	1.53 ± 0.01 ^{A*}	1.51 ± 0.01 ^{A*}	1.40 ± 0.00 ^{B*}
GLY	1.21 ± 0.01 ^a	1.17 ± 0.01 ^b	1.21 ± 0.01 ^a	1.08 ± 0.01 ^c	1.17 ± 0.01 ^A	1.10 ± 0.01 ^{B*}	1.11 ± 0.00 ^{B*}
HIS	0.52 ± 0.01 ^a	0.51 ± 0.01 ^a	0.55 ± 0.01 ^b	0.50 ± 0.01 ^a	0.55 ± 0.00 ^{A*}	0.46 ± 0.01 ^{B*}	0.52 ± 0.01 ^{C*}
ARG	1.44 ± 0.01 ^a	1.42 ± 0.01 ^a	1.32 ± 0.01 ^b	1.36 ± 0.01 ^c	1.48 ± 0.01 ^{A*}	1.30 ± 0.01 ^{B*}	1.35 ± 0.00 ^C
THR	1.48 ± 0.01 ^a	1.46 ± 0.01 ^a	1.42 ± 0.01 ^b	1.37 ± 0.00 ^c	1.51 ± 0.00 ^A	1.33 ± 0.01 ^{B*}	1.59 ± 0.01 ^{C*}
ALA	2.88 ± 0.01 ^a	2.97 ± 0.01 ^b	3.28 ± 0.01 ^c	3.17 ± 0.01 ^d	2.89 ± 0.01 ^{A*}	3.39 ± 0.02 ^{B*}	3.50 ± 0.02 ^{C*}
PRO	0.42 ± 0.01 ^a	0.45 ± 0.01 ^b	0.42 ± 0.01 ^a	0.40 ± 0.01 ^a	0.44 ± 0.01 ^A	0.41 ± 0.00 ^B	0.39 ± 0.00 ^B
TYR	0.65 ± 0.01	0.67 ± 0.02	0.67 ± 0.01	0.64 ± 0.00	0.71 ± 0.01 ^{A*}	0.61 ± 0.00 ^{B*}	0.67 ± 0.01 ^{C*}
VAL	2.08 ± 0.01 ^a	2.37 ± 0.01 ^b	2.17 ± 0.01 ^c	2.05 ± 0.01 ^d	2.32 ± 0.01 ^{A*}	2.03 ± 0.01 ^{B*}	1.96 ± 0.01 ^{C*}
MET	0.96 ± 0.01 ^a	0.87 ± 0.01 ^b	0.78 ± 0.01 ^c	0.76 ± 0.00 ^c	0.89 ± 0.01 ^{A*}	0.76 ± 0.00 ^{B*}	0.76 ± 0.01 ^B
LYS	1.53 ± 0.01 ^a	1.47 ± 0.01 ^b	1.35 ± 0.01 ^c	1.35 ± 0.01 ^c	1.37 ± 0.01 ^{A*}	1.41 ± 0.01 ^{B*}	1.26 ± 0.01 ^{C*}
ILE	2.40 ± 0.00 ^a	2.30 ± 0.01 ^b	2.07 ± 0.01 ^c	2.00 ± 0.01 ^d	2.26 ± 0.01 ^{A*}	1.98 ± 0.01 ^{B*}	1.94 ± 0.01 ^{C*}
LEU	4.08 ± 0.01 ^a	3.80 ± 0.02 ^b	3.37 ± 0.02 ^c	3.27 ± 0.01 ^d	3.74 ± 0.04 ^A	3.33 ± 0.01 ^B	3.17 ± 0.03 ^{C*}
PHE	1.72 ± 0.01 ^a	1.65 ± 0.00 ^b	1.62 ± 0.01 ^b	1.53 ± 0.00 ^c	1.64 ± 0.01 ^A	1.56 ± 0.01 ^{B*}	1.59 ± 0.01 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas ($p < 0,05$) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.54.- Tabla N.54. Contenido en aminoácidos de rodajas de trucha procesada sous vide con aceite de girasol y almacenado durante 3, 21 y 45 días a 2° y 10° C (g/ 100 g alimento).

	Tvg	Tvg3(2°)	Tvg21(2°)	Tvg45(2°)	Tvg3(10°)	Tvg21(10°)	Tvg45(10°)
ASP	1.06 ± 0.01 ^a	0.97 ± 0.01 ^b	0.92 ± 0.01 ^c	1.08 ± 0.01 ^a	1.04 ± 0.01 ^{A*}	1.09 ± 0.06 ^{B*}	1.13 ± 0.00 ^{C*}
SER	0.82 ± 0.01 ^a	0.79 ± 0.01 ^b	0.72 ± 0.01 ^c	0.74 ± 0.01 ^c	0.78 ± 0.01	0.78 ± 0.01 [*]	0.77 ± 0.01 [*]
GLU	1.57 ± 0.01 ^a	1.45 ± 0.03 ^b	1.38 ± 0.00 ^b	1.56 ± 0.01 ^a	1.53 ± 0.01 ^{A*}	1.62 ± 0.01 ^{B*}	1.65 ± 0.01 ^{C*}
GLY	1.22 ± 0.01 ^a	1.20 ± 0.01 ^a	1.10 ± 0.01 ^b	1.10 ± 0.01 ^b	1.18 ± 0.01 ^{A*}	1.22 ± 0.01 ^{B*}	1.15 ± 0.01 ^{C*}
HIS	0.54 ± 0.00 ^a	0.49 ± 0.00 ^b	0.49 ± 0.01 ^b	0.46 ± 0.00 ^c	0.50 ± 0.00	0.48 ± 0.01 [*]	0.50 ± 0.00 [*]
ARG	1.44 ± 0.02 ^a	1.37 ± 0.02 ^b	1.31 ± 0.01 ^c	1.26 ± 0.01 ^d	1.37 ± 0.01 ^A	1.37 ± 0.01 ^{A*}	1.33 ± 0.01 ^{B*}
THR	1.47 ± 0.01 ^a	1.28 ± 0.01 ^b	1.32 ± 0.01 ^c	1.29 ± 0.01 ^d	1.39 ± 0.01	1.37 ± 0.00 [*]	1.39 ± 0.00 [*]
ALA	2.98 ± 0.03 ^a	2.86 ± 0.01 ^b	3.27 ± 0.02 ^c	3.16 ± 0.01 ^d	3.15 ± 0.01 ^{A*}	2.90 ± 0.01 ^{B*}	2.87 ± 0.01 ^{C*}
PRO	0.43 ± 0.00 ^a	0.43 ± 0.01 ^a	0.40 ± 0.00 ^b	0.44 ± 0.01 ^a	0.44 ± 0.01	0.46 ± 0.01 [*]	0.46 ± 0.00 [*]
TYR	0.69 ± 0.01 ^a	0.64 ± 0.01 ^b	0.66 ± 0.01 ^c	0.59 ± 0.00 ^d	0.62 ± 0.01 [*]	0.62 ± 0.01 [*]	0.64 ± 0.01 [*]
VAL	2.30 ± 0.03 ^a	2.19 ± 0.01 ^b	2.01 ± 0.01 ^c	2.18 ± 0.01 ^b	2.33 ± 0.01 [*]	2.24 ± 0.01 [*]	2.35 ± 0.00 [*]
MET	0.85 ± 0.01 ^a	0.79 ± 0.00 ^b	0.77 ± 0.01 ^c	0.75 ± 0.00 ^d	0.81 ± 0.01 [*]	0.80 ± 0.01 [*]	0.82 ± 0.00 [*]
LYS	1.47 ± 0.02 ^a	1.42 ± 0.01 ^a	1.20 ± 0.01 ^b	1.50 ± 0.03 ^a	1.51 ± 0.01 ^{A*}	1.57 ± 0.00 ^{B*}	1.59 ± 0.02 ^{B*}
ILE	2.27 ± 0.02 ^a	2.18 ± 0.00 ^b	2.01 ± 0.01 ^c	2.19 ± 0.01 ^b	2.33 ± 0.00 ^{A*}	2.25 ± 0.01 ^{B*}	2.37 ± 0.01 ^{C*}
LEU	3.55 ± 0.05 ^a	3.47 ± 0.01 ^b	3.13 ± 0.01 ^c	3.44 ± 0.02 ^b	3.59 ± 0.02 ^{A*}	3.59 ± 0.01 ^{A*}	3.73 ± 0.02 ^{B*}
PHE	1.88 ± 0.25 ^a	1.88 ± 0.07 ^a	2.04 ± 0.08 ^b	1.85 ± 0.03 ^a	1.93 ± 0.07 ^A	1.84 ± 0.01 ^{B*}	2.02 ± 0.01 ^{C*}

Valores son media ± DS de 6 determinaciones.

Diferentes letras minúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 2°C.

Diferentes letras mayúsculas en la misma fila indican diferencias significativas (p<0,05) entre las muestras almacenadas a 10°C.

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada a 2°C.

IV.II.54.- Tabla. N.54. Composición en nutrientes de las dietas utilizadas en el ensayo (gramos/100 gramos sustancia seca)

DIETA	Fuente proteica	Celulosa	Aceite	Almidón	Azúcar glas	Corrector vitamínico	Corrector mineral
Caseína	9.8 (caseína) + 0.2 DL met	5.0	8.0	36.5	36.5	0.16	3.84
T	10	5.0	4.6	36.2	36.2	0.16	3.84
TtO	10	5.0	4.1	36.2	36.2	0.16	3.84
TvO ₃ 2°C	10	5.0	5.4	36.1	36.1	0.16	3.84
TvO ₃ 10°C	10	5.0	5.1	36.2	36.2	0.16	3.84
TvO ₂₁ 2°C	10	5.0	4.9	36.1	36.1	0.16	3.84
TvO ₄₅ 2°C	10	5.0	5.4	25.7	35.7	0.16	3.84

IV.II.55.- Tabla. N.55. Composición del corrector vitamínico (mg/Kg de dieta)

Colina.....	1.111,1
Ácido fólico.....	1,11
Niacina (pp).....	22,22
Pantotenato de Ca	8,88
Riboflavina (Vit. B ₂).....	3,33
Tiamina (Vit. B ₁).....	4,44
Vitamina B ₆	6,66
Vitamina B ₁₂	0,055
Vitamina A.....	4.400 UI
Vitamina D ₃	1.111 UI
Vitamina K (menadiona).....	0,055
Vitamina E.....	33,33

IV.II.56.- Tabla. N.56. Composición del corrector mineral (mg/100g de dieta)

Ioduro potásico.....	0.021
Sulfato de cobre 5 H ₂ O	2.664
Fluoruro sódico	0.243
Sulfato de manganeso. H ₂ O	16.920
Sulfato ferroso. 7 H ₂ O.....	19.920
Cloruro sódico.....	90.603
(CO ₃ Mg) ₄ (MgOH) ₂	88.68
Sulfato de magnesio. 7 H ₂ O.....	225
Fosfato ácido de calcio.....	680
Fosfato monopotásico.....	820
Fosfato monosódico (NaH ₂ PO ₄).....	294.38
Carbonato cálcico.....	1000
Hidroxicarbonato de zinc.....	2.233
Bicarbonato potásico.....	610.343
Cromato sódico.....	0.11
Selenito de sodio.....	0.024

IV.II.57.- Tabla N.57. Análisis del contenido en nutrientes de las dietas utilizadas en el ensayo (g/100 g dieta)

DIETA	HUMEDAD	PROTEÍNA	GRASA	CENIZAS
Caseína	5.40 ± 0.05	9.46 ± 0.17	7.62 ± 0.40	2.89 ± 0.19
T	4.92 ± 0.09	9.51 ± 0.06	7.70 ± 0.06	3.51 ± 0.03
TtO	4.92 ± 0.10	9.59 ± 0.31	7.60 ± 0.09	3.66 ± 0.05
TvO ₃ 2°C	5.01 ± 0.09	9.52 ± 0.11	7.67 ± 0.15	3.51 ± 0.09
TvO ₃ 10°C	4.91 ± 0.01	9.55 ± 0.13	7.53 ± 0.20	3.52 ± 0.11
TvO ₂₁ 2°C	4.94 ± 0.07	9.50 ± 0.08	7.68 ± 0.01	3.15 ± 0.11
TvO ₄₅ 2°C	4.90 ± 0.05	9.55 ± 0.04	7.66 ± 0.02	3.46 ± 0.31

Valores medios ± desviación Standard

IV.II.58.- Tabla N.58. Análisis del contenido en nutrientes de las dietas Utilizadas en el ensayo (g/100 g sustancia seca)

DIETA	PROTEÍNA	GRASA	CENIZAS
Caseína	10.00 ± 0.18	8.06 ± 0.43	3.05 ± 0.20
T	10.01 ± 0.06	8.09 ± 0.06	3.69 ± 0.03
TtO	10.09 ± 0.33	8.00 ± 0.09	3.85 ± 0.05
TvO ₃ 2°C	10.02 ± 0.12	8.08 ± 0.15	3.69 ± 0.10
TvO ₃ 10°C	10.05 ± 0.14	8.00 ± 0.22	3.70 ± 0.11
TvO ₂₁ 2°C	10.00 ± 0.08	8.08 ± 0.02	3.32 ± 0.12
TvO ₄₅ 2°C	10.04 ± 0.05	8.06 ± 0.02	3.64 ± 0.32

Valores medios ± desviación Standard

IV.II.59.- Tabla N.59. Análisis del contenido en algunos minerales (Ca, Mg, P, Na, K, Fe, Cu y Zn) de las dietas utilizadas en el ensayo

DIETA	<u>Calcio</u>	<u>Magnesio</u>	<u>Fósforo</u>	<u>Sodio</u>	<u>Potasio</u>	<u>Hierro</u>	<u>Cobre</u>	<u>Zinc</u>
	(mg/g dieta)			(µg/g dieta)				
Caseína	5.99 ± 0.16	0.51 ± 0.04	4.40 ± 0.20	0.81 ± 0.09	3.28 ± 0.17	46.12 ± 3.71	7.50 ± 0.57	53.51 ± 7.13
T	7.16 ± 0.16	0.75 ± 0.02	4.72 ± 0.11	1.64 ± 0.06	3.46 ± 0.10	50.68 ± 5.63	8.48 ± 0.66	43.12 ± 6.34
TtO	6.57 ± 0.21	0.65 ± 0.03	5.32 ± 0.21	2.25 ± 0.06	5.52 ± 0.28	55.72 ± 6.48	7.12 ± 0.69	50.82 ± 7.61
TvO₃ 2°C	6.14 ± 0.13	0.58 ± 0.03	4.77 ± 0.29	1.44 ± 0.09	4.67 ± 0.28	73.56 ± 9.00	9.14 ± 0.78	43.38 ± 7.20
TvO₃ 10°C	6.54 ± 0.19	0.62 ± 0.04	4.89 ± 0.34	1.52 ± 0.10	4.76 ± 0.26	59.99 ± 4.36	8.85 ± 0.69	43.72 ± 6.37
TvO₂₁ 2°C	6.82 ± 0.31	0.63 ± 0.02	5.07 ± 0.22	1.56 ± 0.07	4.95 ± 0.22	64.72 ± 7.73	12.11 ± 0.86	51.32 ± 7.09
TvO₄₅ 2°C	6.48 ± 0.32	0.62 ± 0.04	5.00 ± 0.31	1.57 ± 0.16	4.79 ± 0.32	62.71 ± 7.02	11.47 ± 0.91	46.92 ± 6.32

Valores medios ± desviación Standard

IV.II.60.- Tabla N.60. Eficacia alimentaria de dietas cuya fuente proteica son la trucha cruda y tratada sous vide (g/100 g sustancia seca)

PROTEÍNA DIETÉTICA	Alimento seco ingerido	Incremento de peso	EFICACIA ALIMENTARIA
	g/ rata /día		
Caseína-Metionina	14.35 ± 0.23	5.36 ± 0.26	0.37 ± 0.01
T	13.84 ± 0.16a	6.48 ± 0.24*	0.47 ± 0.01*a
TtO	15.54 ± 0.38ab	6.86 ± 0.10*	0.44 ± 0.01ab
TvO ₃ 2°C	15.12 ± 0.51ab	6.63 ± 0.23*	0.44 ± 0.02ab
TvO ₃ 10°C	15.31 ± 0.23b	6.74 ± 0.14*	0.44 ± 0.01*ab
TvO ₂₁ 2°C	16.49 ± 0.48*b	6.16 ± 0.31	0.37 ± 0.02b
TvO ₄₅ 2°C	13.02 ± 0.71ab	6.68 ± 0.11*	0.52 ± 0.02a

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.61.- Tabla N.61. Utilización nutritiva de la proteína de la trucha cruda y tratada sous vide.

PROTEÍNA DIETÉTICA	N	N	N	N	N	CDA	VBA	UNPA
	INGERIDO	HECES	ORINA	ABSORBIDO	RETENIDO			
(mg/día)								
Caseína- Metionina	217.2 ± 3.4	15.2 ± 0.9	27.2 ± 1.7	202.0 ± 3.5	174.9 ± 3.8	93.0 ± 0.4	86.5 ± 0.9	80.4 ± 0.8
T	209.3 ± 2.8 ^a	13.6 ± 0.7	19.0 ± 0.8 ^{*a}	195.7 ± 2.3a	176.8 ± 2.6a	93.5 ± 0.3 a	90.3 ± 0.4 ^{*a}	84.5 ± 0.5 ^{*a}
TtO	247.8 ± 11.3ab	12.7 ± 0.3	36.4 ± 1.6 ^{*b}	235.2 ± 11.3b	198.8 ± 10.7ab	94.8 ± 0.3 a	84.4 ± 0.7b	80.0 ± 0.8b
TvO ₃ 2°C	226.0 ± 7.7ab	13.8 ± 1.4	35.2 ± 2.2b	212.2 ± 7.5b	177.0 ± 6.3ab	93.9 ± 0.6 a	83.4 ± 0.9b	78.3 ± 1.0b
TvO ₃ 10°C	235.0 ± 3.6b	14.8 ± 0.8	36.4 ± 2.4b	220.2 ± 4.1b	183.8 ± 5.7ab	93.7 ± 0.4 a	83.3 ± 1.2b	78.1 ± 1.3ab
TvO ₂₁ 2°C	248.3 ± 7.2 ^{*b}	12.9 ± 0.6	29.5 ± 2.5b	235.5 ± 7.2 ^{*b}	206.0 ± 6.8 ^{*b}	94.8 ± 0.3 a	87.5 ± 1.0ab	82.9 ± 1.0ab
TvO ₄₅ 2°C	137.7 ± 1.3 ^{*c}	14.8 ± 0.8	26.0 ± 4.3b	122.9 ± 1.9 ^{*c}	97.0 ± 4.3 ^{*c}	89.2 ± 0.6 ^{*b}	78.9 ± 3.4ab	70.3 ± 2.9ab

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0.0a5)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metioninab

IV.II.62.- Tabla N.62. Balance de calcio con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

PROTEÍNA DIETÉTICA	Ca	Ca	Ca	Ca	Ca	% A/I	% R/A	% R/I
	INGERIDO	HECES	ORINA	ABSORBIDO	RETENIDO			
(mg/día)								
Caseína-Metionina	86.0 ± 1.4	31.6 ± 1.2	3.58 ± 0.75	54.4 ± 1.0	50.8 ± 1.3	63.3 ± 1.0	93.4 ± 1.4	59.2 ± 1.6
T	99.2 ± 1.4*	50.6 ± 2.1*a	4.49 ± 0.57	48.6 ± 1.3*a	44.1 ± 1.1*a	52.3 ± 2.6*a	90.3 ± 1.0	47.2 ± 2.3 a
TtO	107.6 ± 5.2	40.0 ± 0.9b	4.78 ± 0.72	67.3 ± 5.2ab	62.5 ± 5.5ab	61.9 ± 1.6b	92.4 ± 1.7	57.3 ± 2.2 b
TvO ₃ 2°C	92.9 ± 3.2	39.3 ± 1.0bc	4.43 ± 0.56	53.5 ± 3.6ab	49.1 ± 3.7ab	57.2 ± 1.9ab	91.3 ± 1.3	52.3 ± 2.2 ab
TvO ₃ 10°C	100.2 ± 1.5*	47.4 ± 1.4*ac	5.63 ± 0.44	52.8 ± 1.5 a	47.2 ± 1.6a	52.7 ± 1.2 a	89.2 ± 0.9	47.1 ± 1.4*a
TvO ₂₁ 2°C	112.6 ± 3.3*	45.4 ± 2.1*abc	5.58 ± 0.44	67.2 ± 3.2b	61.6 ± 3.1b	59.5 ± 1.8ab	91.6 ± 0.6	54.6 ± 1.8ab
TvO ₄₅ 2°C	85.0 ± 4.4	42.3 ± 1.8abc	8.20 ± 1.65	42.8 ± 4.8ab	34.6 ± 3.9a	49.3 ± 3.0*a	81.6 ± 3.3	39.9 ± 2.3*c

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.63.- Tabla N.63. Balance de magnesio con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

PROTEÍNA DIETÉTICA	Mg INGERIDO	Mg HECES	Mg ORINA	Mg ABSORBIDO	Mg RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
	(mg/día)							
Caseína-Metionina	7.4 ± 0.1	2.7 ± 0.1	1.1 ± 0.1	4.6 ± 0.1	3.5 ± 0.1	63.0 ± 1.6	75.3 ± 2.1	47.4 ± 1.6
T	10.4 ± 0.1*a	4.8 ± 0.2*a	1.9 ± 0.2*	5.7 ± 0.2*	3.8 ± 0.2	56.6 ± 2.5 a	69.6 ± 3.6	39.8 ± 3.5 a
TtO	10.1 ± 0.2*ab	3.7 ± 0.1*b	1.9 ± 0.1*	6.5 ± 0.3*	4.5 ± 0.4	63.8 ± 1.2 a	68.4 ± 2.6	43.8 ± 2.5 a
TvO ₃ 2°C	8.7 ± 0.3*b	3.2 ± 0.1*b	1.7 ± 0.1*	5.5 ± 0.4*	3.7 ± 0.4	62.2 ± 2.2 a	67.4 ± 2.7	42.2 ± 2.7 a
TvO ₃ 10°C	9.4 ± 0.1*b	3.8 ± 0.1*b	1.6 ± 0.1*	5.7 ± 0.2*	4.1 ± 0.2	60.2 ± 1.3 a	72.3 ± 2.2	43.6 ± 1.8 a
TvO ₂₁ 2°C	10.3 ± 0.3*a	3.7 ± 0.1*b	1.7 ± 0.1*	6.6 ± 0.3*	4.9 ± 0.3*	63.7 ± 1.5 a	73.9 ± 2.2	47.3 ± 2.3 a
TvO ₄₅ 2°C	8.2 ± 0.4ab	4.0 ± 0.2*ab	1.7 ± 0.3*	4.2 ± 0.5*	2.5 ± 0.6	49.9 ± 3.4*b	58.5 ± 8.3	29.1 ± 5.0*b

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.64.- Tabla N.64. Balance de fósforo con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

PROTEÍNA DIETÉTICA	P	P	P	P	P	% A/I	% R/A	% R/I
	INGERIDO	HECES	ORINA	ABSORBIDO	RETENIDO			
	(mg/día)							
Caseína-Metionina	63.1 ± 1.0	17.0 ± 0.8	5.32 ± 0.63	46.1 ± 1.2	40.8 ± 0.9	73.0 ± 1.3	88.6 ± 1.2	64.7 ± 1.0
T	65.3 ± 0.9 a	22.9 ± 1.9	3.73 ± 0.30*a	42.5 ± 1.4 a	38.7 ± 1.5 a	67.3 ± 2.1 a	91.1 ± 0.8 a	61.4 ± 2.2
TtO	82.7 ± 2.0*b	19.7 ± 0.8	10.11 ± 0.75 b	62.9 ± 1.9*b	52.2 ± 2.2ab	76.1 ± 1.0 b	82.7 ± 1.4 b	62.8 ± 1.2
TvO₃ 2°C	72.1 ± 2.4ab	18.1 ± 0.8	7.38 ± 0.37bc	54.0 ± 2.7 c	46.6 ± 2.7ab	74.6 ± 1.4 b	86.1 ± 0.9 b	64.2 ± 1.6
TvO₃ 10°C	74.9 ± 1.1*b	22.1 ± 0.4*	6.37 ± 0.44c	52.9 ± 1.2 c	46.5 ± 1.2 b	70.5 ± 0.7ab	87.9 ± 0.8ab	62.0 ± 0.9
TvO₂₁ 2°C	83.7 ± 2.4*b	21.1 ± 1.0	7.71 ± 0.52bc	62.6 ± 2.4*b	54.9 ± 2.2*b	74.7 ± 1.2 b	87.6 ± 0.8ab	65.5 ± 1.5
TvO₄₅ 2°C	65.6 ± 3.4 a	19.6 ± 0.9	7.08 ± 1.36abc	45.9 ± 3.9ac	38.8 ± 4.0ab	69.2 ± 2.3ab	84.3 ± 3.0ab	58.3 ± 2.8

