

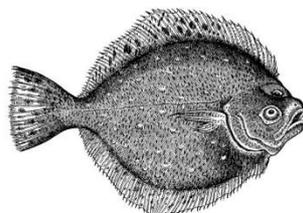


UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA

# **EVALUACIÓN DE MICRO Y MACROALGAS COMO ADITIVO FUNCIONAL EN LA ALIMENTACIÓN DEL RODABALLO**

*(Scophthalmus maximus)*



MÁSTER EN INGENIERÍA AGRONÓMICA

ALUMNA: ALBA PIORNO MAES

TUTORES: Dra. MARÍA ISABEL SÁEZ CASADO

Dr. FRANCISCO JAVIER ALARCÓN LÓPEZ

DEPARTAMENTO: BIOLOGÍA Y GEOLOGÍA

ALMERÍA, 2021

# **ÍNDICE GENERAL**

RESUMEN.....	6
AGRADECIMIENTOS .....	7
I. INTRODUCCIÓN .....	8
I.1. La acuicultura mediterránea .....	8
I.2. La producción de rodaballo .....	9
I.3. Parámetros que definen la calidad del pescado .....	10
I.3.1. Calidad nutricional .....	11
I.3.2. Calidad organoléptica instrumental.....	13
I.3.3. Calidad higiénico-sanitaria .....	15
I.4. Efecto de las algas sobre la calidad del pescado.....	16
II. OBJETIVOS .....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
III.1. Biomasa algal.....	21
III.2. Elaboración de piensos experimentales .....	21
III.3. Ensayo de alimentación y toma de muestras .....	23
III.4. Análisis de la composición proximal y perfil de ácidos grasos del músculo ....	24
III.5. Estudio de la evolución de diferentes parámetros que definen la calidad organoléptica del músculo durante el almacenamiento del pescado en frío .....	26
III.5.1. Análisis del perfil de textura (TPA).....	26
III.5.2. Capacidad de retención de agua (CRA).....	28
III.5.3. pH .....	28
III.5.4. Pigmentación instrumental.....	28
III.5.5. Estado de oxidación del músculo (TBARS) .....	29
III.6. Análisis estadístico .....	29
IV. RESULTADOS.....	30
IV. 1. Composición proximal .....	30
IV.2. Perfil de ácidos grasos del músculo .....	31
IV.3. Oxidación lipídica .....	33
IV.4. Análisis del perfil de textura (TPA) .....	34
IV.5. pH y capacidad de retención de agua (CRA).....	36

IV.6. Medida instrumental del color .....	37
V. DISCUSIÓN .....	40
VI. CONCLUSIONES .....	50
BIBLIOGRAFÍA .....	51
ANEXO 1. TABLAS .....	64

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1 .....	9
Figura 2 .....	9
Figura 3 .....	10
Figura 4 .....	14
Figura 5 .....	23
Figura 6 .....	24
Figura 7 .....	24
Figura 8 .....	25
Figura 9 .....	33
Figura 10 .....	35
Figura 11 .....	36
Figura 12 .....	38
Figura 13 .....	39

# **ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.....	11
Tabla 2.....	21
Tabla 3.....	22
Tabla 4.....	27
Tabla 5.....	30
Tabla 6.....	32
Tabla A1 .....	64
Tabla A2.....	65
Tabla A3 .....	67
Tabla A4.....	68
Tabla A5.....	69

# RESUMEN

En el presente trabajo se ha llevado a cabo un ensayo de alimentación con juveniles de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) con el objetivo de evaluar los posibles efectos a largo plazo que puede tener un pulso de alimentación con dietas funcionales suplementadas con dos niveles de inclusión de la macroalga *Ulva rigida* (U5 y U10) o de una mezcla de microalgas (M5 y M10) sobre la calidad y la duración de la vida útil en refrigeración de los filetes de rodaballo tras mantenerlos 6 meses en congelación. Los efectos en diferido de estas dietas se compararon con los de una dieta control (CT), con alto contenido en harina y aceite de pescado y una dieta comercial específica (SK) para esta especie. El pulso de alimentación con las dietas funcionales fue de 90 días, y seguidamente, todos los peces se alimentaron con el pienso comercial SK durante 5 meses más hasta alcanzar un tamaño corporal próximo al estándar comercial. Posteriormente, los peces fueron sacrificados y se extrajeron los filetes del flanco pigmentado del pez, y éstos se conservaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 6 meses, y una vez transcurrido este tiempo, fueron descongelados y se realizó un análisis de la composición proximal y del perfil de ácidos grasos del músculo, así como un seguimiento de la evolución *post descongelación* de los parámetros de calidad organoléptica instrumental durante 10 días de almacenamiento en refrigeración a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Los resultados obtenidos indicaron *grosso modo* que un pulso de administración puntual de 90 días de las dietas enriquecidas con algas indujo a largo plazo cambios significativos tanto en la calidad nutricional como en la organoléptica de los filetes de rodaballo. A este respecto, la inclusión de un 10% de biomasa de *Ulva rigida* aumentó el contenido en proteínas del músculo a la vez que disminuyó el de lípidos en el filete, mejorando el perfil de ácidos grasos y los índices de calidad lipídica del mismo. Además, se observó una influencia positiva sobre los parámetros texturales. El uso de algas en general (macro y microalgas) mejoró la respuesta antioxidante del músculo a lo largo de todo el periodo de estudio, prolongando la vida útil del filete de rodaballo descongelado durante su almacenamiento en refrigeración. También se comprobó que un pulso de alimentación de tres meses con los piensos enriquecidos con algas modificó la pigmentación de la piel y del filete del pescado. Por otro lado, la estrategia basada en la administración temprana de una dieta rica en harina de pescado durante la fase juvenil por 90 días, seguida de una alimentación con un pienso comercial con alto contenido en materias vegetales también afectó positivamente a la calidad del producto final, con valores comparables a los obtenidos con la dieta U10.

De esta manera, los resultados obtenidos indican que un pulso de alimentación de tres meses con dietas suplementadas con algas durante el preengorde de rodaballo puede ser una estrategia prometedora para mejorar la calidad nutricional y organoléptica del filete congelado de rodaballo, así como para extender su vida útil durante la etapa post-descongelación.

# AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido llevada a cabo en el marco del Convenio entre la Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas M.P., a través del Instituto Español de Oceanografía, y la Universidad de Almería para realizar el proyecto “*Desarrollo y optimización de nuevos piensos funcionales, basados en el uso de harinas de algas y probióticos, para el engorde de rodaballo (ALGADIET II)*” financiado por la Convocatoria del Programa pleamar 2019 de la Fundación Biodiversidad del Ministerio para la Transición Ecológica.

También se quiere agradecer la colaboración recibida por parte del proyecto DORALGAE (RTI2018-096625-B-C31) financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, y del proyecto AquaTech4Feed (PCI2020-112204) financiado en el marco de la convocatoria BLUEBIO-ERAMET-cofund para la obtención de las biomasas microalgales y el apoyo económico en la realización de algunos de las analíticas realizadas en este estudio.