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.65.- Tabla N.65. Balance de hierro con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide

PROTEÍNA DIETÉTICA	Fe	Fe	Fe	Fe	Fe	% A/I	% R/A	% R/I
	INGERIDO	HECES	ORINA	ABSORBIDO	RETENIDO			
(µg/día)								
Caseína-Metionina	661.9 ± 10.4	270.1 ± 15.4	3.58 ± 0.75	391.6 ± 9.0	388.2 ± 8.9	59.4 ± 1.9	99.1 ± 0.2	58.8 ± 1.9
T	701.6 ± 9.6a	326.7 ± 12.6 a	4.49 ± 0.57	374.9 ± 10.2 a	370.4 ± 10.2 a	56.2 ± 2.2 a	97.8 ± 0.9	54.8 ± 1.6 a
TtO	866.0 ± 20.9*abcd	322.0 ± 10.2 a	4.62 ± 0.70	548.2 ± 28.2 b	543.5 ± 28.3 ab	63.0 ± 1.8 a	99.1 ± 0.2	62.4 ± 1.8 b
TvO₃ 2°C	1112.4 ± 37.8*c	261.5 ± 12.7 b	4.43 ± 0.56	850.9 ± 42.5*c	846.4 ± 42.5*c	76.2 ± 1.4*b	99.5 ± 0.1	75.8 ± 1.4*c
TvO₃ 10°C	918.7 ± 14.1*d	285.8 ± 9.5ab	5.63 ± 0.44	632.9 ± 14.4*b	627.3 ± 14.4*b	68.9 ± 1.0*b	99.1 ± 0.1	68.3 ± 1.0*bc
TvO₂₁ 2°C	1067.5 ± 31.0*bc	297.7 ± 15.7ab	5.58 ± 0.44	769.8 ± 34.4*bc	764.2 ± 34.4*bc	71.9 ± 1.6*b	99.3 ± 0.1	71.4 ± 1.7*c
TvO₄₅ 2°C	822.7 ± 42.9abd	297.7 ± 12.5ab	8.20 ± 1.65	525.0 ± 36.9ab	516.8 ± 36.2ab	63.5 ± 1.3 a	98.5 ± 0.3	62.5 ± 1.3ab

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.66.- Tabla N.66. Balance de cobre con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

PROTEÍNA DIETÉTICA	Cu INGERIDO	Cu HECES	Cu ABSORBIDO	% A/I
	(µg/día)			
Caseína-Metionina	109.1 ± 0.5	94.9 ± 2.7	14.2 ± 2.7	13.0 ± 2.5
T	118.0 ± 1.6a	96.9 ± 2.5	21.1 ± 1.7 a	18.0 ± 1.5 a
TtO	112.2 ± 3.0 a	86.8 ± 2.9	25.4 ± 3.3 a	22.4 ± 2.7 a
TvO ₃ 2°C	133.8 ± 3.9* ab	79.4 ± 3.0	54.5 ± 3.2* b	40.6 ± 1.9* b
TvO ₃ 10°C	137.2 ± 2.1* ab	102.1 ± 1.8	35.1 ± 1.6 ab	25.5 ± 1.1* a
TvO ₂₁ 2°C	196.2 ± 4.9* c	89.0 ± 3.8	107.2 ± 5.3* c	54.5 ± 1.9* b
TvO ₄₅ 2°C	142.9 ± 4.7* b	104.8 ± 1.2	38.1 ± 5.6 ab	25.9 ± 3.0 a

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

Nota: no fue detectado cobre en las muestras de orina.

IV.II.67.- Tabla N.67. Balance de zinc con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

PROTEÍNA DIETÉTICA	Zn INGERIDO	Zn HECES	Zn ORINA	Zn ABSORBIDO	Zn RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
	(µg/día)							
Caseína- Metionina	768.0 ± 12.1	69.0 ± 1.6	5.46 ± 0.37	699.0 ± 11.1	693.5 ± 11.2	91.0 ± 0.2	99.2 ± 0.1	90.3 ± 0.2
T	597.0 ± 8.1*a	68.9 ± 1.9 a	3.60 ± 0.37 *	528.1 ± 6.6 a	524.5 ± 6.7 a	87.0 ± 1.6 a	98.3 ± 1.0	85.7 ± 2.3 a
TtO	789.8 ± 19.1bc	67.0 ± 1.0 a	3.01 ± 0.25*	722.6 ± 19.3bc	719.5 ± 19.4bc	91.4 ± 0.2 a	99.6 ± 0.0*	91.1 ± 0.3 a
TvO₃ 2°C	656.0 ± 22.3*ab	50.8 ± 2.9*b	2.86 ± 0.35*	605.2 ± 22.8ab	602.4 ± 22.7ab	92.2 ± 0.5 a	99.5 ± 0.0*	91.7 ± 0.5 a
TvO₃ 10°C	699.5 ± 10.3*b	63.5 ± 2.2ab	3.03 ± 0.34*	606.1 ± 9.6*b	603.0 ± 9.5*b	90.5 ± 0.3 a	99.5 ± 0.1	90.1 ± 0.3 a
TvO₂₁ 2°C	846.5 ± 24.6 c	70.8 ± 8.3ab	3.14 ± 0.25 *	775.7 ± 23.5 c	772.6 ± 23.5 c	90.7 ± 1.0 a	99.6 ± 0.0	91.3 ± 1.0 a
TvO₄₅ 2°C	615.7 ± 32.1ab	116.9 ± 2.0*c	26.69 ± 9.23	498.7 ± 31.6*ab	472.0 ± 27.8*ab	80.7 ± 0.9*b	95.0 ± 1.7*	76.6 ± 1.2 b

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.68.- Tabla N.68. Contenido mineral del hígado de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

Proteína Dietética	PESO (g)	CENIZAS (mg)	µg Zn / Hígado	µg Zn / g Hígado	µg Fe / Hígado	µg Fe / g Hígado	µg Cu / Hígado	µg Cu / g Hígado
Caseína-Metionina	6.48 ± 0.07	85.5 ± 1.1	79.9 ± 0.9	12.3 ± 0.0	650.1 ± 17.6	100.2 ± 2.3	96.3 ± 2.2	15.0 ± 0.4
T	7.16 ± 0.13	92.2 ± 1.5 a	96.9 ± 1.4*a	13.7 ± 0.2	963.7 ± 29.0	135.8 ± 3.8	91.7 ± 2.2	13.2 ± 0.4
TtO	6.73 ± 0.08	84.3 ± 1.1 ab	92.2 ± 1.0 ab	13.8 ± 0.1	865.2 ± 37.8	130.4 ± 6.2	93.2 ± 1.0	13.9 ± 0.1
TvO₃ 2°C	6.65 ± 0.05	83.8 ± 0.6 ab	90.4 ± 0.6 ab	13.6 ± 0.1	778.3 ± 15.9	117.1 ± 2.3	96.7 ± 1.0	14.6 ± 0.2
TvO₃ 10°C	6.70 ± 0.10	77.1 ± 4.9 ab	90.2 ± 1.5 ab	13.5 ± 0.1	750.7 ± 39.0	110.6 ± 4.4	94.7 ± 2.3	14.3 ± 0.4
TvO₂₁ 2°C	6.05 ± 0.07	79.6 ± 0.9 b	81.5 ± 1.1 b	13.5 ± 0.1	727.2 ± 20.1	121.6 ± 3.8	79.7 ± 2.2	13.5 ± 0.5
TvO₄₅ 2°C	6.36 ± 0.25	83.9 ± 6.7 ab	91.9 ± 1.2 ab	14.8 ± 0.4*	726.5 ± 43.5	114.7 ± 6.2	107.1 ± 4.3	17.7 ± 1.3

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.69.- Tabla N.69. Contenido mineral del bazo de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada sous vide.

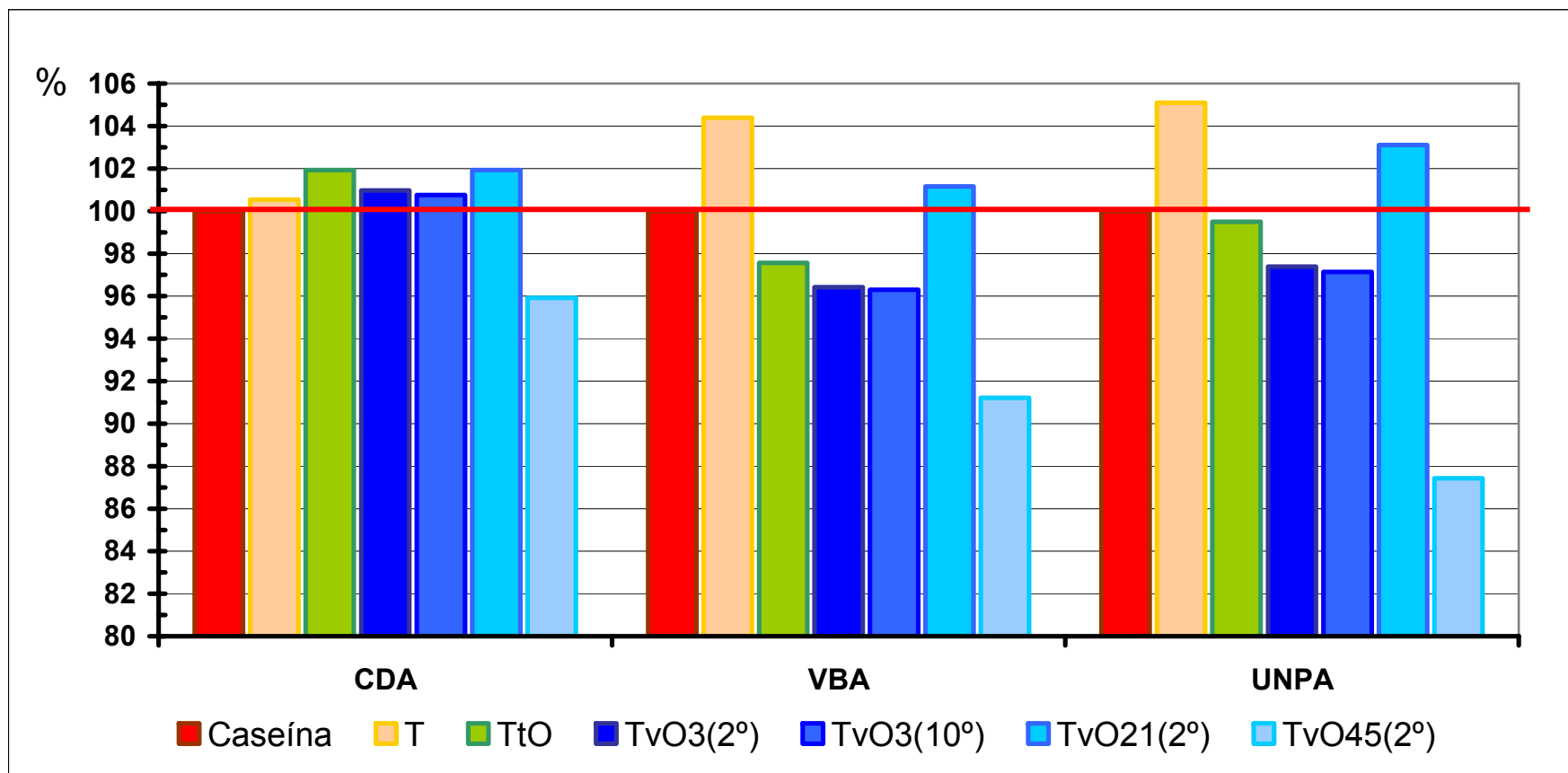
Proteína Dietética	PESO (g)	µg Zn / Bazo	µg Zn / g Bazo	µg Fe / Bazo	µg Fe / g Bazo	µg Cu / Bazo	µg Cu / g Bazo
Caseína-Metionina	0.57 ± 0.01	27.8 ± 0.3	51.6 ± 1.0	91.2 ± 1.1	168.0 ± 1.7	2.97 ± 0.24	5.22 ± 0.39
T	0.60 ± 0.01	47.7 ± 0.8*a	80.2 ± 1.2*a	106.6 ± 1.5 a	179.0 ± 2.0 b	2.17 ± 0.14 a	3.62 ± 0.21 a
TtO	0.57 ± 0.01	33.4 ± 0.9 b	61.1 ± 2.3ab	97.6 ± 2.5ab	170.8 ± 2.0ab	6.41 ± 0.21*b	11.48 ± 0.37*b
TvO₃ 2°C	0.62 ± 0.01	34.7 ± 1.4ab	59.4 ± 2.7ab	97.4 ± 1.9ab	158.9 ± 2.0ab	4.98 ± 0.18 b	7.99 ± 0.19 b
TvO₃ 10°C	0.59 ± 0.02	30.2 ± 0.5 b	52.2 ± 1.4 b	89.9 ± 2.5ab	152.4 ± 2.3ab	1.91 ± 0.15 a	3.46 ± 0.30 a
TvO₂₁ 2°C	0.55 ± 0.01	29.8 ± 0.4 b	54.9 ± 1.0 b	79.9 ± 1.5 b	146.4 ± 2.5 b	5.41 ± 0.11 b	10.04 ± 0.26 b
TvO₄₅ 2°C	0.55 ± 0.01	29.7 ± 0.9 b	54.5 ± 1.7 b	80.0 ± 1.3 b	146.4 ± 2.6 b	8.45 ± 1.07 b	15.63 ± 2.01 b

Valores medios 10 animales ± error típico de la media

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

*: Diferencias significativas (p<0,05) con respecto al lote caseína-Metionina

IV.II.70.- Figura N.2. CDA, VBA y UNPA de ratas alimentadas con dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda y tratada *sous vide*, referenciadas a las ratas patrón (Caseína-Metionina).



IV.III.- ESTUDIO DE LA CALIDAD SENSORIAL.

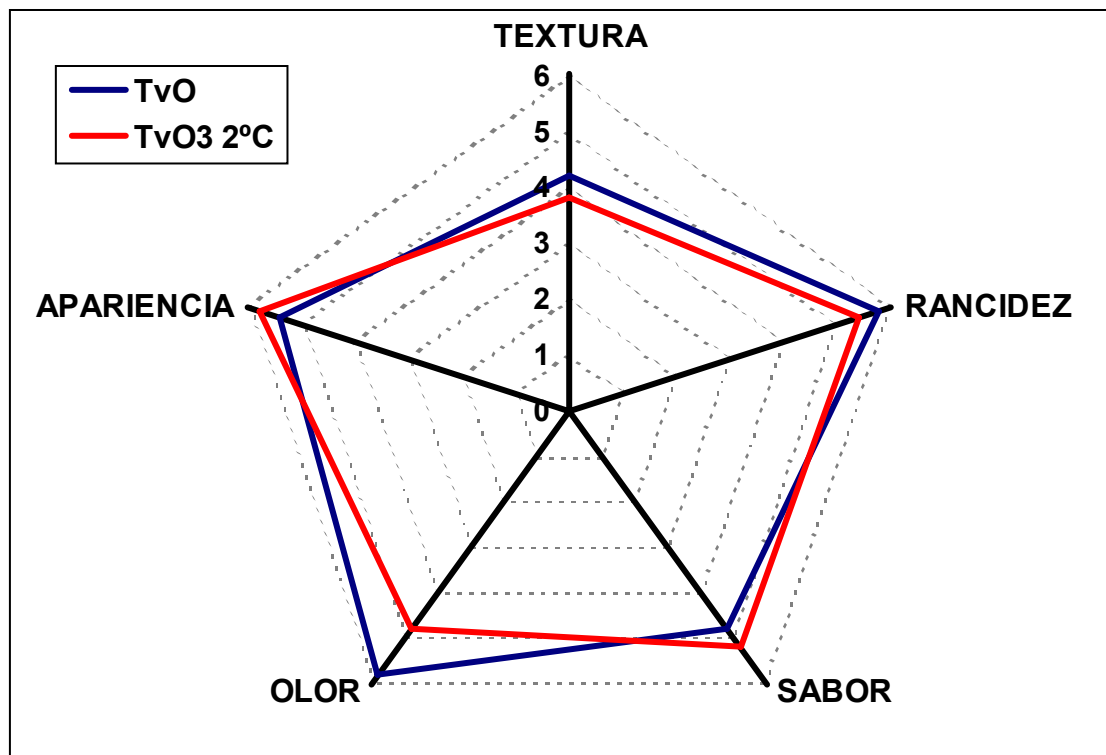
IV.III.1.- Tabla S.1.- Puntuaciones medias de los 10 miembros del jurado de relativas a la valoración sensorial de la apariencia, olor, sabor, rancidez y textura de las muestras TvO y TvO₃ (2°C)

	MUESTRAS	
	TvO	TvO ₃ (2°)
Apariencia	5.40 ± 0.52	5.80 ± 0.42
Olor	5.80 ± 0.79	4.80 ± 0.63*
Sabor	4.80 ± 0.42	5.20 ± 0.63
Rancidez	5.80 ± 0.79	5.40 ± 0.52
Textura	4.20 ± 0.42	3.80 ± 0.92

Valores son media ± Des Std. de 10 determinaciones

* Diferencias significativas (p<0,05) con respecto a la misma muestra almacenada 3 días a 2°C.

IV.III.2.- Tabla S.2.- Perfil descriptivo correspondiente a las muestras TvO y TvO₃ (2° C)



IV.III.3.- Tabla S.3.- Resultado de la prueba triangular

MUESTRAS	NÚMERO DE PRUEBAS	RESPUESTAS CORRECTAS	NIVEL DE SIGNIFICACIÓN
TtO vs TvO	30	18	1 %
TtO3 vs TvO3(2º)	30	24	0.1 %

V. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

V.I.- ESTUDIO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA.

V.I.1.- INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

▪ PH Y ACTIVIDAD DE AGUA:

En relación con los **valores medios de pH** recogidos, tal y como se muestra en la tabla M.1, no se observaron diferencias significativas a lo largo de los 45 días de almacenamiento en ninguno de los tres tratamientos *sous vide* estudiados.

Únicamente se apreció un **ligero aumento en el valor del pH de las muestras tras tres días de almacenamiento**, si bien, como ya se ha comentado, **estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$)**.

Al comparar el **efecto de la temperatura de almacenamiento** (2° C vs 10° C) sobre las muestras estudiadas, se observa que para un mismo tratamiento, **el almacenamiento a 10°C presenta valores ligeramente superiores en comparación con las muestras sometidas al mismo tratamiento, pero almacenadas a 2° C**. Sin embargo, del mismo modo que en caso anterior, **estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$)**.

Algo similar ocurre con el **valor de la actividad de agua**, tabla M2, el cual **se mantuvo constante durante todo el almacenamiento independientemente del tratamiento aplicado**.

▪ CALIDAD MICROBIOLÓGICA

Las muestras de trucha arco-iris cruda presentan unos recuentos iniciales de **bacterias aerobias y anaerobias mesófilas** de $4,40 \pm 0,52$ y $4,30 \pm 0,25$ log ufc/g, respectivamente. La media de recuentos de bacterias aerobias mesófilas de los filetes de trucha que recibieron un tratamiento térmico en su parte más interna equivalente a 3,3 minutos a 90° C (tratamiento A) y que posteriormente fueron almacenadas a 10° C (muestras Ab) fueron superiores a 2 log ufc/g tras tres días; mientras que los recuentos de bacterias anaerobias mesófilas fue inferior a 2 log ufc/g tras 14 días de almacenamiento a esa misma temperatura. Tras 21 días de almacenamiento a 10° C se observó un ligero aumento aunque no se superaron las 4 log ufc/g.

Los recuentos de ambos grupos microbianos que recibieron un tratamiento térmico en su parte más interna equivalente a 1 minuto a 90° C (tratamiento B) fue de 3 log ufc/g tras 14 días de almacenamiento a 10° C (muestras Bb), y en las truchas que recibieron el tratamiento equivalente en su parte más interna de 5,18 minutos a 70° C (tratamiento C), éstos fueron de 3 log ufc/g en todas la muestras almacenadas a 10° C (muestras Cb). Sin embargo, cuando la temperatura de almacenamiento era de 2° C, las poblaciones de mesófilos alcanzaban las 3 log ufc/g tras 14 días de almacenamiento (muestras Ca).

Por la tanto, como era esperable, **la intensidad del tratamiento térmico tiene un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre los recuentos de bacterias mesófilas aerobias y anaerobias.**

De la misma manera, los recuentos finales de estos dos grupos microbianos fue significativamente menor ($p < 0,05$) en las muestras almacenadas a 2° C que en las almacenadas a 10° C para los tres tratamientos estudiados. De hecho, los microorganismos que sobrevivieron al tratamiento más fuerte (tratamiento A) apenas fueron capaces de crecer tras 21 días de almacenamiento a 2° C (muestras Aa). Las bacterias mesófilas aerobias alcanzaron recuentos de 6 log ufc/g tras 21 días de almacenamiento a 10° C en las muestras del tratamiento C (muestras Cb) y tras 45 días en las muestras Bb y Ca.

La supervivencia y crecimiento de bacterias psicrotrofas fue, como era de esperar, inversamente proporcional a la severidad del tratamiento térmico al cual fue sometido el pescado. Así, en las muestras sometidas al tratamiento A se observaron recuentos por debajo de 1 log ufc/g tras 45 días de almacenamiento a 2° C y tras 14 días a 10° C. En las muestras sometidas al tratamiento B los recuentos aumentaron a 3.30-2,63 log ufc/g tras 45 días de almacenamiento a 2 y 10° C respectivamente y por último, en las sometidas al tratamiento C, los recuentos de estos microorganismos aumentaban a 3,41 – 4,39 log ufc/g para ese mismo periodo y temperatura de almacenamiento.

Las **enterobacterias** fueron detectadas en la trucha cruda en cantidades de $2,18 \pm 0,41$ log ufc/g, pero tras el procesado sous-vide, solo se detectaron ($2,84 \pm 0,41$ log ufc/g) en aquellas muestras que se sometieron al tratamiento menos severo (70° C / 10 minutos), tras 45 días de almacenamiento a 10 ° C.

La contaminación inicial de **bacterias ácido-lácticas** en las muestras de trucha cruda osciló entre 2,42 y 2,8 log ufc/g. Tras el tratamiento térmico, su nivel descendió por debajo del límite de detección (1 log ufc/g). En las muestras sometidas al tratamiento A no se observaron crecimiento tras 45 días de almacenamiento independientemente de la temperatura de almacenamiento (muestras Aa y Ab). De la misma forma ocurrió con las muestras sometidas al tratamiento B y almacenadas a 2° C (muestras Ba). Sin embargo, en

las muestras sometidas al tratamiento B y almacenadas a 10° C (muestras Bb) y las sometidas al tratamiento C (muestras Ca y Cb) se alcanzaron recuentos de al menos 6 log ufc/g tras 45 días de almacenamiento.

El nivel inicial de **esporulados anaerobios** está por debajo del límite de detección. Solo fueron detectados en las muestras de almacenadas 45 días a 10° C y que previamente recibieron el tratamiento B (90° C / 5 minutos) (muestras Bb); y también en las muestras que recibieron el tratamiento C (70° C / 10 minutos), y posteriormente fueron almacenadas 45 días, tanto a 2 como a 10° C (muestras Ca y Cb).

Los recuentos iniciales de **esporulados aerobios** oscilan entre 1,98 y 2,63 log ufc/g. Estos microorganismos fueron detectados tras el y tratamiento térmico, pero no así tras 3 días de almacenamiento a 2° C. Por el contrario, si las muestras se mantenían almacenadas a una temperatura inadecuada (10° C), su número aumentaba hasta alcanzar valores de 2,48 y 4,2 según el tratamiento térmico aplicado.

Con lo cual, **tanto la intensidad del tratamiento térmico como la temperatura de almacenamiento tienen un impacto sobre el número final de microorganismos esporulados.**

No fue detectada la presencia de *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* ni *Listeria monocytogenes*. Tampoco fue aislada ninguna bacteria anaerobia estricta del medio Ágar Clostridium reforzado.

V.I.2.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Según la bibliografía (Davis, 1995; ICMSF, 1998; Huss, 1998; Chattopadhyay, 2000), la contaminación microbiana inicial del pescado de aguas continentales, generalmente varía de entre 2 y 4 log ufc/cm² de piel o de superficie branquial, mientras que la microbiota intestinal varía mucho dependiendo de si el pescado fue o no alimentado con anterioridad, así ésta puede oscilar desde tan solo 2 log ufc/g en los peces en ayunas hasta 8 log ufc/g en las especies bien alimentadas.

En nuestro estudio, los recuentos iniciales tanto de las **bacterias mesófilas aerobias y anaerobias**, como de las **bacterias psicrotrofas**, en las muestras de trucha arco-iris cruda procedente de acuicultura, fue muy alta; de al menos una unidad logarítmica superior que los recuentos encontrados por otros autores (Grobantes & Gómez, 1999) para esta misma especie de pescado.

Estos altos recuentos son consecuencia de la práctica habitual de no eviscerar las truchas; aunque también influyen de manera muy importante las condiciones de almacenamiento y manipulación de la trucha cruda tras su captura. Los principales géneros que conforman la microbiota de los peces dulceacuícolas procedentes de la acuicultura son *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Moraxella* y *Pseudomonas* (Nedoluha & Westhoff, 1993; Sousa *et al.*, 1996; ICMSF, 1998).

Con respecto a los recuentos en las muestras de trucha arco-iris una vez procesadas mediante la tecnología *sous-vide* hay que destacar que, a pesar de que como cabría esperar los recuentos fueron significativamente menores cuanto mayor era el tratamiento térmico al cual eran sometidas las muestras, la población de **bacterias mesófilas aerobias y de bacterias psicrotrofas** fue aumentando de modo gradual a lo largo del almacenamiento, sobre todo en las muestras almacenadas a 10° C. Esto sugiere que **estos microorganismos no fueron totalmente inactivados por ninguno de los tres tratamientos térmicos ensayados, de tal forma que los microorganismos dañados, fueron capaces de recuperarse a lo largo del almacenamiento.**

Este hecho es especialmente importante, sobretodo en el caso de las muestras sometidas al tratamiento térmico menos severo (70° C /10 min.) y posteriormente almacenadas a temperaturas anormales de almacenamiento (10° C) ya que en este caso se alcanzaron niveles que ponen en duda la seguridad microbiológica de este alimento. La Norma Microbiológica española aplicable a las comidas preparadas sometidas a un tratamiento térmico distinto del de esterilización, exige en el producto final unos recuentos de bacterias aerobias mesófilos inferiores a 4 log ufc/g.

A la vista de los resultados obtenidos, las muestras sometidas al tratamiento A cumplirían la norma, incluso en el caso de no mantener la cadena del frío, así tras 21 días de almacenamiento se alcanzaron recuentos de 2,00 y 3,33 log ufc/g para las muestras almacenadas a 2 y 10° C respectivamente. Sin embargo, en las muestras sometidas al tratamiento B, ya a los 14 días de almacenamiento a 2° C se alcanzaron recuentos de 3,18 log ufc/g.; al igual que ocurre con las muestras sometidas al tratamiento C y posteriormente almacenadas a 2° C donde los recuentos fueron de 3,65 log ufc/g.

Estos resultados están en sintonía con los obtenidos por otros autores para otros alimentos procesados *sous-vide*. Así por ejemplo, Simpson *et al.*, (1994) quienes estudiaron la vida útil de platos de espaguetis y salsa de carne procesados *sous-vide* con unas temperaturas de procesado de 65° C (71 y 105 minutos) y 75° C (37 y 40 minutos), observaron un aumento gradual en los recuentos tanto de bacterias mesófilas aeróbicas y anaeróbicas como de bacterias acidolácticas a lo largo del almacenamiento. Así, según

estos autores los productos almacenados a 5° C la vida útil de los mismos no debe ser superior a 35 días, independientemente del tratamiento térmico aplicado. Sin embargo, los productos almacenados a 15° C mostraron claras señales de alteración a los 14 o 24 días de almacenamiento según la severidad del tratamiento térmico.

Los recuentos de **bacterias mesófilas anaerobias** fueron similares a los de las aerobias. Esto podría ser debido a la proporción de bacterias anaerobias facultativas presentes en las muestras. Estos resultados están en sintonía con los obtenidos por Carlin *et al.* (1999), quienes encontraron recuentos de bacterias anaerobias y aerobias similares en vegetales procesados mediante la tecnología *sous-vide*, y además muchos de los microorganismos anaerobios aislados fueron capaces de crecer en condiciones de aerobiosis.

Otro aspecto a que tener en cuenta, es que tras el envasado a vacío de los productos *sous-vide* todavía se puede encontrar entre un 1 y un 5 % de oxígeno dentro del envase, lo que puede permitir inicialmente el crecimiento de bacterias anaerobias facultativas; después, el oxígeno se agota gradualmente dando lugar al crecimiento de bacterias anaerobias estrictas.

Los recuentos de **bacterias psicrotrofas** fueron menores que los de las bacterias mesófilas; Así por ejemplo cabe destacar que en las muestras de trucha arco-iris procesadas *sous-vide* sometidas al tratamiento térmico más severo (90° C/15 minutos) no fueron detectadas tras su almacenamiento a 2° C, y solo empezaron a detectarse tras 14 días en las muestras almacenadas a 10° C. En general, estos bajos recuentos de bacterias psicrotrofas son similares a los obtenidos por otros autores (Rosnes, *et al.*, 1999).

Con respecto a la evolución de las **bacterias acidolácticas**, los resultados obtenidos están en la línea de los encontrados por otros autores para otros productos procesados *sous-vide*. Así, al igual que en el trabajo realizado por Guerzoni *et al.* (1999), estos microorganismos no fueron detectados tras el tratamiento térmico, si bien en el caso de tratamiento térmicos menos severos aparecía bacterias acidolácticas en las etapas finales del almacenamiento. Por el contrario, otros autores como Rosnes *et al.* (1999) no detectaron bacterias acidolácticas viables tras 42 días de almacenamiento. Este grupo de microorganismos son capaces de crecer en ambientes de microerofilos/anaerobios y podrían estar asociados con el deterioro de los productos *sous-vide*, asociándose con el desarrollo de olores anormales (Carlin *et al.*, 1999).

El alto número de ***Enterobacteriaceas*** encontrados en las muestras de trucha arco-iris cruda utilizadas en este estudio, en comparación con los recuentos encontrados por

otros autores, (González *et al.*, 1999) podría explicarse por unas inadecuadas prácticas higiénicas en la manipulación de los peces.

La presencia de **bacterias anaerobias obligadas** es muy inusual en la superficie de los peces, pero por el contrario se encuentran de modo abundante en el intestino de los mismos (Matches & Liston, 1973; Matches *et al.*, 1974). Este hecho es podría ser relevante en el caso de la trucha que no fuera eviscerada tras su captura. En este estudio, las truchas venían evisceradas de origen.

Otro aspecto que hay que tener en cuenta, es que la trucha arco-iris cruda procedente de la acuicultura presenta un contenido en grasa relativamente alto, ($6,58 \pm 0,21$ gramos/100 gramos alimento fresco), hecho que para algunos autores supone un factor protector para los distintos grupos microbianos. En este sentido, Schellekens (1996) señala que determinadas propiedades de los alimentos, como son su contenido en grasa, pH, actividad de agua y contenido en aminoácidos esenciales, tienen una importancia determinante tanto sobre el efecto letal del tratamiento térmico, como sobre la posibilidad del crecimiento de patógenos. Este autor señala, que debería ser importante el estudio de la influencia de cada factor sobre el crecimiento microbiano con el propósito de establecer barreras adicionales en el caso de que la primera barrera - la refrigeración a una temperatura adecuada - no fuera llevada a cabo con suficiente garantía.

Estudios de termorresistencia realizados por Embarek & Huss (1993) en pescados procesados *sous-vide* con distinto contenido en grasa demuestran el papel protector que parece que tiene el mayor contenido en grasa sobre la supervivencia de algunos patógenos como *Listeria monocytogenes* o *Escherichia coli* VTEC. Sin embargo, otros autores como Mackey *et al.* (1990) o Buncic *et al.* (1992) no encontraron un efecto protector significativo en muestras de carne de vacuno picada con grasa añadida. Esto pudiera ser debido a que se trata de alimentos distintos o porque en este segundo caso la grasa añadida pudiera no tener el mismo efecto protector que la grasa presente de modo natural en el alimento.

Hay que tener en cuenta que los tres tratamientos térmicos ensayados son inferiores a los recomendados por la S.V.A.C. -Sous-vide Advisory Committee- (90° C/4,5 minutos) o por la A.C.M.S.F. -Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food- y por la E.C.F.F. -European Chilled Food Federation- (90° C/10 minutos), para productos con una vida útil superior a 10 días.

V.II.- ESTUDIO DE LA CALIDAD NUTRICIONAL.

V.II.1.- COMPARACIÓN DE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE CON UN TRATAMIENTO TRADICIONAL. INFLUENCIA DEL COCINADO CON O SIN DISTINTOS TIPOS DE ACEITE (OLIVA Y GIRASOL)

V.II.1.1 CONTENIDO EN NUTRIENTES DE LA TRUCHA ARCO-IRIS CRUDA.

El contenido en **humedad, proteína, grasa y cenizas** de los filetes de trucha arco-iris crudos (tabla N.1) **oscila dentro de los valores que la bibliografía señala como “normales”** para esta especie de pescado (Nettleton & Exler, 1992; Mataix *et al.*, 1993; Belitz & Grosch, 1997; INRAN, 1997; McCance & Widdowson, 1998; Souci-Fachmann-Kraut, 1999; Moreiras *et al.*, 2001; Gokoglu *et al.*, 2004).

Sin embargo, hay que resaltar que el **contenido en humedad** se sitúa entre los **valores más bajos** (73,20 g/100 g de alimento), mientras que por el contrario, el **contenido en grasa** está entre los **más altos** (6,58 g/100 g de alimento). Los contenidos de éstos dos nutrientes en los pescados procedentes de la acuicultura son normales y están suficientemente documentadas en la bibliografía. Así, Nettleton & Exler (1992) observaron que el contenido en humedad en trucha arco-iris procedentes de la acuicultura era menor en comparación con la trucha salvaje para una misma época de año, edad, sexo y peso de los ejemplares (74,8 vs 72,8 g/100 g de alimento, respectivamente), mientras que por el contrario, el contenido en grasa era mayor en la truchas cultivadas que en las salvajes (5,4 vs 3,8 g/100 g de alimento, respectivamente). Resultados similares fueron obtenidos por Espe *et al.*, (2002).

Además, debe tenerse en cuenta que **existe una relación directa entre el contenido final de grasa de la trucha arco-iris procedente de la acuicultura y la cantidad de lípidos que contiene la comida utilizada durante la alimentación de la misma**, como ya demostraron Chaiyapechara *et al.* en el año 2001.

En cuanto a su **contenido en proteínas**, éste supone el 72,9 % del extracto seco (Tabla N.1), lo que caracteriza a este producto como un **alimento esencialmente proteico**. Obsérvese, que una **ración media de 150 gramos de filete de trucha arco-iris, podría**

cubrir el 55 % de la ingesta diaria recomendada de proteínas para un varón adulto y casi el 72 % en el caso de una mujer adulta; además, este aporte solo supondría el **7-8 % y el 8-9% de sus requerimientos energéticos diarios para un hombre y una mujer adulta respectivamente** (Moreiras *et al.*, 2001).

El **patrón aminoacídico** que presenta este alimento (tabla N.22) es muy **similar al descrito en bibliografía para esta especie** (Souci, 1991); si bien, es importante destacar su alto contenido en algunos **aminoácidos esenciales** (Mahan & Escott-Stump, 2001) como son Ile, Leu y Phe principalmente, y en menor medida Val y Met.

Con respecto al **perfil lipídico** (tabla N.16), como era de esperar, recuerda al de la grasa de los pescados en general; caracterizándose por un **alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados**, que suponen el 69,3 % del total de ácidos grasos determinados.

Desde un punto de vista cuantitativo (tabla N.10), la **fracción lipídica** más abundante es la formada por los **ácidos grasos monoinsaturados**, compuesta fundamentalmente por el **ácido oleico** (C18:1) y en menor medida por los **ácidos palmitoleico** (C16:1), **eicosénico** (C20:1) y **cetoleico** (C22:1). Dentro de los **ácidos grasos saturados** predomina el **ácido palmítico** (C16:0), aunque también se aprecian cantidades significativas del **ácido mirístico** (C14:0) y del **esteárico** (C18:0). Los **ácidos grasos poliinsaturados**, que suponen el 28,9 % del total de ácidos grasos determinados, están formados en un 91 % por **ácidos grasos w-3**, fundamentalmente por el **ácido docosahexaenoico (DHA)** (C22:6 w-3) y el **ácido eicosapentanoico (EPA)** (C20:5 w-3). También se aprecian cantidades importantes de los **ácidos clupanodónico** (C22:5) y **linoleico** (C18:2 w-6) dentro de ésta fracción poliinsaturada.

La alta cantidad de ácidos grasos w-3 origina que la **relación w-6/w-3 sea muy baja**, inferior a la que la bibliografía establece para este tipo de pescado (Hearn *et al.*, 1987; McCance & Widdowson, 1998; Ribarova *et al.*, 2003); si bien hay que hacer constar, que en estos trabajos no se hace referencia a la especie de trucha sobre la que se realizaron los análisis, ni si se trata de especímenes procedentes de la acuicultura o por el contrario se trata de truchas salvajes.

Esta baja relación w-6/w-3 encontrada es similar a la que presentan otros pescados azules con mayor contenido graso, como el salmón, la sardineta o la caballa, aunque inferior a la que presentan la sardina o el arenque graso (Mataix & Gil, 2002).

El **contenido en cenizas** que presenta este alimento (tabla N.1), se encuentra dentro de los límites que establece la bibliografía para esta especie de pescado (Belitz & Grosch, 1997; Souci-Fachmann-Kraut, 1999; Gokoglu *et al.*, 2004).

Sin embargo a la hora de comparar el contenido mineral (tabla N.4) se observan diferencias. Así mientras que minerales como el **potasio** se encuentra en los valores más altos de los aportados por otros autores, el **sodio**, **calcio** y **magnesio** se encuentra entre los más bajos. La **relación de sodio respecto a la del potasio** es del orden **1:13**, un valor entre los más bajos encontrados en los pescados, por lo que este alimento se muestra **adecuado para su inclusión en las dietas preventivas de hipertensión**.

Especial mención merece el **fósforo** (tabla N.4), el cual se encuentra en **cantidades muy altas** (595,8 mg por 100 gr de alimento), duplicando casi el valor medio que la bibliografía establece para esta especie de pescado (Wheaton & Lawson, 1985; Mataix *et al.*, 1993; Lall, 1995; Primo-Yúfera, 1997; Souci *et al.*, 1999; Gokoglu *et al.*, 2004). Este hecho ocasiona que la **relación calcio/fósforo** sea **especialmente baja, del orden de 0,03, muy desequilibrada desde el punto de vista dietético**.

Con respecto a los **minerales traza** estudiados (**hierro**, **cobre** y **zinc**) se observan valores ligeramente inferiores a los descritos por otros autores para la misma especie (tabla N.4).

V.II.1.2 COMPARATIVA DE LA TECNOLOGÍA SOUS-VIDE CON EL COCINADO TRADICIONAL

■ CONTENIDO EN AGUA Y MACRONUTRIENTES.

Tal y como era esperable, tanto en las muestras de trucha sometidas a un tratamiento culinario tradicional (Tt, Ttg, TtO), como en las sometidas a un tratamiento sous vide (Tv, Tvg, TvO), independientemente de si se procesaron con aceite de girasol, con aceite de oliva o sin aceite, se observó un **contenido en humedad** significativamente menor ($p < 0,05$) que el que presentaba la trucha cruda (T), (Tablas N.1, N.2 y N.3).

Probablemente, sea el bajo **contenido en humedad de la trucha cruda**, como se ha descrito en el apartado anterior, **lo que impide una deshidratación importante en pescados sometidos a los tratamientos tecnológicos culinarios e industriales** que describen la mayor parte de los autores (Gómez-Guillén *et al.*, 2000; Puwastien *et al.*, 1999; Candela *et al.*, 1998; Sánchez-Muniz *et al.*, 1992; García-Arias *et al.*, 2003). A su vez, es posible que este hecho condicione también los cambios en la composición de nutrientes que se van a suceder por los tratamientos estudiados objeto de esta tesis doctoral.

A la hora de comparar el procesado mediante la tecnología *sous vide* con el tratamiento tradicional, se observó que las muestras de trucha procesada *sous vide* sin aceite (**Tv**) y con aceite de oliva (**TvO**) mostraban un contenido en humedad significativamente menor ($p < 0,05$) que las mismas muestras procesadas de forma tradicional (**Tt** y **TtO**), (Tablas N.1, N.2). Mientras que por el contrario, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en cuanto al contenido en humedad entre las muestras procesadas *sous vide* con aceite de girasol (**Tvg**) y las procesadas en este mismo aceite mediante el método tradicional (**Ttg**), (tabla N.3).

En lo relativo al **contenido en grasa**, los resultados apuntan a un distinto comportamiento en este nutriente por el tratamiento *sous vide* con respecto al procesado tradicional, tanto si los resultados se expresan en 100 gramos de alimento como en 100 gramos de sustancia seca; en contraste con lo descrito por Ghazala *et al.*, (1996) quienes no encontraron diferencias entre el contenido graso de un mismo plato elaborado a base de carne de foca de forma tradicional o bien pasteurizado *sous vide*. Así, observamos que cuando la trucha se cocina en su jugo (sin aceite) por el método tradicional (muestras **Tt**) su contenido graso desciende proporcionalmente con respecto al pescado crudo, mientras que en caso del pescado procesado *sous vide* sin aceite (muestra **Tv**), el contenido en grasa aumenta (tabla N.1). Por otro lado, en la trucha procesada *sous vide* que se marcó previamente con aceite de oliva (muestras **TvO**) se observa con respecto al cocinado tradicional con este mismo aceite (muestras **TtO**) una cifra lipídica significativamente inferior (8,19 % vs 9,04 %) (Tablas N.1 y N.2). Por contra, en el estudio de la trucha cocinada *sous vide* y marcada previamente con aceite de girasol (muestras **Tvg**) no se observaron diferencias significativas con el cocinado tradicional en ese mismo aceite (muestras **Ttg**) (tabla N.3). Así, y a pesar del alto contenido en grasa que mostró este pescado crudo (6,58 %) se sigue produciendo en el proceso *sous vide* un intercambio lipídico con el aceite añadido (oliva o girasol) en el marcado, lo que en la práctica se ha traducido en un aumento de la cifra lipídica con respecto a la originaria de este pescado. Este intercambio agua-grasa está ampliamente descrito en la bibliografía en el caso de la fritura de pescado (Gall *et al.*, 1983; Sánchez-Muniz *et al.*, 1992; Castrillón *et al.*, 1997; García-Arias *et al.*, 2003; Gokoglu *et al.*, 2004); y será cuantitativamente mayor cuanto menor contenido graso tenga el pescado crudo. Así, Ruiz-Roso (1983) apenas observó cambios cuantitativos de grasa en sardinas al someterlas al proceso de fritura, mientras que el porcentaje de grasa del pez gato pasa de un 4,5% en crudo a un 7,5% una vez frito (Mustafá & Medeiros, 1985). No obstante, nuestros resultados muestran que en alimentos con elevado contenido graso, como es la trucha, este intercambio sigue produciéndose, datos que concuerdan con los

obtenidos por otros autores como Cuesta & Sánchez-Muniz, (2001) y García-Arias *et al.*, (2003).

El **contenido proteico** se eleva porcentualmente respecto al pescado crudo (T) cuando la trucha se somete a cualquiera de los tratamientos y modalidades (con y sin aceite) estudiadas (muestras Tt, TtO, Ttg, Tv, TvO, Tvg), al igual que se observa en otros pescados y en otros tratamientos como la cocción (Puwastien *et al.*, 1999); el asado a la plancha ó al horno (García-Arias *et al.*, 2003a), la fritura en baño de aceite (García-Arias *et al.*, 2003b). Los resultados no difieren al expresarlo en 100 gramos de alimento o en 100 gramos de sustancia seca. Al comparar el cocinado tradicional con el procesado sous vide se observa que cuando la trucha se cocina en su jugo (sin aceite) por el método tradicional (muestras **Tt**) su contenido proteico es significativamente mayor ($p < 0,05$) que si se procesa sous vide sin aceite (muestras **Tv**), (24,43 % vs 22,44 % para las muestras Tt y Tv respectivamente) (tabla N.1). Por otro lado, en la trucha procesada sous vide que se marcó previamente con aceite de oliva (muestras **TvO**) se observa con respecto al cocinado tradicional con este mismo aceite (muestras **TtO**) una cifra proteica significativamente superior (25,27 % vs 23,32 %) (Tablas N.1 y N.2). Por contra, en el estudio de la trucha cocinada sous vide y marcada previamente con aceite de girasol (muestras **Tvg**), al igual que había ocurrido con el contenido lipídico, no se observaron diferencias significativas en el contenido proteico con respecto al cocinado tradicional en ese mismo aceite (muestras **Ttg**), (tabla N.3). Estos datos difieren de los obtenidos por otros autores (Ghazala *et al.*, 1996) quienes encontraron mayores contenidos totales de proteína en las muestras procesadas de forma convencional que en las procesadas sous vide, probablemente debido a que en este caso el proceso se realizó sinb aceite.

Con respecto al **contenido en cenizas**, en todas las muestras procesadas sous vide, independientemente de si se fueron procesadas con o sin aceite, (muestras TV, TvO y Tvg) mostraron un contenido en cenizas inferior al que presentaron las muestras procesadas de forma tradicional a igualdad del resto de variables (muestras Tt, TtO y Tvg, respectivamente), (Tablas N.1, N.2 y N.3).

▪ **CONTENIDO EN MINERALES.**

El análisis pormenorizado del contenido mineral de las rodajas de trucha procesada sous vide “en su jugo” con respecto a la trucha cruda (**Tv vs T**) refleja que minerales traza como el Fe o el Cu, y minerales como el Ca y el Mg no se ven afectados como consecuencia del procesado; sin embargo el Zn, el Na y el K aumentaron significativamente, mientras que el fósforo disminuye (tabla N.4.). Por su parte el procesado tradicional

presenta, con respecto a la trucha cruda (**Tt vs T**), modificaciones significativas en todos los minerales estudiados, aumentando el contenido en Fe, Zn, Na, K, Ca y Mg, y disminuyendo el contenido en Cu y P (tabla N.4.). El mayor contenido de Na en la trucha procesada tanto de forma tradicional como por el procesado sous vide, se debe sin duda a la adición de sal yodada (1,35 gramos por ración) en ambos casos.

Al comparar directamente el contenido mineral de la trucha procesada sous vide con respecto a la procesada por el método tradicional (**Tv vs Tt**) se observa un menor contenido en Na, Ca y Mg, mientras que aumenta significativamente el contenido en Cu y se mantienen sin diferencias significativas el resto de minerales estudiados (Fe, Zn, K y P). Estos datos, contradicen lo postulado por otros autores, como Creed, 1995, quienes defienden que en el cocinado bajo vacío se limita la pérdida hídrica y de sales minerales debidas al exudado. Este menor contenido en Na en el procesado sous vide, unido a un mantenimiento en el contenido en K, da lugar a que el procesado sous vide presente una relación Na/K menor que el procesado tradicional (0,25 vs 0,32)

El análisis pormenorizado de estos minerales en 100 gramos de sustancia seca del procesado sous vide con respecto al procesado tradicional (tabla N.7.) refleja los mismos resultados que los obtenidos en el alimento fresco – 100 gramos de alimento - (tabla N.4.).