# I. INTRODUCCIÓN

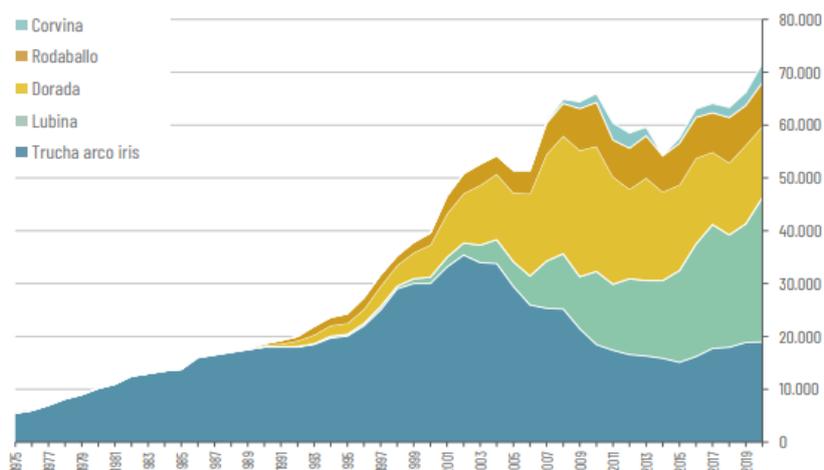
## I.1. La acuicultura mediterránea

La acuicultura es la producción en el agua de animales y plantas mediante técnicas encaminadas a hacer un uso más eficiente de los recursos naturales e incrementar el rendimiento del cultivo (APROMAR, 2020). En las últimas décadas, la producción acuática mundial se ha visto aumentada casi doce veces (Burr *et al.*, 2005; FAO, 2016; APROMAR, 2020). La eficiencia en la explotación de los caladeros y las nuevas tecnologías aplicadas en la pesca han hecho que se llegue a máximos niveles de explotación sostenible de los recursos pesqueros silvestres cuyos valores están estancados desde 1995, pero la acuicultura es la actividad que hoy en día muestra un mayor crecimiento como consecuencia del aumento de la demanda de productos acuáticos. Como consecuencia de ello, en 2018, la producción acuícola superó, por sexto año consecutivo, a la producción de pesca extractiva (APROMAR, 2020).

La resolución satisfactoria de los grandes retos que presenta hoy la acuicultura, requieren de iniciativas de investigación e innovación que estén enfocadas en optimizar su eficiencia y productividad. Para ello, es necesario mejorar el conocimiento sobre:

- » El mantenimiento de la buena salud de los animales cultivados.
- » La optimización de los piensos específicos para cada especie y etapa del ciclo de producción.
- » La búsqueda de materias primas de origen sostenible y fácil escalado industrial.
- » La mejora en la gestión de granjas acuícolas.
- » La diversificación de especies.

España es el estado miembro de la Unión Europea con la producción de acuícola más alta, con una cifra que asciende a 342.867 Tm en 2019. El principal producto obtenido es el mejillón, con 261.513Tm, seguido por la lubina (27.335 Tm), la trucha arco iris (18.955 Tm) y la dorada (13.521 Tm) (**Figura 1**).



**Figura 1.** Evolución de la producción de peces de acuicultura en España, en toneladas y para las principales especies, en el periodo 1975-2020P (MAPAMA y APROMAR, 2020)

## I.2. La producción de rodaballo

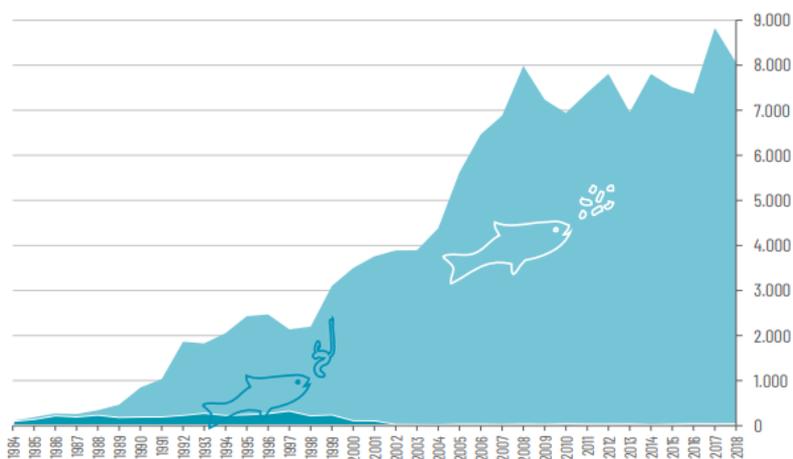
El rodaballo es un pez plano de cuerpo asimétrico y casi redondo que posee los ojos, pequeños, sobre el lado izquierdo (**Figura 2**). Su piel, carente de escamas, posee protuberancias óseas distribuidas desigualmente. Sobre los costados dorsal y ventral se expanden ampliamente las aletas, dorsal y anal. El lado ciego (derecho) posee un color blanquecino, mientras que el izquierdo tiene una coloración variable, generalmente café-grisácea con puntos oscuros (FAO, 2021). Posee un alto valor comercial ya que es muy apreciado por su carne magra, blanca y firme (Garza-Gil *et al.*, 2009).