Cuando la trucha se cocina a la plancha con aceite de oliva o de girasol ó bien se marca previamente con cualquiera de estos aceites antes de su procesado bajo vacío (tablas N.I.5, N.I.6, N.I.8 y N.I.9) se observa, del mismo modo que en el caso anterior, una menor retención de Na, que unido a una también menor retención de K provoca que la relación Na/K de las muestras TvO/TtO y Tvg/Ttg sea menor en las muestras procesadas sous vide que en las procesadas por el método tradicional (0,31 –TvO- vs 0,25 –TtO-) y (0,54 –Tvg- vs 0,81 –Ttg-). Para el resto de minerales estudiados no se observaron en general diferencias significativas entre ambos tipos de tratamientos, salvo en el caso del aceite de girasol donde el contenido en cobre es significativamente mayor en el alimento procesado sous vide que en el tradicional (tablas N.I.6 y N.I.9).

Tras tres días de almacenamiento del pescado procesado sous vide “en su jugo”, éste sigue manteniendo prácticamente las mismas diferencias en el contenido mineral con respecto al procesado tradicional ($Tv_3\ 2^\circ C$ vs Tt_3) que las observadas en las muestras sin almacenar, salvo en el caso del Na, el cual se encuentra en cantidades superiores en el procesado sous vide que en el tradicional.

Por otro lado, con respecto a la **relación Ca/P**, ésta se ve claramente influenciada por efecto del tratamiento, observándose una severa reducción en el contenido en fósforo y la apenas variación del calcio, tanto por el procesado por el método tradicional como por el

método *sous vide*, independientemente en ambos casos de la utilización o no de aceite. Así, mientras que en la trucha cruda, ésta relación Ca/P es del orden de 0,03, en el procesado por el método tradicional está relación aumenta hasta el 0,14 de las muestras Tt, el 0,08 de las muestras TtO y el 0,10 de las muestras Ttg. Del mismo modo, en las muestras procesadas *sous vide*, la relación Ca/P aumenta hasta el 0,08 de las muestras Tv, el 0,07 de las muestras TvO y el 0,11 de las muestras Tvg. Finalmente, concluir que el almacenamiento a 2° C durante tres días no afecta significativamente a la relación Ca/P.

■ CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS.

La composición en ácidos grasos de la trucha procesada por la tecnología *sous vide* “en su jugo” refleja, con respecto al pescado crudo (**Tv vs T**), pequeñas modificaciones en la composición de ácidos grasos. Así, se observan incrementos significativos en el contenido en C18:2 y C20:1 y un menor contenido en C22:5, C15:1 y C16:0, (tabla N.10).

Si comparamos el perfil de ácidos grasos del procesado *sous vide* con el cocinado tradicional (ambos sin aceite) (**Tv vs Tt**) observamos contenidos significativamente más altos de C14:0 y C20:1, mientras que el contenido de C18:2 es significativamente menor. Después de tres días de almacenamiento a 2° C (**Tv₃ 2°C vs Tt₃**), continúan siendo únicamente estos tres ácidos grasos los que se muestran diferente en ambos tratamientos, sin embargo en este caso el C22:1 se encuentra en mayor cantidad, mientras que el contenido en C14:0 es significativamente menor (tabla N.10).

En conjunto, los sumatorios de ácidos grasos reflejan para el pescado procesado por el método tradicional (Tt) un mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados (AGP) y un menor contenido en ácidos grasos monoinsaturados (AGM) que la trucha procesada *sous vide* en su jugo (Tv); presentando ésta un menor contenido relativo de AGP w-3. Sin embargo, como ya se ha comentado anteriormente, no se han observado diferencias significativas en el contenido porcentual de los ácidos grasos C20:5 y C22:6 de los dos tratamiento estudiados con respecto al pescado crudo (tabla N.16). De acuerdo con Polvi (1989), los pescados grasos, (muestra pescado presentaba un contenido en grasa bastante alto -6,58 g/100 g de alimento-), acumulan los lípidos tanto en el músculo oscuro como en el claro en forma de triglicéridos mayoritariamente. No obstante, la fracción de ácidos grasos que se encuentra esterificando los fosfolípidos en el músculo alcanza en el pescado un 10% (Bell *et al.*, 2001). Por su parte, los AGP w-3 y principalmente el C22:6 tienden a incorporarse selectiva y significativamente a estos fosfolípidos musculares en mayor medida que a los triglicéridos (Peng *et al.*, 2003; Bell *et al.*, 2001), lo que dificultaría su pérdida durante el procesado, tal y como nos ha ocurrido a nosotros.

Cuando la trucha se cocina a la plancha con aceite de oliva (TtO) o con aceite de girasol (Ttg) se observa con respecto a la trucha cruda (T) una profunda modificación en la composición de los ácidos grasos (tablas N.11. y N.12) que se traduce en una drástica disminución del porcentaje relativo de los ácidos grasos característicos del pescado como el docosahexanoico (C22:6), el cuplanodoico (C22:5) y el eicosapentanoico (C20:5) y un aumento de los ácidos grasos mayoritarios en ambos aceites: oleico (C18:1) y linoleico (C18:2). Así por ejemplo en la comparativa **TtO vs T** se aprecia una disminución del 28% del C22:6, y de un 31% del C20:5 y un aumento del 77% del C18:1 (ácido graso mayoritario del aceite de oliva). Del mismo modo que en la comparativa **Ttg vs T** el C22:6 y el C20:5 disminuyen un 37 y un 36 % respectivamente, mientras que el C18:2 aumenta un 832%. El análisis comparativo de procesado sous vide con aceite de oliva (TvO) o girasol con respecto al alimento crudo (T) muestra resultados en la misma línea que los encontrados con el procesado tradicional, aunque con menor intensidad. Así, en la comparativa **TvO vs T**, ácidos grasos como el C22:6 y el C20:5 disminuyen respectivamente un 10% y un 2% mientras que el C18:1 aumenta un 27% o en la comparativa **Tvg vs T** el C22:6 y el C20:5 disminuyen respectivamente un 2% y un 3% mientras que el C18:2 aumenta un 237%, (tablas N.11. y N.12).

Por lo tanto, el análisis de los resultados pone de manifiesto un intercambio de los ácidos grasos mayoritarios entre el pescado y el aceite de procesado. Este fenómeno observado, tanto en el cocinado tradicional como el procesado sous vide, está ampliamente descrito por varios autores en diferentes procesos térmicos, entre los que se destacaría la fritura en baño de aceite (Varela *et al.*, 1990; Sánchez-Muniz *et al.*, 1992; Álvarez-Pontes *et al.*, 1994; García-Arias *et al.*, 2003a). Sin embargo, los resultados también ponen de manifiesto que este intercambio lipídico es de menor intensidad en el procesado sous vide que en procesado tradicional. La explicación podría estar en que, en el procesado sous vide con aceite de oliva o girasol, se alcanzaron temperaturas menores (90° C / 15 minutos) que las alcanzadas durante del cocinado tradicional “a la plancha” en esos mismos aceites (180 °C/ 1,5 minutos por cada cara).

De esta forma, nuestros resultados concuerdan con los encontrados por Ghazala *et al.*, 1996 en el estudio realizado sobre platos de carne de foca y vegetales procesados por la tecnología sous vide a distintas temperaturas, en donde se establece una relación inversamente proporcional entre la temperatura de procesado y la capacidad de retención de los ácidos grasos EPA (C20:5) y DHA (C22:6).

Por lo tanto, el procesado sous vide con marcado previo en aceite de oliva o girasol introduce modificaciones positivas en el perfil lipídico de la trucha, al aumentar en ambos casos el contenido en AGM (fundamentalmente por el aumento en oleico C18:1) y reducirse el contenido en AGS en las muestras procesadas con aceite de oliva (tablas N.17 y N.18), lo que lo convierte en un alimento más equilibrado desde este punto de vista, ya que las últimas recomendaciones de organismos nacionales establecen que los AGM alcancen el 50% de la ingesta total de ácidos grasos. Así, mientras que la *American Heart Association* (Krauss *et al.*, 2000) recomienda reducir el consumo total de grasa al 30% ó menos de la ingesta energética, la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC, 2001) señala que dicho porcentaje puede llegar hasta el 35% siempre que se utilice como grasa culinaria el aceite de oliva.

En cuanto al análisis comparativo de las muestras correspondientes al pescado procesado en aceite de oliva o girasol por ambos métodos (tradicional o sous vide) después de tres días de almacenamiento a 2° C (**TvO₃ 2°C vs TtO₃** y **Tvg₃ 2°C vs Ttg₃**) se continua observando en ambos casos un claro intercambio entre los ácidos grasos mayoritarios del pescado y el aceite de procesado, aunque, al igual que ocurría en las muestras de origen, este fenómeno se produce en menor intensidad en el procesado sous vide que en el procesado tradicional. Sin embargo, es necesario destacar que en las muestras procesadas sous vide en aceite de oliva o girasol (TvO₃ 2°C y Tvg₃ 2°C) hay significativamente un menor contenido en C22:6 que en las muestras de origen (TvO y Tvg) (tablas N.11. y N.12).

Por tanto, el hecho de cocinar sin aceite, emplear oliva o girasol modifica significativamente las relaciones Insaturados/Saturados y w-6/ w-3. Por otra parte, y como era de esperar, el cocinar sin o con aceite, independientemente del tipo de que se trate, introduce más diferencias significativas que el empleo de oliva o de girasol (tablas N.I.17 y N.I.18).

Desde el punto de vista del consumidor (tablas N.13, N.14, N.15), una ración del pescado estudiado procesado por la tecnología sous-vide en todas las modalidades estudiadas, y con respecto al cocinado tradicional, proporciona una cantidad significativamente mayor de los ácidos grasos poliinsaturados w-3 característicos del pescado (C20:5 y C22:6). De hecho, la cantidad total de ácidos grasos poliinsaturados tanto en la trucha procesada sous-vide sin aceite (Tv) como la procesada por el mismo método en aceite de oliva (TvO), es más elevada que en el pescado crudo (T) y que en el cocinado de forma tradicional (Tt y TtO); y la cantidad total de ácidos grasos monoinsaturados es mayor en el caso de la trucha cocinada por el procedimiento sous vide con girasol (Tvg), (tablas N.19, N.20, N.21).

■ CONTENIDO EN AMINOÁCIDOS.

La transformación del perfil aminoacídico es muy significativa por el nuevo tratamiento estudiado (Tablas N.22, N.23 y N.24). Así, y con respecto a la trucha cruda (muestra **T**), se observa en las todas las muestras procesadas sous vide, independientemente de si se utilizó o no aceite de oliva o girasol (muestras **Tv**, **TvO** y **Tvg**), una disminución en el porcentaje de algunos aminoácidos esenciales (Mahan & Escott-Stump, 2001) como Met y Phe, y de otros aminoácidos como Ser, His, Thr, Arg y Tyr; mientras que por el contrario, el contenido en Asp, Glu, Gly, Ala, Lys y Leu se vio aumentado como consecuencia del tratamiento.

Del mismo modo, al comparar las proporciones de aminoácidos obtenidas en las muestras procesadas de modo tradicional con respecto a la trucha cruda (muestra **T**) se observa que, independientemente de la utilización de aceite o no (muestras **Tt**, **TtO**, y **Ttg**), la proporción de Asp, Glu y Gly aumenta de forma significativa, mientras que la Ser, His y Arg se ve disminuida. Un estudio aparte merece el caso de la Lys, aminoácido que como consecuencia del procesado tradicional en ausencia de aceite disminuye con respecto al pescado crudo un 65 % (muestras **Tt vs T**); hecho que por el contrario no se observa ni en las muestras procesadas de forma tradicional con oliva o de girasol (muestras **TtO** y **Ttg**), ni en las procesadas sous vide con o sin aceite (muestras **Tv**, **TvO** y **Tvg**), en las que no solo no se destruye este aminoácido, sino que en general se llega a duplicar su contenido. Este aspecto parece especialmente significativo ya que la Lys es un aminoácido que muchos autores describen como sensible a los tratamientos térmicos. Además, cuando los aminoácidos están incluidos en una cadena proteica, la Reacción de Maillard no afecta a toda ella por igual, así el primer aminoácido dañado es el que contiene el grupo NH₂-terminal. Y los siguientes serán los aminoácidos básicos, especialmente la Lys, cuya destrucción es de entre 5-15 veces mayor que la de los restantes aminoácidos (Álvarez-Pontes, 1994). Por lo tanto, no parece ser el cocinado sous vide, y por tanto la ausencia de oxígeno, una técnica especialmente lesiva para este aminoácido como a priori era de esperar. Incluso, el proceso de marcado a la plancha con aceite (ya sea de oliva o de girasol) como paso previo a la cocción bajo vacío aparentemente no afectan negativamente a este aminoácido.

Si realizamos un análisis comparativo de la **trucha procesada sous vide** (muestra **Tv**) con respecto a la **trucha cocinada en su jugo de forma tradicional** (muestra **Tt**) apreciamos que dentro de los aminoácidos esenciales presenta un mayor contenido en Val,

Pro, Ile y Leu y menor contenido en Met y Phe. Sin embargo al comparar ambos procesados tras tres días de almacenamiento a 2°C (muestras **Tv₃ (2°)** vs **Tt₃**) se observa un menor contenido en todos los aminoácidos estudiados en la muestras procesadas sous vide, salvo en el caso de la Asp, Glu, Ala y Lys que aparecen en mayores proporciones.

Cuando el pescado se **marca con aceite de oliva** (muestra **TvO**) se observa respecto a la **trucha cocinada en ese mismo aceite de forma tradicional** (muestra **TtO**) un mayor contenido en aminoácidos esenciales como la Met, Ile y Leu, así como en otros no esenciales como Asp, Glu y Thr, mientras que por el contrario disminuye el contenido en Pro, Val y Phe, al igual que en el caso de la Ser, His, Ala, Tyr y Lys. Tras el almacenamiento de las muestras durante tres días a refrigeración se observan algunas modificaciones en el perfil aminoacídico; así las muestras procesadas sous vide, presenta con respecto al cocinado tradicional (muestras **Tv₃O (2°)** vs **Tt₃O**) un contenido significativamente mayor en Val, Ile y Phe y menor en Met y Phe entre otros, no observándose diferencias en cuanto a su contenido en Pro, His, Arg y Tyr.

Por otro lado, si la trucha la marcamos previamente con aceite de girasol (muestra **Tvg**) no se observan respecto a la **trucha cocinada en ese mismo aceite de forma tradicional** (muestra **Ttg**) diferencias significativas en cuanto al contenido en Pro, Val, Ile, Phe, Gly, His y Asp, a la vez que es significativamente mayor el contenido en Met y Leu. Tras el almacenamiento a refrigeración durante tres días (comparativa **Tv₃g (2°)** vs **Tt₃g**), apenas se aprecian cambios sobre lo comentado, con la excepción de la Val que es significativamente menor en las muestras procesadas sous vide.

V.II.2.- ESTUDIO DEL ALMACENAMIENTO DE LA TRUCHA PROCESADA SOUS-VIDE A DISTINTOS TIEMPOS (3, 21 Y 45 DÍAS) Y TEMPERATURAS (2° Y 10° C)

▪ CONTENIDO EN MACRONUTRIENTES

El análisis del contenido en humedad de las muestras analizadas revela que durante los primeros tres días de almacenamiento a 2° C de las muestras procesadas sous vide “*en su jugo*” se produce un rehidratación de la trucha, previsiblemente a partir de la guarnición vegetal (patata, guisante y zanahoria), y es a partir del tercer día de almacenamiento y hasta

los 45 días de estudio cuando se produce una significativa y paulatina disminución del contenido en agua (tabla N.28.). Este mismo efecto se observa también en las muestras almacenadas a 10 °C, en las cuales se simula una ruptura de la cadena del frío.

Esta deshidratación observada a partir de los tres días de almacenamiento conlleva un aumento porcentual en el contenido tanto de proteína como de sales minerales, y sobre todo, una significativa disminución del contenido en grasa del pescado, que pasa de 10.01 % que tiene al principio de la experiencia (muestra Tv) a 7,72 % a los tres días (muestra TvO₃ 2 °C), disminuyendo nuevamente a los 21 días (6,89 % muestra TvO₂₁ 2 °C), para aumentar de forma significativa a los 45 días (7,93 %, muestra TvO₄₅ 2 °C). En el caso del almacenamiento a 10 °C, se observa también una disminución en contenido en grasa en los primeros 3 días de la experiencia, aunque en este caso es mucho más brusca al pasar del 10,01% inicial al 5,32 % (muestra TvO₃ 10 °C), para aumentar paulatinamente a lo largo del almacenamiento hasta llegar al 8,16 % a los 45 días (muestra TvO₄₅ 10 °C) (Tabla N.28.).

Señalar también que las muestras almacenadas durante tres días a 2°C y 10°C presentan entre sí contenidos en proteína, grasa y sales minerales significativamente diferentes, a pesar de no existir diferencias en cuanto a su contenido en humedad. Así, el almacenamiento de las muestras a la temperatura más alta transforma la trucha procesada *sous vide* “*en su jugo*” en un alimento con un contenido lipídico significativamente menor que la almacenada a 2° C (5,32 % vs 7,72 %), a la vez que presenta un mayor contenido en proteína (23,37 % vs 22,44 %) y sales minerales (1,85 % vs 1,22 %) (Tabla N.28.).

En la trucha marcada previamente con aceite de oliva o de girasol (tablas N.29. y N.30), durante el almacenamiento del pescado procesado *sous vide* seguimos observando lo comentado al principio de este apartado: una primera rehidratación de la trucha en las primeras fases del almacenamiento (también previsiblemente a partir de la guarnición vegetal), y una deshidratación a partir del tercer día de almacenamiento y hasta los 45 días de estudio.

Al comparar la evolución a lo largo del almacenamiento del contenido en sales minerales en las muestras marcadas con aceite se observa un comportamiento diferente en función del tipo de aceite utilizado (aceite o girasol), independientemente de la temperatura de almacenamiento (2° o 10° C). Así, mientras que en las muestras marcadas con aceite de oliva se observa a lo largo de los 45 días de almacenamiento (tanto a 2° C como a 10° C) un aumento en el contenido en cenizas, las cuales pasan del 1,48 % inicial (muestra TvO) al 1,80 % (muestras TvO₄₅ 2°) o al 1,91 % (muestras TvO₄₅ 10°) (tabla N.29). Sin embargo, en las muestras marcadas con aceite de girasol se observa el fenómeno inverso, ya que el contenido en cenizas disminuye significativamente a lo largo de esos 45 días, pasando del

1,61% inicial (muestra Tvg) al 1,49 % (muestras Tvg₄₅ 2°) o al 1,45% (muestras Tvg₄₅ 10°) (tabla N.30).

▪ CONTENIDO EN MINERALES

El contenido mineral de rodajas de trucha procesada sous vide cocinada “*en su jugo*” o marcada previamente con aceite (oliva o girasol) y almacenada durante 3, 21 y 45 días a 2° C y 10° C, refleja esencialmente las modificaciones en el contenido en cenizas (tablas N.31, N.32, N.33, N.34, N.35 y N.36).

Dentro de los elementos traza, se aprecian algunas variaciones en el contenido de Cu y Zn con la temperatura o el tiempo estudiado que es probable que se deban a la variabilidad en el contenido mineral del pescado. Sin embargo destaca la estabilidad del Fe a lo largo del almacenamiento a 2° C, no habiéndose observado diferencias significativas en el contenido en este mineral durante los 45 días de almacenamiento tanto en las muestras procesadas “*en su jugo*” (muestras Tv) como en las marcadas previamente con aceite de oliva (muestras TvO) (tablas N.31, y N.32)

También existe una alta dispersión en las cifras de Ca, explicable por la presencia ó no de pequeñas espinas. En relación con el K, no se observan diferencias significativas a lo largo del almacenamiento a 2° C en las muestras procesadas sous vide “*en su jugo*”, mientras que en las marcadas previamente con aceite de oliva o con girasol sí se aprecia una significativa y constante disminución en su contenido a lo largo de los 45 días de almacenamiento a 2° C (tablas N.31, N.32, N.33).

Para otros elementos mayoritarios, como el P, (y al igual que lo comentado para el K) no se observan diferencias significativas a lo largo del almacenamiento a 2° C en las muestras procesadas sous vide “*en su jugo*”. Sin embargo, y a diferencia del caso anterior, en las muestras marcadas previamente con aceite de oliva o con girasol, la disminución del contenido en este mineral no aparece hasta las últimas etapas de almacenamiento a 2° C, habiéndose mantenido su contenido sin diferencias significativas a lo largo de los primeros 21 días de almacenamiento (tablas N.31, N.32, N.33)

Con respecto al Mg, se aprecian algunas variaciones en su contenido con la temperatura o el tiempo estudiado que es probable que también se deban a la variabilidad en el contenido mineral del pescado.

Finalmente, en relación con el Na comentar que su contenido es mayor tanto en las muestras cocinadas “*en su jugo*”, como en las marcadas previamente con aceite de oliva y

almacenadas durante 45 días tanto a 2° C como a 10° C, así como en las procesadas con aceite de girasol; siendo la única excepción las muestras procesadas con aceite de girasol donde a 2°C se produce una disminución y a 10°C un mantenimiento de su contenido.

■ CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS

En el estudio de la composición en ácidos grasos de la trucha sous-vide cocinada “*en su jugo*” a lo largo de 45 días de almacenamiento a 2° C cabe destacar fundamentalmente un significativo descenso en el porcentaje de C22:5, que pasa del 3,06% al inicio de la experiencia (muestras Tv) al 1,50 % a los 45 días (muestras Tv₄₅ 2°), lo que supone un descenso del 51% (tabla N.37). A pesar de este brusco descenso en el porcentaje de C22:5, dada la estabilidad que mantiene el ácido graso mayoritario C22:6, no se observaron diferencias significativas en el sumatorio de AGP, manteniéndose similares la relación AGP/AGS y (AGP+AGM)/AGS. Del mismo modo que el contenido en AGP w-3, AGP w-6 y la relación w-6/w-3 no se vio modificada en la comparativa Tv vs Tv₄₅ 2°, (Tabla N.43).

Este fenómeno ha sido también observado en el estudio que simulaba la ruptura de la cadena del frío (almacenamiento a 10° C), en donde el descenso en el porcentaje de este ácido graso fue del 56% (muestras Tv vs Tv₄₅ 10°), (tabla N.37). En este caso, este descenso sí afecta al contenido total de AGP, el cual es significativamente menor al final del almacenamiento. Por otro lado, al igual que en el caso anterior y la relación w-6/w-3 no se vio modificada en la comparativa Tv vs Tv₄₅ 10°, (Tabla N.43).

Cuando la trucha se marca previamente con aceite de oliva se observa que tras 45 días de almacenamiento a 2° C hay un descenso significativo en el porcentaje de C22:5, el cual disminuye un 46 %, y en menor medida de C20:5 quien se reduce un 14% (TvO vs TvO₄₅ 2°) (tabla N.38); si bien ambos descensos no afectan significativamente al contenido total de AGP dada nuevamente la estabilidad que mantiene el ácido graso mayoritario C22:6 (tabla N.44). Cuando las muestras fueron almacenadas a 10° C, se observa nuevamente un significativo descenso en el porcentaje de los dos ácidos grasos comentados anteriormente (C22:5 y C20:5) al que hay que sumar un descenso en el porcentaje de C22:6, que en conjunto sí afecta al contenido total de AGP al final del almacenamiento a 10° C, con un descenso del 11% (TvO vs TvO₄₅ 10°) (tabla N.44). Sin embargo, en ambos casos (2° y 10° C) no se han observado diferencias significativas en la relación AGP/AGS y (AGP+AGM)/AGS, ni en el contenido en AGP w-3, AGP w-6 y la relación w-6/w-3 (Tabla N.44).

Por otro lado, si la trucha se procesa con aceite de girasol (tablas N.39 y N.45), aparecen más modificaciones que en los casos anteriores. En primer lugar se observa que a

lo largo de los 45 días de almacenamiento a 2° C va disminuyendo significativamente el contenido total de AGP a la vez que aumenta el contenido total en AGS, lo que implica que las relaciones AGP/AGS y (AGP+AGM)/AGS disminuyan también significativamente. Ácidos grasos poliinsaturados w-3 como el C22:6 o el C20:5 disminuyen cerca del 7%, mientras que saturados como el C14:0 o el C16:0 aumentan un 11% y un 4% respectivamente (tabla N.39). En las muestras almacenadas a 10° C se observan también un descenso significativo en el contenido en C22:6 y un aumento en el contenido en C14:0, aunque el aspecto diferencial con la otra temperatura de almacenamiento es el descenso en el contenido en todos los AGM estudiados (C16:1, C18:1, C20:1 y C22:1) lo que implica que las relaciones AGP/AGS y (AGP+AGM)/AGS disminuyan también significativamente.