**Figura 2.** Rodaballo (*Scophthalmus maximus*)

A nivel mundial, el rodaballo se produce en un 90% en mediante acuicultura (58.798 Tm), procediendo el resto de la pesca extractiva (6.509 Tm en 2018). En 2019, la producción de rodaballo en España fue un 10,8% superior a la del año anterior, obteniéndose un total de 8.258 Tm. La única comunidad autónoma productora de esta especie fue Galicia (APROMAR, 2020) (**Figura 3**).

Al igual que en otras especies, la escasez de rodaballo silvestre capturado por embarcaciones españolas cada vez es mayor.



**Figura 3.** Evolución de las fuentes de obtención de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) en España: acuicultura y pesca, para el periodo 1984-2018 en toneladas (MAPAMA-FAO, 2020)

### I.3. Parámetros que definen la calidad del pescado

Según la FAO (2021), el término calidad hace referencia a la apariencia estética y la frescura, así como está relacionado con el grado de deterioro que ha sufrido el pescado. También puede involucrar aspectos de seguridad como el contenido excesivo de recuentos microbianos, parásitos o compuestos químicos.

Como se puede extraer de la definición anteriormente comentada, el concepto de calidad es amplio y complejo ya que abarca diferentes aspectos, como son:

- » Calidad nutricional
- » Calidad organoléptica
- » Calidad higiénico sanitaria
- » Calidad tecnológica

La calidad se ve muy afectada tras la muerte del pez ya que una vez que ocurre, comienza su descomposición. Ésta es el resultado de complejas transformaciones que se

llevan a cabo debido a sus propias enzimas, bacterias y reacciones químicas. Las reacciones enzimáticas, sobretodo, influyen en los cambios de sabor que ocurren durante los primeros días de almacenamiento, antes de que se haya manifestado claramente la putrefacción bacteriana (Graham *et al.*, 1993).

### I.3.1. Calidad nutricional

La composición química de los peces varía en función de la especie, así como dentro de una misma especie. Alguno de los parámetros que influyen en su diferenciación son: la edad, el sexo, el propio entorno y la estación del año (Huss, 1998). El pescado es considerado una fuente de proteínas de alta calidad debido a su alto contenido en aminoácidos esenciales, así como de ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales necesarios en la dieta humana (Nettleton y Exler, 1992).

Los principales constituyentes del músculo del pescado y su variación normal aparecen recogidos en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Principales constituyentes (g/100 g sustancia fresca, sf) del músculo de pescado (FAO, 1998)

Constituyente (g/100 sf)	Pescado (filete)
Proteínas	16 – 21
Lípidos	0,2 - 25
Carbohidratos	< 0,5
Cenizas	1,2 – 1,5
Agua	66 - 81

Las **proteínas** presentes en el músculo del pez pueden dividirse en tres grupos:

- » Proteínas estructurales o miofibrilares
- » Proteínas sarcoplasmáticas
- » Proteínas del tejido conectivo

Las proteínas estructurales (actina, miosina, tropomiosina y actomiosina) representan el 70-80 % del contenido total. Son las responsables de los movimientos musculares ya que constituyen el aparato contráctil.