En resumen, puede afirmarse que sí se producen modificaciones importantes en el perfil lipídico de la trucha cocinada sous-vide y almacenada para su estudio durante un largo periodo de tiempo y/o en condiciones extremadamente altas de temperatura. De hecho, el elevado contenido de AGP w-3, fácilmente oxidables por su alto número de dobles enlaces (Sebedio et al., 1993; Fujita et al., 1994; Ghazala et al., 1996; Candela et al., 1998) disminuye durante el almacenamiento de la trucha pasteurizada bajo vacío en todas las modalidades estudiadas (tiempo, temperatura, cocinado con ó sin aceite).

Desde el punto de vista del consumidor (tablas N.40, N.41, N.42 y N.46, N.47, N.48) una ración de trucha procesada sous vide presenta diferente comportamiento a lo largo del almacenamiento según haya sido procesada sin o con aceite (oliva y girasol). Así, se observa que, tanto en la trucha procesada sin aceite (Tv) como en la procesada con aceite de oliva (TvO), el contenido total en ácidos grasos poliinsaturados en general va disminuyendo a lo largo del almacenamiento (tablas N.46 y N.47). Disminución ésta que es muy acusada en el caso del C20:5, C22:5 y C22:6 (tablas N.40, N.41). Sin embargo en la trucha procesada sous vide en aceite de girasol (Tvg) se observa lo contrario, un aumento del contenido total de ácidos grasos poliinsaturados (tabla N.42), sobretodo en el caso del C20:5 y C22:6 (tabla N.42).

▪ **CONTENIDO EN AMINOÁCIDOS**

En el estudio realizado sobre las muestras de trucha procesada sous vide en su jugo (sin aceite) y almacenada durante 3, 21 y 45 días no se observan modificaciones claras en el perfil aminoacídico, aunque si se observan diferencias estadísticamente significativas en todos los aminoácidos estudiados como consecuencia de la poca variabilidad de los resultados obtenidos. Así se observa que para ambas temperaturas de almacenamiento (2°

o 10° C) un ligero descenso en todos los aminoácidos estudiados con la excepción de la Ala, quien aumenta su porcentaje a partir de los 21 días y de la Val, quien tras 3 días de almacenamiento aumenta cerca de un 8% para posteriormente ir disminuyendo ligeramente (tablas N.49 y N. 52). Se destaca así mismo un importante descenso en Lys en varias de las muestras almacenadas a 10°C (Tv3 y Tv45).

En las muestras de trucha cocinadas con aceite de oliva y almacenadas a 2° C destaca el descenso en algunos aminoácidos esenciales (Mahan & Escott-Stump, 2001) como la Met, Ile, Leu y Phe, y el aumento de Val y Pro. En las muestras almacenadas a 10° C se observa también tanto un menor contenido en esos mismos aminoácidos esenciales (Met, Ile, Leu y Phe), como el aumento de Val y Pro, aunque en el caso de estos dos últimos aminoácidos, a partir de los 21 días de almacenamiento empiezan a disminuir (tablas N.50 y N. 53). Finalmente, en las muestras procesadas con aceite de girasol se observan (para ambas temperatura de almacenamiento) ligeros aumentos a lo largo del tiempo de almacenamiento en el porcentaje de Ala, Pro, Leu y Phe y descensos estadísticamente significativos en el porcentaje de Met (tablas N.51 y N. 54).

La ausencia de oxígeno en la atmósfera de almacenamiento quizás sea la causa principal que evite las oxidaciones o degradaciones de los aminoácidos. De hecho, García-Arias (1991) en otro pescado graso y almacenado durante un año también en ausencia de oxígeno, atún en conserva, tampoco encuentra grandes diferencias en el perfil de aminoácidos ni excesivas modificaciones en los aminoácidos esenciales.

V.II.3.- INFLUENCIA DEL CONSUMO DE TRUCHA (CRUDA Y PROCESADA) SOBRE LA UTILIZACIÓN DE MINERALES

■ BALANCE DE HIERRO

El alimento estudiado aporta a las dietas ensayadas cantidades de hierro muy bajas, que oscilan entre el 1 y el 2% próximas en los casos, proporción que será de origen animal y estará asociada a la ferritina, como compuestos hémicos y otros (Martínez Torres *et al.*, 1975) si bien, casi todo el hierro dietético procede del corrector mineral y se halla bajo la forma de sulfato ferroso (SO₄Fe). Por tanto, este estudio debe enfocarse esencialmente como un análisis de la influencia del consumo de trucha bajo distintos procesos y

condiciones de almacenamiento sobre la utilización del hierro de la dieta. En concreto: trucha cruda (muestra T), trucha procesada por el método tradicional con aceite de oliva (muestra TtO) y trucha procesada sous vide en aceite de oliva tras 3, 21 y 45 días de almacenamiento a 2 o 10 °C (muestras TvO₃ 2°C, TvO₃ 10°C, TvO₂₁ 2°C y TvO₄₅ 2°C).

Al comparar la absorción y la retención de hierro en los animales que ingirieron la dieta que incluía **trucha cruda**, frente a los que tomaron la dieta de caseína-Metionina, cuyos regímenes alimentarios diferían tanto en la fuente proteica como en la lipídica, no se observan diferencias significativas ($p < 0,05$), presentando similares índices de utilización digestiva (%A/I) (56,2 vs 59,4 %), utilización metabólica (% R/A) (97,8 vs 99,1 %) y biodisponibilidad (% R/I) (54,8 vs 58,8%), (tabla N.65). Aparentemente, la presencia de esta especie dulceacuícola sin procesar en la dieta no ejerce una influencia directa de ningún tipo sobre la eficacia de absorción del elemento estudiado, que sí han señalado otros autores en ensayos similares con pescados marinos (García-Arias, 1990; Aspe, 1992), los cuales describen un efecto estimulador sobre la absorción del hierro no hémico de la proteína tisular del pescado y, sobre todo, de la carne, y también una marcada actividad hematopoyética del elemento procedente del pescado, que ya fue puesta de manifiesto por Saha en 1941.

Por otro lado, la **interacción “naturaleza de la grasa-digestibilidad del hierro”** también es una observación perfectamente contrastada desde hace años (Lukasky *et al.*, 1982; Van Dokkum, 1983) y así, algunos autores en ensayos variando la fuente lipídica de la dieta (grasa poliinsaturada procedente de sardina-grasa monoinsaturada procedente de aceite de oliva) señalan por el contrario una influencia negativa de la grasa del pescado utilizada como única fuente lipídica en la dieta sobre la absorción del hierro (Pérez-Granados *et al.*, 2003). En base a estas afirmaciones, comentar que los resultados obtenidos no se ajusta a lo observado por estos autores, a pesar de que el contenido en grasa total de las dietas es relativamente alto (7%) y/o a la elevada relación poliinsaturados/saturados (P/S) (0,98%) dado que el 90% de la misma procedía del pescado.

El hecho cierto es que las ratas que ingirieron dietas cuya fuente proteica fue trucha cruda retuvieron cantidades similares de hierro que las que ingirieron caseína. Del mismo modo, y contrariamente a la opinión de Ender *et al.*, (1972), en la trucha, **el tratamiento térmico convencional no mejora tampoco la utilización del mineral** y los animales que ingirieron la trucha procesada por un tratamiento convencional con aceite de oliva (TtO) presentan unos índices de utilización digestiva (%A/I) e índices de utilización metabólica (% R/A) similares a los que lo tomaron sin procesar (T), sin embargo sí se aprecian diferencias significativas en cuanto a la biodisponibilidad de hierro (%R/I), siendo ésta mayor en las

dietas cuya fuente proteica fue trucha procesada tradicionalmente que en las que ingirieron trucha cruda (62,4 % vs 54,8 %) (Tabla N.65.)

Por otro lado, con respecto a las ratas que ingirieron dietas cuya fuente proteica consistió en trucha procesada **sous vide**, se observa significativamente ($p < 0,05$) una **mayor absorción y retención férrica en comparación con la trucha procesada tradicionalmente**, con la trucha cruda o con las dietas con caseína-Metionina. Así, a la vista de los resultados, el procesado sous vide supone una biodisponibilidad férrica un 13% mayor que el procesado tradicional, un 21 % mayor que la trucha cruda y un 17 % mayor que la dieta de referencia (caseína-metionina) (Tabla N.65.)

El efecto del almacenamiento de la trucha sous vide a 2° C parece ser constante a lo largo del tiempo estudiado, observándose una paulatina disminución de la absorción del hierro lo que implica que tanto el índice de utilización digestiva (% A/I) como del índice de utilización nutritiva o biodisponibilidad de hierro (% R/I) sea menor a lo largo del almacenamiento, que en el caso de los 45 días esas diferencias se hacen significativas ($p < 0,05$). Entre los factores que podrían estar relacionados con este hecho podríamos citar una menor ingesta de los animales, cambios en la estructura proteica que ocasionen variaciones en sus productos de digestión con capacidad diferente para ligar el Fe ya que la utilización neta de la proteína fue menor en esta dieta, y a los productos de oxidación de la grasa poliinsaturada del pescado. Creemos que alguno de estos factores o la suma de todos ellos podrían ser los responsables de la menor eficacia digestiva metabólica y nutritiva (62,5%) del hierro de esta dieta. Pero, el fenómeno no ha podido ser tan importante como para alterar en los días del ensayo algunos almacenes corporales. De hecho, los contenidos férricos absolutos y relativos de hígado y bazo aunque menores no presentan diferencias significativas (tablas N.68 y N.69).

Finalmente, **el almacenamiento a 10° C afecta negativamente tanto a la ingesta como a la absorción del hierro**, lo que, al igual que en el caso anterior, se traduce en una menor utilización digestiva y una menor biodisponibilidad del mineral en comparación con el almacenamiento a 2° C.

■ **BALANCE DE COBRE**

El cobre aportado a las distintas dietas por el pescado no supera el 5,5 %, así es que este elemento, y una vez más, estudiaremos la influencia que el consumo de trucha como fuente proteica y lipídica de la dieta ejerce sobre la biodisponibilidad, en este caso digestibilidad, del elemento.

Los animales que toman la dieta de trucha cruda tuvieron un ingesta ligeramente mayor que el lote control (caseína-metionina) pero también presentaron una mayor eliminación fecal y por lo tanto la cantidad total de Cu absorbido y la digestibilidad del elemento fue similar (tabla N.66.), aunque los animales mostraron menores reservas en el hígado y el bazo (tabla N.66).

El procesado tradicional de la trucha parece incrementar la absorción de cobre (aunque no sea estadísticamente significativo), lo que explica la mayor presencia de este mineral en hígado y bazo. Este hecho podría relacionarse, entre otras posibles razones, con la presencia de aminoácidos y pequeños peptidos que actúan como ligandos favorecedores (Hazell, 1985) y que el proceso tradicional de “plancha”, que según esta descrito por varios autores modula la digestibilidad proteica (Álvarez-Pontes, 1994; García-Arias et al., 2003), aunque suavemente puede haber modificado esos productos de digestión proteica y favorecer subsidiariamente la absorción de este elemento. De esta forma, se observa también que **el tratamiento sous vide presenta una mayor cantidad de cobre absorbido motivado por una mayor ingesta del mineral y una menor eliminación fecal lo que implica a su vez, que el coeficiente de utilización digestiva duplique al índice mostrado por el tratamiento tradicional (40.6 % vs 22,4 %), (tabla N.66.)**.

En cuanto al estudio de almacenamiento, éste revela una **menor utilización digestiva al final del periodo evaluado (45 días)**, mostrando valores muy similares a los observados en los animales que ingirieron la dieta elaborada a partir de trucha almacenada a 10° C.

En conjunto, puede indicarse que el cobre fue mejor utilizado en las dietas elaboradas a partir de trucha en comparación con la dieta patrón (caseína-metionina), lo que podría indicar que el distinto perfil aminoacídico de su proteína ó la grasa que aportaba este pescado podría ejercer un efecto adicional. También comentar que, el cocinado tradicional a “la plancha” en aceite de oliva no modificó ese aprovechamiento al compararlo con las dietas con trucha cruda, al igual que los resultados obtenidos por Pérez-Granados y col, 2003 en pescados grasos sometidos a fritura en baño de aceite. Este hecho no se puede extrapolar al procesado sous vide, ya que tal y como se ha comentado anteriormente, sí se ha observado un mayor aprovechamiento del mineral.

▪ **BALANCE DE ZINC**

La cantidad de Zn que el salmón aporta a la dieta no sobrepasa el 3,2 % por lo que una vez más, este estudio debe enfocarse esencialmente como un análisis de la influencia

del consumo de trucha bajo distintos procesos y condiciones de almacenamiento sobre la utilización del zinc de la dieta.

Los parámetros reflejan que tanto la utilización digestiva (%A/I) como la metabólica (%R/A) y por lo tanto la utilización nutritiva o biodisponibilidad (%R/I) del zinc en la dieta de la trucha cruda con respecto a dieta control (proteína láctica) son semejantes. (Tabla N.67.). Por otro lado, **ni el procesado tradicional, ni el procesado sous vide parecen ejercer ningún efecto con respecto a la trucha cruda o a la dieta control en los parámetros evaluados**, al contrario de lo descrito por otros autores para sardina procesada con distintas técnicas culinarias (Pérez-Granados *et al.*, 1997).

Con respecto al efecto del almacenamiento de la trucha procesa sous vide tampoco se ha observado efecto alguno, ni en la utilización digestiva ni en la biodisponibilidad de este mineral hasta los 21 días de almacenamiento a 2° C, disminuyendo por el contrario ambos parámetros de forma significativa ($p < 0,05$) a los 45 días de almacenamiento. Adicionalmente comentar que tampoco se aprecian diferencias significativas entre el almacenamiento a 2° o a 10° C.

Finalmente, en relación con la cantidad de zinc presente en los reservorios estudiados (hígado y bazo) comentar que no se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los animales que consumieron pescado cocinado (ya sea por el método tradicional o procesado sous vide) con respecto a los que consumieron la dieta control (caseína-Metionina), tanto por órgano entero como por gramo de órgano. Sin embargo si se observan diferencias entre los animales que consumieron trucha cruda con respecto a la dieta control. (Tablas N.68. y N.69.)

■ **BALANCE DE FÓSFORO**

Según los resultados obtenidos, la trucha proporciona mayoritariamente entre un 6-8 % del contenido dietético de fósforo, por lo que este estudio nos sirve para informar preferentemente sobre la influencia de la proteína y grasa del pescado en relación con la utilización nutritiva del elemento, a la vez que indica cómo se utiliza el fósforo de esta pescado.

Los animales que tomaron como fuente proteica y lipídica trucha cruda presentaron una eliminación urinaria significativamente menor que los que tomaron la dieta láctea, sin embargo, como consecuencia de una mayor eliminación fecal y una mayor ingesta hace que presenten índices biológicos similares (Tablas N.64.). No obstante, cuando la trucha es procesada, ya sea por el método tradicional o por la tecnología sous vide, se observa una

mayor eliminación urinaria del fósforo que la mostrada por la trucha cruda, que junto a una mayor ingesta y una menor eliminación fecal hace que presenten mayores índices de utilización digestiva y metabólica y similares a los mostrados por la dieta patrón (caseína-metionina). Parece por tanto, que el posible efecto negativo de la proteína y/o grasa de la trucha cruda desapareció por efecto del tratamiento térmico, al menos en lo que se refiere a la utilización del fósforo.

El almacenamiento a 10° C de la trucha procesada sous vide con respecto a la almacenada a 2° C no afecta la biodisponibilidad del fósforo. Así, las ingestas y las excreciones fecales y urinarias fueron muy similares en todas las ratas y, por ello, también muy próximas las absorciones y retenciones, y los coeficientes que cuantifican su eficacia. Del mismo modo, **el estudio del tiempo de almacenamiento no ha revelado diferencias significativas a lo largo del tiempo evaluado (45 días)**, únicamente se observan unos valores de absorción y retención menores a lo largo del tiempo de almacenamiento; diferencias que, aunque estadísticamente no son significativas ($p < 0,05$), si marcan una tendencia. No hay que olvidar, que el descenso en la retención de fósforo se justifica mayoritariamente bien por una depresión de su destino común con el calcio en la constitución del hueso ó bien en función de un deterioro de la fracción ligada a lípidos y proteínas musculares. Por otra parte, también fue observada una menor eficacia digestiva y metabólica del calcio en la misma dieta de ahí que en nuestro caso esa ligera menor biodisponibilidad del fósforo podría estar relacionada con la menor utilización nutritiva del calcio, el menor valor biológico de la proteína ó un efecto conjunto de ambos.

▪ **BALANCE DE MAGNESIO**

Al comparar los balances obtenidos por los animales que ingirieron la dieta que incluía pescado (tanto trucha cruda como trucha procesada por el método tradicional o sous vide) con los balances de los animales que ingirieron la dieta control (caseína-Metionina) se observa una mayor eliminación fecal y urinaria de magnesio ocasionado sin duda por una mayor ingesta, lo que hace que no haya diferencias significativas en ninguno de los tres índices estudiados (utilización digestiva, utilización metabólica y utilización nutritiva o biodisponibilidad) (tabla N.63.).

Solo en el caso de los balances de los animales que consumieron dietas que incluían trucha procesada sous vide con 45 días de almacenamiento a 2° C se aprecia una menor utilización digestiva y biodisponibilidad del magnesio que el resto de grupos estudiados, resultado para el cual por el momento no tenemos explicación.

■ **BALANCE DE CALCIO**

El análisis de los resultados obtenidos pone de manifiesto que, los animales alimentados con dietas donde la proteína es aportada por trucha procesada (ya sea por el método tradicional o por la tecnología sous vide) y la grasa procede del aceite de oliva y de la propia trucha, presentan similar utilización a nivel digestivo y metabólico del calcio que los animales alimentados con dietas donde la proteína dietética aportada a la dieta es caseína-metionina y la grasa aceite de oliva, observándose además en estos tres casos índices superiores a los obtenidos por las ratas alimentadas por trucha cruda (Tabla N.62), motivado por una menor absorción de calcio.

Es necesario tener en cuenta que fundamentalmente me estoy refiriendo al calcio dietético exógeno aportado por el corrector mineral (CO_3Ca y PO_4HCa) y no procedente de la trucha, porque dado el bajo contenido cálcico de esta especie, su aporte a la cuantía total en la dieta es muy escaso (0.4- 0,5 % según dieta).

Si partimos de la demostrada modulación cantidad-calidad proteica y lipídica sobre la digestibilidad y metabolización del calcio descrita por autores como Johnson et al., 1970; Walker & Linkswiller, 1972; Anand & Linkswiller, 1974 o Bell et al., 1975, así como las idóneas características de la proteína láctea que estudios (Costa & Motta, 1963) señalan como una de las más favorecedoras sobre dichos procesos, es posible deducir a partir de los resultados obtenidos, que la proteína de la trucha es capaz de ejercer esa influencia igualmente beneficiosa, característica que se mantiene cuando el pescado se somete a un cocinado tradicional ó bajo vacío.

No obstante, cuando se incluye en la dieta de los animales trucha procesada por la tecnología sous vide y almacenada por espacio de 45 días se observa una menor absorción y retención del elemento (hecho que no se hace patente a los 21 días de almacenamiento), lo que da lugar a menores índices de utilización metabólica, digestiva y nutritiva que mostrados por los animales que ingieren la dieta patrón; diferencias que incluso llegan a ser significativas ($p < 0,05$) en el caso de los dos últimos índices comentados -utilización digestiva y utilización nutritiva o biodisponibilidad del calcio-, los cuales descienden hasta en un 14 y 19% respectivamente .

Los animales que se alimentaron a partir de dietas con trucha procesada sous vide almacenada a 10°C (TvO_3 10°C) presentaron una mayor eliminación fecal y urinaria del mineral estudiado que los animales que se alimentaron a partir de dietas con trucha procesada sous vide almacenada a 2°C (TvO_3 2°C), pero dado que también registraron una ingesta significativamente mayor ($p < 0,05$), las cantidades totales absorbidas y retenidas fueron muy similares, lo que implica que la eficacia digestiva, metabólica ó nutritiva global

sea ligeramente menor, aunque sin llegar a ser diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En cualquier caso, parece que el tiempo y (en menor medida) la temperatura de almacenamiento ejercen una influencia negativa en la biodisponibilidad del calcio posiblemente debido a las mermas observadas en el valor biológico de la proteína con el tiempo de almacenamiento y a las posibles modificaciones en la grasa poliinsaturada del pescado, con una disminución en la alta relación poliinsaturados/saturados que algunos autores como Kies, 1988 o Pérez-Granados *et al.*, 2003 señalan como favorecedora de la absorción de calcio.

V.II.4.- UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE LA TRUCHA. INFLUENCIA DEL CONSUMO DE TRUCHA CRUDA, COCINADA DE MODO TRADICIONAL O SOUS VIDE ALMACENADA A 2º Y 10º C DURANTE 3, 21 Y 45 DÍAS

La alta calidad de la proteína de la trucha hace que cuando ésta, ya sea en estado crudo ó cocinada en las distintas modalidades a ensayar, se introduce como fuente proteica de la dieta de los animales, sus ingestas se mantienen al mismo nivel que las de los animales alimentados con la dieta patrón (caseína + DL-Metionina) (tabla N.60), permitiéndoles desarrollar una evolución ponderal similar y alcanzar al final de los ensayos pesos semejantes.

Por todo ello puede decirse que en general los animales han utilizado las dietas del pescado con una eficiencia similar a la dieta patrón. La excepción está marcada por la trucha cruda, que presenta valores de **eficacia alimentaria (EA)** significativamente mayores ($p < 0,05$) que la dieta patrón, aunque similares a los mostrados por la trucha procesada por el método tradicional o sous vide (tabla N.60), no modificándose por lo tanto ni por el tratamiento elegido ni por las condiciones de tiempo y temperatura de almacenamiento, tal y como en general se ha observado en otros pescados (Varela y col, 1963; Sidwell y Ambrose, 1975; Udarbe y col, 1985).

■ VALOR NUTRITIVO DE LA PROTEÍNA

Los ensayos biológicos de balance de nitrógeno ponen de manifiesto los **buenos índices biológicos de calidad proteica de la trucha**, en consonancia con lo observado por otros autores para otros pescados (El Rawi & Geiger, 1952; Geiger *et al.*, 1958; Asiedu *et al.*, 1994; Lilabati & Vishwanath, 1996). Así por ejemplo, los animales que ingieren dietas a partir de trucha cruda presentan, con respecto a la dieta patrón (caseína + DL-Metionina), un mayor valor biológico aparente -VBA- y utilización neta de la proteína -UNPA-, manteniéndose similar el coeficiente de digestibilidad aparente -CDA-.

Por otro lado, al comparar los índices estudiados (CDA, VBA, UNPA) de los animales que ingieren dietas elaboradas con trucha procesada (ya sea por el método tradicional o por la tecnología sous vide) con los índices registrados por animales de la

dieta patrón (caseína + DL-Metionina), se observa en general valores parecidos como consecuencia de haberse mantenido muy similares los niveles de ingestas y excreciones fecal y urinaria de nitrógeno. En este sentido, debe tenerse en cuenta que, unido a la diferente fuente proteica en la dieta (trucha-caseína) también es diferente la calidad lipídica (grasa de trucha -aceite de oliva), ya que la cantidad de pescado que se precisó para ajustar al 10% la proteína dietética (en % sustancia seca), aporta subsidiariamente el 8% de grasa de la misma, observándose que en contra de lo observado por otros autores (Awad *et al.*, 1990; Shimomura *et al.*, 1990; Hill *et al.*, 1993) ni el diferente perfil aminoacídico de la proteína dietética ni la diferente calidad de la grasa (grasa poliinsaturada-grasa monoinsaturada) influyó en la eficacia digestiva ni metabólica de la proteína dietética. Concluyendo que según los resultados obtenidos, **ni el proceso de cocinado tradicional, ni el cocinado bajo vacío modifica la utilización digestiva ni metabólica de la proteína de este pescado, así la cantidad total de N absorbido y N retenido fue similar en ambos casos y similar al patrón lácteo.**

Debe considerarse, que aunque a primera vista parezca que estos resultados contradicen la creencia generalizada de que el calentamiento a temperatura elevada ejerce efectos negativos sobre el valor nutritivo de la proteína alimentaria, hay que señalar que esos datos se refieren muchas veces a temperaturas más elevadas que las empleadas en este estudio (Ellinger & Boyne, 1965; Aitken & Connell, 1979) ó en condiciones más drásticas (Rice & Benk, 1953; Donoso *et al.*, 1962) considerando que los efectos negativos en los índices biológicos solo se visualizan con el empleo de espacios de tiempo más largos. En vista de los resultados obtenidos, las condiciones del cocinado tradicional “a la plancha” en aceite de oliva, (aproximadamente 180°C/ 1,5 minutos por cada cara), y del cocinado sous vide (mantenimiento a 90° C / 15 minutos), no fueron suficientemente agresivos para alterar el valor nutritivo de la proteína de trucha (utilizada como única fuente proteica de la dieta) y los coeficientes de digestibilidad (CDA), valor biológico (VB) y utilización neta de la proteína (UNPA) no se modifican por los procesos estudiados.

En cuanto al efecto del tiempo del almacenamiento a 2° C del pescado cocinado bajo vacío refleja una **estabilidad en la calidad proteica hasta los 21 días**, sin embargo durante el último periodo del estudio (21-45 días) los resultados muestran un descenso en los tres índices estudiados, llegando a ser significativo ($p < 0,05$) en el caso del coeficiente de digestibilidad aparente -CDA- (tabla N.60). No obstante, debe quedar claro que se habla de un deterioro todavía muy escaso y que la trucha sous vide almacenada a 2° C durante 45 días sigue teniendo unos índices biológicos dentro

del rango habitual, incluso por encima de la media de otros pescados procesados ó enlatados.

Por su parte, el estudio del almacenamiento a 10° C durante tres días no revela claras modificaciones respecto a la misma muestra almacenada a 2° C corroborando una vez más que **es el tiempo de almacenamiento, más que la temperatura, uno de los principales condicionantes en la estabilidad de la calidad proteica.**

V.III.- ESTUDIO DE LA CALIDAD SENSORIAL.

Uno de los principales motores que impulsaron en sus orígenes el desarrollo y expansión de la tecnología *sous-vide* fue la **alta calidad sensorial** de los alimentos así procesados, en comparación con otras nuevas tecnologías como el *cook-freeze*, *cook-chill*, etc., o incluso con los métodos tradicionales de cocinado. En este sentido, se elaboraron los **perfiles descriptivos** de los principales atributos (**apariencia, olor, sabor, rancidez y textura**) que inciden en la **calidad global de las muestras de trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) recién procesadas con aceite de oliva recién mediante la tecnología sous vide (muestras TvO) y tras tres días de almacenamiento a 2° C, (muestras TvO₃ 2°),** momento a partir del cual este tipo de productos sale al mercado para su consumo.

En relación con la **apariencia**, las puntuaciones medias dadas por los panelistas fueron altas para ambas muestras ($5,40 \pm 0,52$ vs $5,80 \pm 0,42$, para las muestras TvO y TvO₃ 2° C respectivamente), no apreciándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ellas, aunque la puntuación fue ligeramente superior en las muestras almacenadas tres días a 2° C. **Ninguno de los 10 panelistas calificó este atributo con una valor inferior a 4, calificación por debajo de la cual el producto puede ser considerado inaceptable.**

Hay que hacer referencia que las muestras de trucha casi no presentaban precipitados proteicos de color blanco en la superficie del producto. Éstos precipitados proteicos si fueron encontrados por otros autores para otros pescados procesados *sous-vide*, como el salmón (Bergslien, 1996). Según distintos autores (Prosser, 1973; Bergslien, 1996) este precipitado proteico afecta de forma negativa a la apariencia general del alimento procesado mediante esta tecnología, y recomiendan un pretratamiento del mismo con una solución de Na₂CO₃ al 5%, con el fin de evitar o al menos reducir su aparición.

En cuanto al **olor**, sí se encontraron diferencias significativas entre las dos muestras estudiadas. Así, las muestras de trucha recién procesadas (muestras TvO) fueron mejor valoradas que las almacenadas tres días a refrigeración (muestras TvO₃ 2° C) presentando valores medios de $5,80 \pm 0,79$ vs $4,80 \pm 0,42$, respectivamente. Pero en ambos casos la valoración global de este atributo por parte de los panelistas fue bastante aceptable. La no detección de malos olores por parte de los panelistas concuerdan con los resultados encontrados por Picoche (1991) quien llegó a la conclusión que tanto en pescados magros como grasos los procesos enzimáticos responsables de la aparición de esos malos olores eran eliminados cuando la temperatura en el centro del pescado alcanzaba al menos los 85° C, como es nuestro caso.

Si nos referimos al **sabor**, los panelistas valoraron favorablemente ambas muestras con valores medios de $4,80 \pm 0,42$ vs $5,20 \pm 0,63$ para las muestras TvO y TvO₃ 2° C, respectivamente. Valores similares fueron obtenidos por Choain & Noel (1989) quienes encontraron que la trucha rellena de pepino procesada sous-vide presentaba un aroma y sabor muy intenso y adecuado, que incluso fueron superiores a los aromas y sabores que presentaba el mismo alimento procesado de modo tradicional. La potenciación de los sabores característicos de cada alimento que parece ser provoca la tecnología sous-vide ya lo había puesto de manifiesto G. Pralus (1980) en las etapas iniciales del desarrollo de esta tecnología. Además, no se encontraron diferencias significativas entre ambas muestras, a pesar de que fue mejor la valoración de las muestras TvO₃ 2° C, lo que indica que **tras esos tres días de almacenamiento no solo no aparecieron sabores anormales, sino que se potenciaron ligeramente los propios de este alimento.**

En este mismo sentido hay que hacer referencia que los panelistas apenas detectaron **rancidez** en las muestras evaluadas, a pesar de que las ambas presentaban contenidos relativamente altos de grasa ($8,19 \pm 0,05$ vs $6,63 \pm 0,18$ g/100 g alimentos fresco, para las muestras TvO y TvO₃ 2° C, respectivamente). Posiblemente el bajo enranciamiento del pescado pueda ser debido a que los filetes de trucha sufrieron un “marcado” previo al envasado a vacío. El **marcado** es el resultado de la reacción de Maillard en la superficie del pescado, y está descrito en la bibliografía, que durante esta reacción se producen productos con propiedades antioxidantes que pueden prevenir la formación de “olores/sabores a recalentado” (*Warmed Over Flavour* - WOF-). Además, la casi total eliminación del oxígeno dentro del envase y el almacenamiento a bajas temperaturas (2° C) tuvieron sin duda un

efecto ralentizador de las reacciones de oxidación, además de retardar el crecimiento microbiano responsable también del enranciamiento del producto.

En relación con la **textura** se aprecian valores medios relativamente bajos en ambos tipos de muestras, no apreciándose diferencias significativas entre ellas. En el caso de las muestras de trucha procesadas sous-vide almacenadas durante tres días a 2° C se observa un valor medio de $3,80 \pm 0,92$. Esta puntuación califica a estas muestras como inaceptables desde el punto de vistas de la textura, ya que según los panelistas ésta sería demasiado blanda.

Prueba discriminatoria (Test triangular):

Las pruebas diferenciales, entre las que se encuentra las “*pruebas o test triangulares*”, son las apropiadas para determinar si un plato cocinado mediante la tecnología sous vide puede ser distinguido del mismo cocinado de forma tradicional. Lo que no nos permite conocer esta herramienta es en qué se diferencian ó la magnitud de esas diferencias (Creed, 1995).

Así, en este caso concreto, la utilización de este tests para determinar si existen o no diferencias perceptibles por los sentidos entre la trucha arco-iris procesado sous vide con aceite de oliva o de forma tradicional dio como resultado que en ambas comparativas realizadas (**TvO vs TtO** y **TvO₃ vs TtO₃**) podemos concluir que **los dos platos son significativamente diferentes**, en el primer caso con una probabilidad del 99%, mientras que en el segundo la probabilidad fue del 99,9% (Roessler y col, 1978).

Estos resultados concuerdan con otros estudios anteriores en los cuales también se comparaba la versión tradicional y sous vide de un mismo plato cocinado a base de pescado. Así, Choain y Noel (1989) comparando la calidad sensorial un plato a bases de trucha rellena de pepino y sopa de pescado encontraron que la versión sous vide poseía más aroma y un sabor más pronunciado que la cocinada con un método tradicional. De igual forma Church, en 1990 comprobó que un elevado porcentaje de catadores eran capaces de distinguir platos cocinados de forma tradicional de aquellos que habían sido cocinados con la tecnología sous vide. Las diferencias entre ambos fueron posteriormente confirmadas utilizando técnicas descriptivas de análisis sensorial, aunque en este estudio no se llegó a establecer si esas diferencias eran estadísticamente significativas ó no.

Estas diferencias sensoriales entre alimentos elaborados de forma tradicional y procesados mediante la tecnología sous vide también ha sido puesta de manifiesto para otros alimentos: Light *et al.* (1988), Schafheitle & Light (1989), Church (1990) Goto *et al.* (1995) o Church & Parsons (2000) para platos preparados con pollo; Choain & Noel (1989) o Bertelsen & Juncher (1996) para platos a base de carne de vacuno; Leford *et al.* (1993) para varios productos cárnicos del cerdo; Choain & Noel (1989), Petersen (1993) o Goto *et al.* (1995) para platos a base de frutas y verduras, entre otros.

VI. CONCLUSIONES

VI.1.- CONCLUSIONES CALIDAD HIGIÉNICO-SANITARIA

1. Tanto la intensidad del tratamiento térmico como la temperatura y el tiempo de almacenamiento son aspectos claves para determinar la seguridad de la trucha procesada sous vide.
2. El procesado de trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante la tecnología sous vide sometida a un tratamiento térmico de 70° C/10 minutos y posterior almacenamiento a temperaturas anormales (10° C) pone en serias dudas la calidad microbiológica de este plato.
3. Desde el punto de vista higiénico-sanitario, el procesado de la trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) mediante la tecnología sous vide sometida a un tratamiento térmico de 90° C/15 minutos y posterior almacenamiento a 2°C da lugar a un alimento microbiológicamente seguro hasta al menos 4 semanas de almacenamiento.
4. Tanto el pH como la actividad de agua se mantuvieron constantes a lo largo de los 45 días de almacenamiento, independientemente del tratamiento térmico aplicado (90° C/15 minutos, 90° C/5 minutos y 70° C/10 minutos) y de la temperatura de almacenamiento (2° C y 10° C).

VI.2.- CONCLUSIONES CALIDAD SENSORIAL

5. Desde el punto de vista de la calidad sensorial, el almacenamiento a 2°C durante tres días de la trucha procesada sous vide en aceite de oliva se diferencia de las muestras recién procesadas en una menor valoración sensorial del olor de las muestras, no habiéndose apreciado diferencias en cuanto a la valoración sensorial de la apariencia, sabor, grado de rancidez y textura.
6. Un plato a base de trucha procesada sous vide con aceite de oliva, tanto recién preparado como almacenado 3 días a refrigeración, es en ambos casos, desde un punto de vista sensorial, totalmente diferente y distinguible del mismo plato cocinado de forma tradicional con el mismo aceite.

VI.3.- CONCLUSIONES CALIDAD NUTRICIONAL

VI.3.1- Comparativa: procesado sous-vide vs cocinado tradicional

7. La trucha arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) procesada con aceite de oliva mediante la tecnología sous vide es diferente del procesado de forma tradicional a la plancha con ese mismo aceite.
8. Los resultados apuntan a un distinto comportamiento en la grasa por el tratamiento sous vide con respecto al tradicional, cuando en ambos casos no se añadió ningún tipo de aceite. Cuando la trucha se cocina en su jugo (sin aceite) por el método tradicional su contenido graso desciende con respecto al pescado crudo, mientras que en caso del pescado procesado sous vide sin aceite, el contenido en grasa aumenta.
9. En el procesado sous vide de la trucha se sigue produciendo un intercambio lipídico con el aceite añadido (oliva o girasol) en el mercado de la misma, lo que en la práctica se traduce tanto en un aumento de la cifra lipídica total del alimento con respecto a la originaria de este pescado.
10. Tanto en el procesado sous vide como en cocinado tradicional se ha observado un intercambio de los ácidos grasos mayoritarios entre el pescado y el aceite de procesado (oliva o girasol), aunque éste se produce con menor intensidad en el procesado sous vide, previsiblemente debido a que se alcanzaron menores temperaturas que las alcanzadas en el cocinado tradicional. Por lo tanto, el procesado sous vide con marcado previo con aceite de oliva o girasol introduce modificaciones positivas en el perfil lipídico de la trucha, al aumentar en ambos casos el contenido en AGM (fundamentalmente en oleico) y reducirse el contenido en AGS, lo que lo convierte en un alimento mucho más equilibrado desde este punto de vista.
11. Tanto el cocinado tradicional como el procesado sous vide de la trucha mantienen la excelente calidad proteica de este pescado, tanto a nivel metabólico como digestivo.
12. Al contrario de lo que cabría esperar, el procesado sous vide, independientemente de si éste se realiza sin o con aceite (oliva o girasol),

implica en el producto final un menor contenido en cenizas que el mismo plato procesado por el método tradicional a igualdad del resto de variables.

VI.3.2- Estudio de almacenamiento del procesado sous-vide

- 13.** La evolución en el contenido en sales minerales a lo largo del almacenamiento en las muestras procesadas sous-vide marcadas previamente con aceite es diferente en función del tipo de aceite utilizado (oliva o girasol) independientemente de la temperatura de almacenamiento. Así, mientras en las procesadas con aceite de oliva se observa un aumento en el contenido en sales minerales, en las procesadas con aceite de girasol se ha observado el comportamiento inverso.
- 14.** El almacenamiento de la trucha procesada sous vide en todas las modalidades estudiadas (tiempo, temperatura, cocinado con ó sin aceite – oliva o girasol-) produce modificaciones importantes en el perfil lipídico, fundamentadas por un descenso paulatino en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados w-3 como el eicosapentanoico (EPA) (C20:5) y el clupanodónico (C22:5) como consecuencia de la facilidad a la oxidación que caracteriza a los mismos por su alto número de dobles enlaces que presentan. Sin embargo destaca la estabilidad mostrada a lo largo del almacenamiento por el ácido graso mayoritario C22:6 (DHA, docosahexanoico), sobre todo en las muestras procesadas en su jugo (sin aceite) y con aceite de oliva.
- 15.** El efecto del tiempo de almacenamiento a 2° C o 10° C del pescado cocinado sous vide refleja una estabilidad en la calidad proteica en ambos casos hasta los 21 días de almacenamiento (tiempo habitual de consumo para este alimento y esta tecnología), no mejorando los valores mostrados por la trucha cocinada por el método tradicional y alcanzando cifras similares a las del pescado crudo de referencia. Y es a partir de los 21 días cuando se empieza a observar un leve deterioro de los tres índices estudiados (CDA, VBA, UNPA), corroborando que es el tiempo de almacenamiento, más que la temperatura, uno de los principales condicionantes en la estabilidad de la calidad proteica.

- 16.** El procesado sous vide con aceite de oliva de la trucha supone una mayor biodisponibilidad tanto de hierro, como de cobre que el cocinado tradicional con ese mismo aceite. Biodisponibilidad, que se ve afectada negativamente tanto por el tiempo como por la temperatura de almacenamiento.
- 17.** Ni el cocinado tradicional ni el procesado sous vide parecen afectar a la biodisponibilidad del zinc con respecto a la trucha cruda o a la dieta control en los parámetros evaluados. Tampoco durante las primeras tres semanas de almacenamiento (independientemente de la temperatura de almacenamiento 2° o 10° C) parece afectar a la biodisponibilidad de este mineral.
- 18.** El tiempo de almacenamiento y en menor medida la temperatura de almacenamiento ejercen una influencia negativa en la biodisponibilidad del calcio posiblemente debido a las mermas observadas en el valor biológico de la proteína con el tiempo de almacenamiento y las posibles modificaciones en la grasa poliinsaturada del pescado.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Ackman, R.G. & Cormier, M.G. (1967). *Alpha-tocopherol in some live holding without food*. Journal of the fisheries research board of Canada. 24 (2):357-373.
2. A.C.M.S.F. (1992). *Report of vacuum packaging ad associated processes*. Advisory Committee on the Microbiological Safety of Foods. HMSO. London.
3. Ackman, R.G. (1995). *Composición y valor nutritivo de los lípidos del pescado*. En El pescado y productos derivados de la pesca. Ruitter, A. (Ed.). Editorial Acibia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 123-164.
4. Agriculture Canada. (1991). *The Canadian Code of recommended Manufacturing Practices for Pasteurized/Modified Atmosphere Packaged/refrigerated Foods*". Agricultural Food Safety Division, Agriculture, Ottawa, Canada.
5. Álvarez-Pontes, M.E., Viejo, J.M., Sánchez-Muniz, F.J. y Castrillón, A.M. (1994). *Fritura de filetes de sardinas congeladas en aceite de oliva. Influencia de diferentes métodos de descongelación sobre el contenido graso y la composición en ácidos grasos*. Grasas y Aceites, 45(3): 119-125.
6. Álvarez-Pontes, M.E. (1994) *Efecto de las interacciones congelado-descongelado-cocinado y cocinado-congelado-recalentado sobre la composición en nutrientes y la calidad proteica y grasa de filetes de sardina*. Ph.D. dissertation, Universidad Complutense de Madrid Facultad de Farmacia.
7. Anand, C.R. y Linkswiller, H. (1974) *Effect of protein intake on calcium balance of young men given 500 mg calcium daily*. Journal of Nutrition, 104: 695-700.
8. Aitken, A. y Connell, J.L. (1979) *Effects of heating on foodstuffs*. Priestley, R.J. (ed) Applied Science Publishers, London, pp. 219-254.
9. A.O.A.C. (1985) *Salmonella detection in foods. Hydrophobic grid membrane filter method. First action*. En: Official methods of analysis, 14^a ed., First Supplement sec. 46. A06-46. A11. AOAC, Arlington, VA.
10. A.O.A.C. (1993). Horwitz, W. (Ed.), *Methods of Analysis for Nutrition Labeling*. En D.M. Sullivan and D.E. Carpenter (eds.) Virginia, USA.
11. A.O.A.C. (1995). Horwitz, W. (Ed.), *Official Methods of Analysis, 16th Edition*. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC.

12. A.O.A.C. (1998). Horwitz, W. (Ed.), *Official Methods of Analysis*, 16th Edition, rev 1998. Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC.
13. Aquerreta, Y. (2000). *Pescados*. En *Alimentos: composición y propiedades*. Astiasarán, J. & Martínez A.J. (Eds). McGraw-Hill Interamericana. pp. 29-52. ISBN: 84-486-0305-2.
14. Aspe, T. (1992). *Influencia del tratamiento térmico de la proteína dietética sobre la biodisponibilidad de algunos minerales*. Universidad Complutense. Madrid. pp 284.
15. Asiedu, M., Lied, E. y Nilsen, R. (1994) *Protein utilization and in-vitro synthesis in young rats given gruels of sprouted white maize supplemented with graded amounts of dried fish*. *Food Chemistry*, 49: 299-303.
16. Awad, A.B., Bemardis, L.L. y Fink, C.S. (1990) Failure to demonstrate an effect of dietary fatty acid composition on body weight, body composition and parameters of lipid metabolism in mature rats. *Journal of Nutrition*, 120: 1277-1282.
17. Barrado, E.; Jimenez, F.; Prieto, F. & Nuevo, C. (2003). *The use of fatty acid profiles of the lipids of the rainbow trout (O. mykiss) to differentiate tissue and dietary feed*. *Food Chemistry*. 81:13-20.
18. Belitz, H.D. & Grosch, W. (1997). *Química de los alimentos*. Editorial Acirbia. Zaragoza.
19. Bell, J.G., McEvoy, J., Tocher, D.R., McGhee, F., Campbell, P.J. y Sargent, J.R. (2001) *Replacement of fish oil with rapeseed oil in diets of Atlantic Salmon (Salmo salar) affects tissue lipid compositions and hepatocyte fatty acid metabolism*. *Journal of Nutrition*, 131: 1535-1543.
20. Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R., Mc Ghee, F., Dick, J.R., Porter, A., Smullen, R.P. y Sargent, J.R. (2002) *Substituting fish oil with crude palm oil in the diet of Atlantic salmon (Salmo salar) affects muscle fatty acid composition and hepatic fatty acid metabolism*. *Journal of Nutrition*, 132(2): 222-230.
21. Bell, J.G., McEvoy, J., Webster, J.L., McGhee, F., Millar, R.M. y Sargent, J.R. (1998) *Flesh lipid and carotenoid composition of Scottish farmed Atlantic salmon (Salmo salar)*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 119-127.

22. Bell, R.R., Engelmann, D.T., Sie, T. y Draper, H.H. (1975) *Effect of a high protein intake on calcium metabolism in the rat*. *Journal of Nutrition*, 105: 475-483.
23. Beltersen, G. & Juncher, D. (1996). *Oxidative stability and sensory quality of sous-vide cooked products*. Proceeding of Second European Symposium on *Sous-vide*. 10-12 April 1996. ALMA University Restaurants/FAIR. University of Leuven. Belgium. pp.133-135.
24. Betts, G.D. (1992). *The microbiological safety of sous-vide processing*. Campden Food and Drink research association, Technical Manual nº 39, Chipping Campden, Gloucestershire, U.K.
25. Betts, G.D. (1995). *Critical factor affecting the safety of minimally processed chilled foods*. En *Sous-vide and cook-chill processing for the food industry*. S. Ghazala. Aspen Publishers, Inc. ISBN: 0-7514-0433-0.
26. Bligh, E.G. y Dyer, W.J. (1959) *A rapid method of total lipid extraction and purification*. *Canadian Journal of medical Science*. 37: 911-917.
27. Board, R.G (1995). *Natural antimicrobials from animals*. New methods of food preservation. Ed. Gould, G.W., Chapman & Hall, London, UK, pp.40-57.
28. Bremer, P.J: & Osborne, C.M. (1995). *Thermal death times of Listeria monocytogenes in green shell mussel prepared for not smoking*. *Journal of Food Protection*. 58(6):604-608.
29. Brown, G.D. & Gaze, J.G. (1990). *Determination of the growth potential of Clostridium botulinum Types E and non-proteolytic B in sous-vide products at low temperatures*. Technical Memorandum nº. 593. Campden & Chorleywood Food Research Association, Chipping Campden, Glos., UK.
30. Brown, G.D.; Gaze, J.G. & Gaskell, E.D. (1991). *Grown of Clostridium botulinum non-proteolytic Type E and Type B in sous-vide products stored at 2-15° C*. Technical Memorandum nº. 635. Chipping Campden: Campden Food end Drink Research Association, Glos., UK.
31. Buncic, S.; Voijnovic, K., Paunovic, L.J. & Radisic, K. (1992). *The effects of fat and moisture on thermal destruction of Listeria monocytogenes in minced meat*. En: *Listeria 1992: The 11th International Symposium on Problems of Listeriosis (ISO POL XI)*, Copenhagen, Abstract 144, pp. 282–283.
32. Cabrera, L.; Moreiras, Olga (et al.). (2007). *Tablas de composición de alimentos*. Ediciones Pirámide. ISBN: 8436821335.

33. Candela, M.; Astiasarán, I. & Bello, J. (1997). *Effects of frying and warmholding on fatty acids and cholesterol of sole (Solea solea), codfish (Gadus morrhua) and hake (Merluccius merluccius)*. Food Chemistry, 58(3): 227-231.
34. Candela, M., Astiasarán, I. y Bello, J. (1998) Deep-fat frying modifies high-fat fish lipid fraction. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46: 2793-2796.
35. Cann, D.C.; Taylor, L.V & Hobbs, G. (1975). *The incidence of Clostridium botulinum in farm raised trout raised in Great Britain*. Journal of Applied Bacteriology. 39:331-336.
36. Carlin, F. & Peck, M.W. (1995). *Growth and toxin production by non-proteolytic and proteolytic Clostridium botulinum cooked vegetables*. Letters in applied Microbiology. 20:152-156.
37. Carlin, F.; Guinebretiere, M.H.; Choma, C.; Schmitt, P. & Nguyen, C. (1999). *A F.A.I.R. collaborative programme: research on factors allowing a risk assessment of spore-forming pathogenic bacteria in cooked chilled foods containing vegetables*. En: Third European Symposium on Sous-vide Proceedings. Leuven, Belgium, pp. 53–70.
38. Castrillón, A.M., Navarro, P. y Álvarez-Pontes, E. (1997). *Changes in chemical composition and nutritional quality of fried sardine (Clupea pilchardus) produced by frozen storage and microwave reheating*. Journal of Science of Food and Agriculture, 75: 125–132.
39. Caygill, C.P. & Hill, M.J. (1995). *Fish w-3 fatty acids and human colorectal and breast cancer mortality*. European Journal of cancer Prevention. 4:329-332.
40. C.E.E. (1976). *Council Regulation N° 103/76 freshness ratings*. The Official Journal of the European Communities N° L120.
41. Chaiyapechara, S.; Liu, K.K.M.; Barrows, F.T.; Hardy, R.W. & Dong, F.M. (2001). *Sensory characteristics, proximate composition, and lipid oxidation of fillets from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fed 15% or 30% lipids diets*. Abstract 73F-23 Seafood technology. The Institute of Food Technology (IFT) Annual Meeting. New Orleans, Louisiana. USA.
42. Chattopadhyay, P. (2000). *Microbiology of fish*. En "Encyclopaedia of Food Microbiology". Edited by Robinson R.K.; Batt, C.A. & Patel, P.D. Academic Press. San Diego. ISBN 0-12-227070-3.

43. Chavez-Lopez, C.; Gianotti, A.; Torriani, S. & Guerzoni, M.E. (1997). *Evaluation of the safety and prediction of the shelf life of vacuum cooked foods*. Italian Journal of Food Science. 9:99-110.
44. Chilled Food Association, (2005). Available from: http://www.chilledfood.org/Content/Market_Data.asp.
45. Church, I.J. & Parsons, A.L. (1993). *Review: sous-vide cook-chill technology*. International Journal of Food Science and Technology. 28:563-574.
46. Church, I.J. & Parsons, A.L. (2000). *The sensory quality of chicken and potato products prepared using cook-chill and sous-vide methods*. International Journal of Food Science and Technology. 35:155-162.
47. Chytiri, S.; Chouliara, I.; Savvaidis, I.N. & Kontominas, M.G. (2004). *Microbiological, chemical and sensory assessment of iced whole and filleted aquacultured rainbow trout*. Food Microbiology. 21: 157–165.
48. Cockey, R.R. & Tatro, M.C. (1974). *Survival studies with spores of Clostridium botulinum type E in pasteurised meat of the blue crab Callinectes sapidus*. Journal of Applied Microbiology. 27:629-633.
49. Conner, D.E.; Scott, C.M. & Bernard, D.T. (1989). *Potential Clostridium botulinum hazards associated with extended shelf-life refrigerated foods: A review*. Journal of Food Safety. 10:151-153.
50. Costa, D. y Motta, S. (1963) *Minerals*. En: Albanese (ed), *Newer methods of nutritional biochemistry*, Academic Press, London.
51. Costell, E. & L. Duran, (1981). *El análisis sensorial en el control de calidad de los alimentos. I. Introducción*. Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos. 21(1):1-10.
52. Crandall A.D.; Winkowski, K. & Montville, T.J.: (1994). *Inability of Pediococcus pentosaeus to inhibit Clostridium botulinum in sous-vide beef with gravy at 4 and 10° C*. Journal of Food Protection. 57(2):104-107.
53. Creed P.G., (2001). *The potential of foodservice systems for satisfying consumer needs*. Innovative Food Science & Emerging Technologies 2: 219-227.
54. Creed, P. (2000) *Sous Vide- An overview of the process*. *Ready Meals Conference Proceedings*, www.teagasc.ie/publications/readymeals2000. Acceso en Enero 2004.

55. Creed, P.G. (1995). *The sensory and nutritional quality of sous vide foods*. Food Control, 6(1): 45-52.
56. Creed, P.G. (1998). *Sensory and nutritional aspects of sous vide processed foods*. En: Ghazala, S. (ed) *Sous vide and cook-chill processing for the food industry*. pp 57-88.
57. Creed, P.G. y Pierson, B.J. (1999). *Sous vide-past, present and future*. En: Proceedings of Third European Symposium on Sous Vide, March, Leuven, Belgium, pp. 379-394.
58. Crisley, F.D.; Peeler, J.T.; Angelotti, R. & Hall, H.E. (1968). *Thermal resistance of spores of five strains of Clostridium botulinum type E in ground whitefish clubs*. Journal of Food Science. 33:411-416.
59. Cuesta, C. y Sanchez-Muniz, F.J. (2001) *La fritura de los alimentos. Fritura en aceite de oliva y oliva virgen extra*. En: Mataix, J. (ed.) *Aceite de oliva virgen extra. Nuestro patrimonio alimentario Vol. 1* Granada: Universidad de Granada y Puleva Food. pp. 173–209.
60. Davies, A.R.; Capell, C.; Jehanno, D.; Nychas, G.J.E. & Kirby, R.M. (2001). *Incidente of foodborne pathogens on European fish*. Food Control, 12:67-71.
61. Davis, H.K. (1995). *Calidad y alteración del pescado crudo*. En “El pescado y productos derivados de la pesca”. A. Ruiter. Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 225-256.
62. De Man, J.D., Rogosa, M. & Sharpe, M.E. (1960). *A Medium for the Cultivation of Lactobacilli*. Journal of Applied Bacteriology. 23; 130-135.
63. De Wilde, J.W. & Kamstra, A. (1995). *Producción pesquera*. En “El pescado y productos derivados de la pesca”. A. Ruiter. Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp.1-35.
64. Department of Health-D.O.H. (1989). *Chilled and Frozen Guidelines on Cook-Chill and Cook-Freeze Systems*. Majesty's Stationery Office (HMSO). ISBN- 0113211619. London. UK.
65. Department of Health-D.O.H. (1990). *The microbiological safety of Food, Part I*. Majesty's Stationery Office (HMSO). London. UK.
66. Donoso, G., Lewis, O.A., Miller, D.S. (1962) *Effect of heat treatment on the nutritive value of proteins: chemical and balance studies*. Journal of the Science of Food and Agricultural, 12: 192-196.

67. Douglas E. Baldwin. (2009). A practical guide to sous vide cooking. Daft 0.4g. <http://amath.colorado.edu/~baldwind/sous-vide.html>. (Last Updated: Friday, March 27, 2009)
68. Dyerberg, J. & Bang, H.O. (1979). *Haemostatic function and platelet polynsaturated fatty acids in Eskimos*. Lancet. 2:433.
69. E.C.F.F. (1998). *Best practise in the chilled food industry*. Helsinki. The European Chilled Food Federation.
70. Einerson, M.A. & Reineccius, G.A. (1977). *Inhibition of WOF in retorted turkey by antioxidants formed during processing*. Journal of Food Processing and Preservation. 1:279-291.
71. Eisler, R. (1981). *Trace elements concentrations in marine organisms*. Pergamon Press. New York. pp. 687.
72. Ellinger, G.M. y Boyne, E.B. (1965). Aminoacid composition of some fishery products and casein. British Journal of Nutrition, 19(4): 587-593.
73. El Rawi, I. y Geiger, E. (1952). *The growth promoting effect of commercial strained meat and fish products investigated with infantile rats*. Journal of Nutrition, 47: 119-132.
74. Embarek, P.K.B. & Huss, H.H. (1993). *Heat resistance of Listeria monocytogenes in vacuum-packaged pasteurized fish fillets*. International Journal of Food Microbiology. 20:85-95.
75. Embarek, P.K.B.; Jeppesen, V.F. & Huss, H.H. (1994). *Antibacterial potential of Enterococcus faecium strains isolated from sous-vide cooked fish fillets*. Food Microbiology. 11:525-536.
76. Ender, P., Dishington, I.W., Madsen, R. y Helgebostad, A. (1972). *Iron deficiency anaemia in mink fed raw marine fish a five year study*. Parey, Hamburg.
77. Eriksen, H. & Lassen, A. (1991). *Vitamin retention in prepared food: comparison to traditional techniques*. Proceeding of Second European Symposium on *Sous-vide*. 10-12 April 1996. ALMA University Restaurants/FAIR. University of Leuven. Belgium. pp. 339-340.
78. Espe, M.; Nortvedt, R.; Lie, O. & Hafsteinsson H. (2002). *Atlantic salmon (Salmo salar, L) as raw material for the smoking industry. II: Effect of different*

- smoking methods on losses of nutrients and on the oxidation of lipids*. Food Chemistry. Vol. 77, 1: 41-46.
79. F.A.I.R. CT96-1020. *Harmonization of safety criteria for minimally processed foods*. Inventory report.
80. Figueroa, B. (1984) *Grasas dietarias en frituras repetidas*. Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
81. Flowers R.S., D'Aoust J., Andrews W.H. & Bailey J.S. (1992). *Salmonella*, p. 371-422. En: Vanderzant C. & Splittstoesser D.F. (ed.) *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. (3rd ed.). American Public Health Association (APHA), Washington, USA.
82. Folch, J., Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H. (1957). *A simple method for the isolation and purification of the total lipids from animal tissues*. Journal of Biological Chemistry, 266: 497-509.
83. Food Institute of Canada –FIOC–, (1990). *Canadian Code of Recommended Handling Practices for Chilled Food*. The Food Institute of Canada. Ottawa, Ontario, Canada.
84. Fujita, Y., Ohshima, T. y Koizumi, C. (1994). *Increase in the oxidation stability of sardine lipids through heat treatment*. Fisheries Science, 60(3): 289-294.
85. Gall, K.L., Otwell, W.S., Koburger, J.A. y Appledorf, H. (1983) *Effects of four cooking methods on the proximate, mineral and fatty acid composition of fish fillets*. Journal of Food Science, 48: 1068-1074.
86. García Arias, M.T., (1989). *Influencia del modo de cocción y tiempo de esterilización y almacenamiento en el valor nutritivo de conservas de atún blanco*. Tesis Doctoral. Instituto de Nutrición y Bromatología (CSIC-UCM). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Madrid.
87. García Arias, M.T.; Álvarez Pontes, E; García Linares, M.C.; García Fernández, M.C. & Sánchez Muniz, F.J. (2003). *Cooking–freezing–reheating (CFR) of sardine (Sardina pilchardus) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions*. Food Chemistry. Vol.83, Issue 3, pp. 349-356.
88. García, G.W & Genogeorgis, C. (1987). *Quantitative evaluation of Clostridium botulinum no-proteolytics types B, E and F growth risk in fresh salmon tissue homogenates stored under modified atmospheres*. Journal of Food Protection. 50(5):390-397.

89. García, G.W; Genogeorgis, C. & Lindroth, S. (1987). *Risk of growth and toxin production by de Clostridium botulinum no-proteolytics types B, E and F in salmon fillets stored under modified atmospheres at low and abused temperatures*. Journal of Food Protection. 50(4):330-336.
90. García-Arias, M.T. & Navarro, M.P. (1991). *Procesos térmicos y retención de nutrientes en el pescado azul*. Alimentación, Equipos y Tecnología. Septiembre 1991, pp. 109-117.
91. García-Arias, M.T. (1991). *Influencia del modo de cocción y tiempo de esterilización y almacenamiento en el valor nutritivo de conservas de atún blanco*. Ed. Universidad Complutense. Colección tesis doctorales 85/91. Madrid, pp 267.
92. García-Arias, M.T., Navarro, M.P. y García-Linares, M.C. (2004). *Effects of different termal treatments and storage on the proximate composition and protein quality in canned tuna*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 54:1 112-122.
93. García-Arias, M.T.; Álvarez-Pontes, E.; García-Fernández, M.C. & Sánchez-Muniz, F.J. (2003b). *Freezing/defrosting/frying of sardine fillets. Influence of slow and quick defrosting on protein quality*. Journal of the Science of Food and Agricultural, 83: 602-608.
94. García-Arias, M.T.; Álvarez-Pontes, E.; García-Linares, M.C.; García-Fernández, M.C. & Sánchez-Muniz, F.J. (2003a). *Cooking-Freezing-Reheating (CFR) of sardine (Sardina pilchardus) fillets. Effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions*. Food Chemistry, 83(3): 349-356.
95. Gaze, J.E. & Brown, G.D. (1990). *Determination of the heat resistance os strain of non-proteolytics Clostridium botulinum type B and a strain of type E, heated in cod and carrot over the temperature range 70 to 92° C*. CFDR Technical Memorandum nº 592.
96. Gaze, J.E.; Brown, G.D.; Gaskell, D.E. & Banks, J.G. (1989). *Heat resistance of L. monocytogenes in homogenates of chicken, beef, steak and carrot*. Food microbiology. 6:251-259.
97. Geiger, E., Human, L.E., y Middleton, H. (1958) *Nitrogen content of the gastrointestinal tracts of rats during the absorptive period*. En: "Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine" 97: 232-236.

98. Genigeorgis, C.A.; Meng, J. & Baker, D. (1991). *Behaviour of non-proteolytic Clostridium botulinum type B and E spores in cooked turkey and modelling lag phase and probability of toxigenesis*. Journal of Food Science. 56(2):373-379.
99. Ghazala, S.; Aucoin, J. & Alkanani, T. (1996). *Pasteurization effect on fatty acid stability in a sous-vide products containing seal meat (Phoca groenlandica)*. Journal of Food Science. 61(3):520-523.
100. Ghazala, S.; Coxworthy, D. & Alkanani, T. (1995) *Thermal kinetics of Streptococcus faecium in nutrient broth/sous-vide products under pasteurization conditions*. Journal of Food Processing and Preservation. 19:246-257.
101. Gilliland, S.E.; Michener, H.D. y Kraft, A.A. (1984). *Psychrotrophic microorganisms*. En: "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". 2ª ed., pp. 135-141. M.L. Speck (ed.). APHA, Washington, D.C.
102. Gokoglu, N.; Yerlikaya, P. & Cengiz, E. (2004). *Effects of cooking methods on the proximate composition and mineral contents of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. Food Chemistry. 84:19-22.
103. Gómez-Basauri, J.V. & Regenstein, J.M.: (1992). *Processed and frozen storage effects on the iron content of cod and mackerel*. Journal of Food Sciences. 57:1332-1336.
104. Gomez-Guillén, M.C.; Montero, P.; Hurtado, O. & Borderías, A.J. (2000). *Biological characteristics affect the quality of farmed Atlantic salmon and smoked muscle*. Journal of Food Science, 65: 53-60.
105. González, C.; López, T.; García, M.L.; Prieto, M. & Otero, A. (1999). *Bacterial microflora of wild brown trout (Salmon trutta), wild pike (Esox lucius) and aquacultured rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. Journal of Food Protection. 62:1270–1277.
106. González-Rodríguez, M.N.; Sanz, J.J.; Santos, J.A., Otero, A. & García-López, M.L. (2002). *Foodborne pathogenic bacteria in pre-packaged fresh retail portions of farmed rainbow trout and salmon stored at 3°C*. International Journal of Food Microbiology. 76:135-141.
107. Goto, M.; Hashimoto, K. & Yamada, K. (1995). *Difference of ascorbic acid content among some vegetables, texture in chicken and pork, and sensory*

- evaluation store in some dishes between vacuum and ordinary cooking.* Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi. 42(1):50-54.
108. Gould, G.W. (1999). *Sous-vide foods: conclusions of an ECFF Botulinum Working Party.* Food Control 10:47-51.
109. Graham, A.F.; Mason, D.R.; Maxwell, F.J. & Peck, M.W. (1997). *Effect of pH and NaCl on growth from spores of non-proteolytic Clostridium botulinum at chill temperatures.* Letters of applied Microbiology. 24:95-100.
110. Grant, I.R. & Patterson, M.F. (1995). *Effect of gamma radiation and heating on the destruction of Listeria monocytogenes and Salmonella typhimurium in cook-chill roast beef and gravy.* International Journal of Food Microbiology. 27:117-128.
111. Greed, P. G. (1995). *Sensory and nutritional aspect of sous-vide processed foods.* En *Sous-vide and cook-chill processing for the food industry.* S. Ghazala. Aspen Publishers, Inc. ISBN: 0-7514-0433-0.
112. Groot, S.J. (1995). *Especies comestibles.* En "El pescados y productos derivados de la pesca". A. Ruiter. Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 35-81.
113. Guerzoni, M.E.; Gianotti, A. & Lopez, C.C. (1999). *Effect of some process variables on safety and shelf-life of "sous vide" cooked foods.* En: Third European Symposium on Sous-vide Proceedings Leuven, Belgium, pp. 253–266.
114. Haard, N.F. (1992). *Control and chemical composition and food quality attributes of cultured fish.* Food research International. 25:289-307.
115. Haard, N.F. (1995). *Valor nutritivo y composición de las proteínas y otros compuestos nitrogenados del pescado.* En *El pescado y productos derivados de la pesca.* Ruiter, A. (Ed.). Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 81-121.
116. Hansen, T.B. & Knochel, S. (1996). *Thermal inactivation of Listeria monocytogenes during rapid and slow heating in sous-vide cooked beef.* Letters in applied Microbiology. 22:425-428.
117. Hansen, T.B.; Knochel, S.; Juncher, D. & Bertelsen, G. (1995). *Storage characteristics of sous-vide cooked roast beef.* International Journal of Food Science and Technology. 30:365-378.

118. Hauben, K. (1999). *Sous-vide cooking: state of the art*. Proceeding of Third European symposium on sous-vide. ALMA Sous-vide Competence Centre & Katholieke Universiteit Leuven. March 25-26, 1999. Leuven, Belgium. pp. 11-29.
119. Hazell, T. (1985). *Minerals in foods: dietary sources, chemical forms, interactions, bioavailability*. En: World Reviews of Nutrition and Dietetics, 46: 1-123.
120. Health and Welfare Canada, (1992). *Guidelines for the production, distribution, retailing and use of refrigerated pre-packaged foods with extended shelf life*. Guideline #7, Food Directorate, Health Protection Branch, Health Canada.
121. Hearn, T.L.; Sgoutas, S.A.; Hearn, J.A. & Sgoutas, D.S. (1987). *Polyunsaturated fatty acids and fat in fish flesh for selecting species for health benefits*. Journal of Food Science. Vol. 52, No.5. pp. 1209-1211.
122. Hebard, C.E.; Flick, G.J. & Martin, R.E. (1982). *Occurrence and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish*. En: Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. Martin, R.E; Flick, G.J. & Hebard, C.E. (eds.). AVI, Westport, CT, USA, pp.149-304.
123. Higon, E. (1985) Consumo de aceites y oleonilidas. *Influencia sobre la composición del tejido adiposo de rata*. Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense.
124. Hill, J., Peters, J., Lin, D., Yakubu, F., Greene, H. y Swift, L. (1993) Lipid accumulation and body fat distribution is influenced by type of dietary fat fed to rats. International Journal of Obesity, 17: 223-236.
125. Howgate, P., A. Johnston and K.J. Whittle (1992). *Multilingual Guide to EC Freshness Grades for Fishery Products*. Tony Research Station. Aberdeen.
126. Huss, H.H. (1995) Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fisheries Technical paper N° 348. Food and Agricultural Organisation of the United Nations. Rome, ISBN 92-5-103507-5, Rome.
127. Huss, H.H. (1998). *El pescado fresco: su calidad y cambios en su calidad*. FAO, Documento Técnico de Pesca n° 348. Roma, FAO, 202 pp. ISBN. 92-5-303507-2.

128. Huss, H.H.; Dalsgard, D.; Hansen, L.; Ladefoged, H.; Petersen, A. & Zittan, L. (1974). *The influence of hygiene in catch handling on the storage of cod and plaice*. Journal of Food Technology. 9:213-221.
129. I.C.M.S.F. - Internacional Comisión on Microbiological Specifications for Foods - (1983). *Microorganismos de los alimentos 1. Técnicas de análisis microbiológico*. 2ª ed. Acribia, Zaragoza.
130. I.C.M.S.F. - International Commission on Microbiological Specifications for Foods - (1998). *Microorganisms in Food (Vol. 6). Microbial Ecology of Food Commodities*. ICMSF. Aspen Publishers, Inc. Maryland. ISBN. 84-200-0934-2.
131. I.C.M.S.F. - International Commission on Microbiological Specifications for Foods - (1998) Pescados y productos derivados. En: Aspen Publishers, Inc. Microorganisms in Foods 6. Microbial Ecology of Food Commodities. pp. 121-166.
132. I.F.T. 1989. *Microwave food processing*. J. Food Technology; 43:117-126.
133. Ingemanssol, T.; Olsson, N.U.; Herslof, B.G. & Ekstrand, B. (1991). *Lipids in light and dark muscle of farmed rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. Journal of Food Science and Agriculture. 57:443-447.
134. I.N.R.A.N. (Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione). (2000). *Tabelle di composizione degli alimenti*. (Revisión del año 2000). <http://www.inran.it/Documentazione/tabelle.htm>
135. ISO 8586-1, 1993. Sensory analysis. General Guidance for Selection, Training and Monitoring of Assessor, Switzerland.
136. J.A.C.U.M.A.R. (2004). *La acuicultura en España*. Junta Nacional Asesora de Cultivos Marinos. <http://www.mapya.es/J.A.C.U.M.A.R./J.A.C.U.M.A.R..asp>.
137. Johnson, N., Alcantara, E. y Linkswiller, H. (1970) *Effect of level of protein intake on urinary and fecal calcium and calcium retention of young adult males*. Journal of Nutrition, 100: 1425-1430.
138. Jonsdottir, S. (1992). *Quality index method and TQM system*. En: Quality Issues in the Fish Industry. R. Olafsson and A.H. Ingthorsson (eds.). The Research Liaison Office, University of Iceland.

139. Jonson, I.A.; Frearson, N. & Goldspink, G. (1973). *Effects of environmental temperature on the properties of myofibrillar adenosine triphosphate from various species of fish*. Biochemical Journal. 133:735-738.
140. Jonson, I.A.; Walesky, N.H.; Davison, W. & Goldspink, G. (1975). *Temperature adaption in myosin of Antarctic fish*. Nature (London). 254:74-75.
141. Juneja, V.K. & Marmer, B.S. (1996). *Growth of Clostridium perfringens from spore inocula in sous-vide turkey products*. International Journal of Food Microbiology. 32:115-123.
142. Juneja, V.K. (2006). *Delayed Clostridium perfringens growth from a spore inocula by sodium lactate in sous-vide chicken products*. Food Microbiology 23:105-111.
143. Krauss, R.M. Eckel, H.R., Howard, B., Appel, L.J., Daniels, S.R., Deckelbaum, R.J., Erdman J.W., Kris-Etherton, P., Goldberg, I.J., Kotchen T.A., Lichtenstein. A.H., Mitch, W.E. Mullis, R., Robinson, K., Wylie-Rosett, J., Jeor, S.S., Suttie, J., Tribble, D.L. y Bazzarre, T.L. (2000) *AHA dietary guidelines. Revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association*. Circulation, 102: 2284-2299.
144. Kies, C.V. (1988) *Mineral utilization of vegetarians: Impact of variation in fat intake*. American Journal of Clinical Nutrition, 48: 884-887.
145. Lall, S.P (1995). *Macro y microelementos del pescado y del marisco*. En El pescado y productos derivados de la pesca. Ruitter, A. (Ed.). Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 197-224.
146. Lall, S.P. & Parazo, M.P. (1995). *Vitaminas del pescado y del marisco*. En El pescado y productos derivados de la pesca. Ruitter, A. (Ed.). Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 165-196.
147. Lancetti, G.A. y Tatini, S.R. (1992). *Staphylococcus aureus*. En: "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". 3ª ed., pp. 533-550. Eds. C. Vanderzant y D.F. Splittstoesser. APHA, Washington, D.C.
148. Lengkeek G. (1990). *Modeling microwave in geïntegeerde proceslijn*. J. Food Management; 11:61-62.

149. Light, N; Hudson, P; Williams, R.; Barrett, J. and Schafheitle, J. (1988). *A pilot study on the use of sous-vide vacuum cooking as a production system for high quality foods in catering*. International Journal of Hospitality Management. 7(1):21-27.
150. Lilabati, H. y Vishwanath, W. (1996) *Nutritional quality of fresh water catfish (Wallago attu) available in Manipur, India*. Food Chemistry 57(2): 197-199.
151. Lukaski, H.C., Klevay, L.M., Bolonchuk, W.W., Mahalco, J.M., Milne, D.B., Johson, L.K. y Sandstead, H.H. (1982). *Influence of dietary lipids on iron, zinc and copper retention in athletes*. Fed. Pro. 41: 275.
152. Lund, B.M. & Peck, M.W. (1995). *Heat resistance and recovery spores of non proteolytics Clostridium botulinum in relation to refrigerated processed foods with an extended durability*. Journal of Applied bacteriology Sump. Suppl. 76:115s-128s.
153. Mackey, B.M.; Pritchett, C., Norris, A. & Mead, G.C. (1990). *Heat resistance of Listeria: strain differences and effects of meat type and curing salts*. Letters of Applied Microbiology. 10, 251–255.
154. Mahan L.K. & Escott-Stump S. (2001). *Krause's Food, Nutrition & Diet Therapy*. McGraw-Hill Companies. ISBN 0-7216-7904-8.
155. Mai, J.; Shimp, J.; Weihrauch, J. & Kinsella, J.E. (1978). *Lipids of fish fillets: Changes following cooking by different methods*. Journal of Food Science, 43: 1669-1674.
156. Martens, T. (1995). *Safety aspect of sous-vide products and prevention of microbial risk*. Microbiología SEM, 11: 33-42.
157. Martínez-Torres, C., Leets, I. y Layrisse, M. (1975) Iron absorption by humans from fish. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 25: 199-210.
158. Mataix, J. & Gil, A. (2002). *Libro blanco de los omega-3: los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud*. Instituto Omega-3. Ed. Puleva Food. Granada. ISBN: 84-699-7619-4.
159. Mataix, J.; Mañas, A.; Llopis, J. & Martínez, E. (1993). *Tabla de composición de alimentos españoles*. Servicio de publicaciones de la Universidad de Granada. ISBN: 84-338-1841-4.
160. Matches, J.R. & Liston, J. (1973). *Methods and techniques for isolation and testing of clostridia from the estuarine environment*. En: Stevenson, L.H.,

- Colwell, R.R. (Eds.), *Estuarine Microbial Ecology*. University of South Carolina Press, pp. 345–362.
161. Matches, J.R.; Listn, J. & Curran, D. (1974). *Clostridium perfringens in the environment*. *Journal of Applied Microbiology*. 28:655–666.
162. McCance, R.A. & Widdowson, E.M. (1998). *Fatty Acids: Supplement to McCance & Widdowson's The Composition of Foods*. Royal Society of Chemistry. Ministry of Agriculture Fisheries and Food, London. ISBN: 0-85404-819-7.
163. McClain, D. y Lee, W.H. (1988). *Development of USDA-FSIS method for isolation of Listeria monocytogenes from raw meat and poultry*. *Journal Association of Official Analytical Chemists*. 71, 660-664.
164. Meng, J. & Genigeorgis, C.A. (1994). *Delaying toxigenesis of Clostridium botulinum by sodium lactate in sous-vide products*. *Letter in applied Microbiology*. 19:20-23.
165. M.E.R.C.A.S.A. (2007). Los platos preparados viven su momento de oro. *Revista Distribución y Consumo*. Julio-agosto 2007, pp 71-74.
166. Messer, J., Midura, T. and Peeler, J. (1992). *Sampling plans, sample collection, shipment, and preparation for analysis*. En: Vanderzant C. & Splittstoesser D.F. (ed.) *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. (3rd ed.). American Public Health Association (APHA), Washington, USA.
167. Metayer, M. (1991). *Qualité nutritionnelle des produits sous-vide*. Les Journées du *Sous-vide* en Agro-alimentaire. ISVAC, 19-20 Novembre 1991. Roanne, France, pp.92-97.
168. Metcalfe, L.V., Schmitz, A.A. y Pelka, J.R. (1966) *Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis*. *Analytical Chemistry*. 38: 514-515.
169. Ministère de l'Agriculture, République Française. (1978). *Réglementation des conditions d'hygiène relatives à la préparation, la conservation, la distribution et la vente des plats cuisinés à l'avance*. Arrêté du 26 Juin 1974. République Française. Ministère de l'Agriculture.
170. Ministère de l'Agriculture, République Française. (1988). *Prolongation de la durée de vie des plats cuisinés à l'avance, modification du protocole*

- permettant d'obtenir les autorisations*. Note de Service DGAL/SVHAIN 881 n°. 8106 du 31 Mai 1988. République Française. Ministère de l'Agriculture.
171. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (2004). La alimentación en España. MAPYA, <http://www.mapya.es>.
172. Misina, T.; Yokohama, T.; Yano, K. & Tsuchimoto, M. (1990). *The influence of rearing water temperature on the properties of Ca- and Mg-ATPase activity on carp myofibril*. Bulletin of Japanese society of scientific Fisheries. 56:477-487.
173. Mitchell, H.H. (1924) *A method of determining the biological value of protein*. Journal of Biological Chemistry, 58: 873-903.
174. Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, C. & Cuadrado, C. (2001). *Tablas de composición de alimentos*. Ediciones Pirámide. ISBN: 84-368-1571-8.
175. Muller, H.G. & Tobin, G. (1980). *Foods of animal origin*. En Nutrition and Food Processing. The Avi Publishing Company, Inc. Westpoint. Connecticut.
176. Murray, C.K. & Shewan, J.M. (1979). *The microbial spoilage offish with special reference to the role of psychrotrophs*. En "Cold tolerant microbes in spoilage and the environment". Russell, A.D. and R. Fuller (eds.), Academic Press, 117-136.
177. Mustafá, F.A. y Medeiros, D.M. (1985). *Proximate composition, mineral content and fatty acids of catfish (Ictalurus punctatus, Rafinesque) for different seasons and cooking methods*. Journal of Food Science, 50: 585-588.
178. N.A.C.M.C.F. (National Committee on Microbiological Criteria for Foods), (1990). *Recommendations for refrigerated foods containing cooked, uncured meat or poultry products that are packed for extended, refrigerated shelf life and that are ready to eat or prepared with little or no additional heat treatment*. Adopted January 31, 1990. Washington, DC.
179. Nakagawa, T.; Watabe, S. & Hashimoto, J. (1988). *Electrophoretic analysis of sarcoplasmic proteins from muscle on polyacrilamide gels*. Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries. 54:993-998.
180. National Research Council (1995) *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*. 4th Revised Edn. National, Academy Press, Washington, DC.
181. Nedoluha, P.C. & Westhoff, D. (1993). *Microbiological flora of aquacultured hybrid striped bass*. Journal of food protection. 56:1054-1060.

182. Nettleton, J.A. & Exler, J. (1992). *Nutrient in wild and farmed fish and shellfish*. Journal of Food Science, No.2, Vol. 57: 257-260.
183. Nettleton, J.A. (1985). *Seafood Nutrition: facts, Issues and Marketing of Nutrition in Fish and shellfish*. Osprey Books. New York, p 26.
184. N.F.P.A. (National Food Processors Association), Refrigerated Foods and Microbiological Criteria Committee. (1989). *Factors to be considered in establishing good manufacturing practises for the production of refrigerated foods*. Dairy Food Sanitation 8:5-7.
185. Norma UNE 87001:1994- *Análisis sensorial. Vocabulario (ISO 5492:1992)*.
186. Norma UNE 87004:1995- *Análisis sensorial. Sala de catas*.
187. Norma UNE 87006:1992- *Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:1983)*.
188. Norma UNE 87008:1992- *Análisis sensorial de alimentos. Metodología. Guía general (ISO 6658:1985)*.
189. Norma UNE 87013:1996- *Análisis sensorial. Metodología. Iniciación y entrenamiento de jueces en la detección y reconocimiento de olores*.
190. Norma UNE 87017:1992- *Análisis sensorial. Metodología. Método para establecer el perfil olfato-gustativo (ISO 6564:1985)*.
191. Norma UNE 87020:1993- *Análisis sensorial. Utensilios. Evaluación de los productos alimentarios por métodos que utilizan escalas (ISO 4121:1987)*.
192. N.S.W. Health Department. (1995). *Reference code for an extended shelf-life cook-chill system*. Sydney: Capital and Infrastructure Service Branch.
193. Observatorio Español de Acuicultura. (2007) *Acuicultura: La Revolución Azul*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas -CSIC - Ministerio de Agricultura, Pesca Y Alimentación. ISBN: 978-84-00-08555-8
194. Ollinger-Snyder, P.; ElGazzar, F.; Matthews, M.E., Marth, E.H. & Unklesbay, N. (1995). *Thermal destruction of Listeria monocytogenes in ground pork prepared with and without soy hulls*. Journal of Food Protection. 58(5):573-576.
195. O.M.S. Codex Alimentarius Commission. (1994). *Proposed draft code of hygienic practice for refrigerated packaged foods with extended shelf life*. CL-1994/15-FH.

196. Palumbo, S.A. (1986). *Is refrigeration enough to restrain food-borne pathogens?*. Journal of Food Protection, 49:1003-1009.
197. Peck, M.W. & Stringer, S.C. (2005). *The safety of pasteurised in-pack chilled meat products with respect to the foodborne Botulism hazard*. Meat Science 70:461-475.
198. Peck, M.W.; Fairbairn, D.A. & Lund, B.M. (1992). *The effect of recovery on the estimated heat-inactivation of spores of non-proteolytic Clostridium botulinum*. Letters in applied microbiology. 15:146-151.
199. Peng, J., Larondelle, Y., Pham, D., Ackman, R.G. y Rollin, X. (2003) *Polyunsaturated fatty acid profiles of whole body phospholipids and triacylglycerols in anadromous and landlocked Atlantic salmon (Salmo salar L) fry*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 134: 335-348.
200. Pérez-Granados, A.M. (1997) Tesis doctoral. Universidad Complutense (ed), Madrid.
201. Pérez-Granados, A.M., Vaquero, M.P. y Navarro, M.P. (2003). *The frying process. Influence on the bioavailability of dietary minerals*. En: Vaquero, M.P., García-Arias, M.T. y Carbajal, A. (eds) Bioavailability of micronutrients and minor dietary compounds. Metabolic and technological aspects, Research Signpost, India, pp.95-104.
202. Petersen, M.A. (1993). *Influence of sous-vide processing, steaming and boiling on vitamin retention and sensory quality in broccoli florets*. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung. 197(4):375-380.
203. Petran, R.L.; Sperber, W.H. & Davis, A.B. (1995). *Clostridium botulinum toxin in romaine lettuce and shedder cabbage: effect of storage and packaging*. Journal of Food Protection. 58(6):624-627.
204. Pigott, G.M. & Tucker, B.W. (1990). *Seafood: effects of technology on nutrition*. Marcel Dekker, Inc. New York. pp 41-42.
205. Polvi, S.M. (1989) Diet and availability of omega-3 fatty acids in salmonids. MSc thesis, Technical University of Nova Scotia, Halifax, 221 pp.
206. Pralus, G. (1985) La cuisine sous vide- Une histoire d'amour- La cuisine de l'an 2000, published by author, Briennon, France, 447 pp.
207. Primo Yufera, E. (1998). *Química de los alimentos*. Editorial Síntesis. Madrid. pp. 391 ISBN: 84-7738-451-7.

208. Puwastien, P.; Judprasong, K.; Kettwan, E.; Vasanachitt, K.; Nakngamanong, Y. & Bhattacharjee, L. (1999). *Proximate composition of raw and cooked Thai freshwater and marine fish*. Journal of Food Composition and Analysis, 12: 9-16.
209. Q.I.M. Eurofish (2001) Sensory evaluation of fish freshness. Martinsdottir, E. Sveinsdottir, K. Luten, J., Schelvis-Smit, R. y Hyldig, G. (eds). Icelandic Fisheries Laboratories, Svansprent ehf, Iceland.
210. Real Decreto 223/1988. *Sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos*. BOE núm 67 de 14 de marzo de 1988. (pág. 8509).
211. Real Decreto 3484/2000. *Normas necesarias para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas*. BOE núm. 11 de 12 de enero de 2001.
212. Ribarova, F.; Zanev, R.; Shishkov, S. & Rixov, N. (2003). *α -tocopherol, fatty acids and their correlations in Bulgarian foodstuffs*. Journal of Food Composition and Analysis. 16 pp. 659-667.
213. Rice, E.E. y Benk, J.F. (1953) The effects of heat upon the nutritive value of proteins. *Advances in Food Research*, 4: 233-279.
214. Richmond, M. (1990). The microbiological safety of foods: part 1. *Report of the Committee on the Microbiological Safety of Food*. Chairman Sir Mark Richmond. Her Majesty's Stationery Office (HMSO). ISBN 0113212739.
215. Roca J. & Brugués S. (2005). *La cuisine sous-vide*. Montagud Editores (ed.) ISBN 9788472121119.
216. Robin, J.H.; Regost, C.; Arzel, J. & Kaushik, S.J. (2003) : *Fatty acid profile of fish following a change in dietary fatty acid source: model of fatty acid composition with a dilution hypothesis*. Aquaculture. 225 :283-293.
217. Rodehamel, E.J. (1992). *FDA's concerns with sous-vide processing*. Food Technology, 12:73-76.
218. Rodgers, S. (2003). *Potential applications of protective cultures in cook-chill catering*. Food Control 14 (1): 35-42.
219. Roessler, E.B.; Pangborn, R.M.; Sidel, J.L. and Stone, H. (1978). *Expanded statistical tables for estimating significance in triangle tests*. Journal of Food Science - Volume 43

220. Roizer, J.; Carlier, V.; Bonot, F.; Tassin, P.; Rouve, G. & Gauthier, M., (1990). *Plats cuisines á l'avance et cuisson sous-vide. Matrice de la qualité hygiénique*. APRIA-CDIUPA.
221. Rose, S. (1986). *Temperature observations on chilled foods from refrigerated retail displays*. Technical memorandum N° 423, Campden & Chorleywood Food Research Association, Chipping Campden, Glos., UK.
222. Rosell, J.B. (2001). *Factors affecting the quality of frying oils and fats*. En: Rosell, J.B. (ed). *Frying, Improving quality*, CRC Press, Whashington DC, 369 pp.
223. Rosnes, J.T.; Kleiberg, H.; Bergslein, H. & Vidvei, J. (1999). *Microbiological safety of two sous-vide fish based meals*. En: Third European Symposium on Sous-vide Proceedings, Leuven, Belgium, pp. 195–204.
224. Ruiter, A. (1995). *El pescado y productos derivados de la pesca*. Editorial Acribia S.A. ISBN- 84-200-0859-1. pp. 403.
225. Ruiz-Roso, B. (1983) Influencia del sistema CFR (Fritura-Congelación-Recalentamiento) sobre la calidad nutritiva de la proteína de algunos alimentos de origen animal. Tesis Doctoral, Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
226. Ruiz-Roso, B., Cuesta, I., Perez, M., Borrego, E., Pérez-Olleros, L. y Varela, G. (1998) Lipid composition and palatability of canned sardines. Influence of the canning process and storage in olive oil for five years. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77: 244-250.
227. Ruskol, D. & Bendsen, P. (1992). *Invasion of S. putrefaciens during spoilage of fish*. M.Sc. Thesis, Technological Laboratory and the Technical University, Denmark.
228. Rybka, S., Kailasapathy, K., Bergan, J., Poniman, S., Mirkhail, S., Gunasekera, C., Lin, Y. & Ferraris, J. (1999). *Storage characteristics of selected cook-chill meals with an extended shelf-life*. En: 3th European Symposium on Sous-vide Proceedings, Leuven, Belgium, pp. 317–330.
229. Sánchez-Múniz, F.J. (1987) Prevención con dieta para una vida longeva. Relevancia del consumo de pescado. *Revista Clínica Española*, 180: 43-47.
230. Sánchez-Múniz, F.J.; Viejo, J.M. & Medina, R. (1992). *Deep frying of sardines in different culinary fats. Changes in the fatty acid composition of*

- sardines and frying fats*. Journal of Agricultural Food Chemistry, 40: 2252-2256.
231. Sato, K. Hegarty, G.R. & Herring, H.K. (1973). *The inhibition of WOF in cooked meats*. Journal of Food Science. 38:398-403.
232. Schellekens, M. (1996). *New research issues in sous-vide cooking*. Trends in Food Science and Technology. 7:256-262.
233. Schmidt, C.F.; Lechowich, R.V. & Folinazzo, J.F. (1961). *Growth and toxin production by type E Clostridium botulinum below 40°F*. Journal of Food science. 26:626-630.
234. Sebedio, J.L., Ratnayake, W.M.N., Ackman, R.G. y Prevost, J. (1993) Stability of polyunsaturated omega-3 fatty acids during deep fat frying of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Food Research International*, 26: 163-172.
235. Shamsuzzaman, K; Chuaqui-Offermans, N.; Lunct, L.; McDougall, T. & Borsa, J. (1992). *Microbiological and other characteristics of chicken breast meat following electron-beam and sous-vide treatment*. Journal of Food Protection. 55:528-533.
236. Shamsuzzaman, K; Lunct, L. & Chuaqui-Offermans, N. (1995). *Effects of combined electron-beam irradiation and sous-vide treatment on microbiological and other qualities of chicken breast meat*. Journal of Food Protection. 58:497-501.
237. Sheard, M. & Chuch, I. (1992). *Sous-vide cooking cook-chill*. Leisure and Consumer Studies. Leeds Polytechnic, Leeds.
238. Sheard, M. & Rodger, C. (1995). *Optimum heat treatments for sous-vide cook-chill products*. Food Control 1:53-56.
239. Shearer, K.D. (1984). *Changes in elemental composition of hatchery reared rainbow trout associated with growth and reproduction*. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic sciences, 41:1592-1600.
240. Shewan, J.M.; MacIntosh, R.G.; Tucker, C.G. & Ehrenberg, A.S.C. (1953). *The development of a numerical scoring system for the sensory assessment of the spoilage of wet white fish stored in ice*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 4: 283-298.

241. Sidwell, V.D. y Ambrose, M.E. (1975) Nutritional and chemical evaluation of the protein of various finfish and shellfish. En: Mendel, F. (ed) Nutritional quality of foods and feeds, Marcel Dekker, Inc. New York.
242. Shimomura, Y., Tamura, T. y Suzuki, M. (1990) Less body fat accumulation in rats fed a safflower oil diet than in rats fed a beef tallow diet. *Journal of Nutrition*, 120: 1291-1296.
243. Simpson M.V.; Smith, J.P.; Dodds, K.L.; Ramaswamy, H.S.; Blanchfield, B. & Simpson, B.K. (1995). *Challenge studies with Clostridium botulinum in a sous-vide spaghetti and meat sauce products*. *Journal of Food Protection*. 58:229-234.
244. Simpson, B.K.; Smith, J.P. & Harrd, N.F. (1991). *Marine enzymes*. En "Encyclopaedia of Food Science and Technology". J. Wiley & sons, New York pp. 1645-1653.
245. Simpson, M.V.; Smith, J.P.; Ramaswamy, B.K.; Simpson, B.K. & Ghazala, S. (1994). *Thermal resistance of Streptococcus faecium as influenced by pH and salt*. *Food Research International*, 27:349-353.
246. Smith, D.F. & Fullum-Bouchar, L. (1990). *Comparative nutritional, sensory and microbiological quality of a cooked chicken menu item produced and stored by cook-chill, cook-freeze and sous-vide cook-chill methods*. Poster presented at Canadian Dietetic Association Annual Conference. 7 June 1990. 6pp.
247. Smith, D.M. & Álvarez, V.B. (1988). *Stability of vacuum cook-in-bag turkey breast rolls during refrigerated storage*. *Journal of Food Science*. 53(1):46-48.
248. Smith, J.P.; Toupin, C.; Gagñon, B.; Boyer, R.; Fiset, P.P. & Simpson, M.V. (1990). *HACCP to ensure the microbiological safety of sous-vide processed meat/paste products*. *Food microbiology*, 7:177-198.
249. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (S.E.N.C.) (2001). Guías alimentarias para la población española. Recomendaciones para una dieta saludable. Madrid: IMC& SENC.
250. Sörquist, S. (1994). *Heat resistance of different serovars of Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Bacteriology*. 76:383-386.
251. Souci, S.W.; Fachmann, W. & Kraut, H. (1991). *Tablas de composición de alimentos*. Editorial Acribia. Zaragoza. ISBN: 84-200-0865-6.

252. Stringer S.C. & Peck, M.W. (1996). *Vegetable juice aids the recovery of heated spores of non-proteolytic Clostridium botulinum*. Letters in Applied Microbiology. 23:407-411.
253. Suzuki, H.; Okazaki, K. ; Hayakawa, S. & Tamura, S. (1986). *Influence of commercial dietary fatty acids of cultured fresh water fish and comparison with those of wild fish of the same species*. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 34:58-60.
254. S.V.A.C. (1991). *Code of practise for sous-vide catering systems*. Sous-vide Advisory Committee, Tetbury, Glos.
255. Turner, B.E.; Foegeding, P.M.; Larica, D.K. & Murphy, A.M. (1996). *Control of Bacillus cereus spores and spoilage microflora in sous-vide chicken breast*. Journal of Food Science. 61:217-219, 234.
256. Udarbe, M.A., Mercado, C.C., Santos, R.V., Lozada, A.F. y Gonzalez, J.M. (1985) *Protein quality evaluation of some fresh and processed fish*. Asian Food Journal, 1(3): 113-119.
257. UE 86/609/CEE. *Directiva del Consejo de Europa relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros respecto a la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos*. DOCE, L 358 de 18.12.1986
258. U.S.N.A.C.M.C.F. (1991). *Recommendation of the U.S. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods: I HACCP principles, II meat and poultry, III seafood*. Food Control. 2(4):202-210.
259. Varela, G., Pérez, M. y Ruiz-rosó, B. (1990). *Changes in the quantitative and qualitative composition of fat from fish, due to seasonality and industrial and culinary processing*. Karger Basel, Bibliotheca Nutritio et Dieta, 46: 104-109.
260. Van Dokkum, W., Cloughley, F.A., Hulsof, K.F.A.M., Oosterveen, L.A.M. (1983) *Effect of variations in fat and linoleic acid intake on the calcium, magnesium and iron balance of young men*. Annals of Nutrition and Metabolism, 27: 361-369.
261. Varela, G., Pujol, A. y Moreiras-Varela, O. (1963) *Sobre el valor biológico de la proteína de las sardinas frescas y enlatadas*. Anales de Bromatología, 15: 117-125.
262. Walker, A.; West, A. & Lawson, J. (1996). *The nutritional quality of vegetables processed by cook-serve and cook-chill sous-vide techniques*. Proceeding of

-
- Second European Symposium on *Sous-vide*. 10-12 April 1996. ALMA University Restaurants/FAIR. University of Leuven. Belgium. pp.339-340.
263. Walker, R. y Linkswiller, H. (1972) *Calcium retention in the adult human male as affected by protein intake*. Journal of Nutrition, 102: 1297-1302.
264. Ward, D.R. (1989). *Microbiology of aquaculture products*. Food Technology. 43(11):82-86.
265. Watier, B. & Belliot, J.P. (1991). *Vitamines et technologie industrielle récente*. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 26(1):23-26.
266. Watier, B. (1988). *L'incidence des nouveaux procédés sur les teneurs en vitamines des aliments*. Information Diététique. 3 :33-38.
267. Werlein, H.D. (1996). *The quality of sous-vide and conventional processed food*. Proceeding of Third European symposium on sous-vide. ALMA Sous-vide Competence Centre & Katholieke Universiteit Leuven. March 25-26, 1999. Leuven, Belgium. pp. 331-353.
268. Wheaton, F.W. & Lawson, T.B. (1985). *Processing aquatic food products*. USA: John Wiley & Sons Inc. Nueva York. pp.518.
269. Willcox, F; Hendrickx, M. & Tobback, P. (1994). *A preliminary survey into temperatures conditions and residence time distribution of minimally processed MAP vegetables in Belgian retail display cabinets*. International Journal of Refrigeration, 17(7):436-443.
270. Woodward, B. (1994). *Dietary vitamin requirements of cultured young fish, with emphasis on quantitative estimates for salmonids (Review article)*. Aquaculture. Volume 124, Issues 1-4, July 1994, Pages 133-168.