Las proteínas sarcoplasmáticas (mioalbúmina, globulina y enzimas) constituyen una fracción de 25-30 % del total de proteínas. La mayor parte de este grupo participa en las funciones del metabolismo celular.

Las proteínas del tejido conectivo (colágeno) constituyen un 3% del total, en teleósteos y cerca de un 10% en elasmobranquios. Forman una delicada estructura de redes, más o menos compleja, según los diferentes tipos de tejido conectivo.

Los **lípidos** presentes en las especies de peces óseos pueden dividirse en dos grupos:

- » Fosfolípidos
- » Triglicéridos

Los primeros constituyen la estructura de la unidad de membranas en la célula, y por ello, se les puede denominar lípidos estructurales. La función de los triglicéridos es el almacenamiento de energía en depósitos de grasa (Huss, 1998).

La importancia de los lípidos del pescado en la dieta humana se debe al aporte de ácidos grasos esenciales que no se pueden sintetizar, sino que deben de ser ingeridos a través del alimento. Según la longitud de la cadena de carbonos, y el número y posición de dobles enlaces se pueden clasificar de la siguiente forma:

- » Si el primer enlace doble se encuentra en el carbono 3 (C-3), nos referimos como ácidos grasos poliinsaturados omega 3  
Los más importantes de esta familia: alfa-linolénico (ALA, 18:3n3), ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n3) y ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5n3)
- » Si el primer enlace doble se encuentra en el carbono 6 (C-6), nos referiremos como omega 6  
Los más destacables de esta familia: ácido linoleico (LA, 18:2n6), ácido gammalinolénico (GLA, 18:3n6) y ácido araquidónico (ARA, 20:4n6)

Los peces son una de las fuentes de ácidos grasos polinsaturados (PUFAs) n-6 (ácido araquidónico, AA) y n-3 (ácidos eicosapentanoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA)) más importantes en la dieta humana. Sin embargo, la síntesis de estos compuestos desde los ácidos grasos esenciales linoleico y linolénico requiere diversas etapas de desaturación y elongación de los mismos. En los peces marinos, esta vía de transformación es poco efectiva, por lo que éstos no son capaces de producir PUFAs de cadena larga en niveles fisiológicamente significativos debido a una aparente deficiencia en una o más etapas de la ruta metabólica (Turchini *et al.*, 2010). Debido a su alto contenido en PUFAs n-3 de cadena larga, el **aceite y la harina de pescado** se han utilizado tradicionalmente como la principal fuente de lípidos para los peces de acuicultura. Sin embargo, la continua presión sobre las poblaciones de peces silvestres ha terminado por limitar la disponibilidad, y, por consiguiente, aumentar los precios de la harina de pescado, lo que ha llevado a su sustitución por harinas y aceites vegetales que presentan un alto contenido en ácido linoleico, omega 6 (LA, 18:2n-6), frente al alto

contenido en PUFAs n-3, ácido linolénico (LNA, 18:3n-3), eicoxapentanóico, EPA (20:5n-3) y docohexanóico, DHA (22:6n-3) que posee la harina y aceite de pescado, lo cual genera una ligera merma en la calidad del pescado desde la perspectiva de la nutrición humana (Turchini *et al.*, 2013).

Dado que el cuerpo humano es incapaz de sintetizar los ácidos grasos PUFAs n-3 (ALA, EPA, DHA), es necesario también ingerirlos mediante el consumo de alimentos que los contengan, por lo que se pueden considerar tanto al EPA como DHA como ácidos grasos semiesenciales. Además, a ambos ácidos grasos se les ha atribuido efectos beneficiosos sobre la salud humana. En este sentido, el DHA desempeña un papel estructural en las membranas celulares y contribuye al crecimiento y el desarrollo normales, mientras que el EPA ayuda a regular las vías inflamatorias e inmunológicas (Piñeiro-Corrales *et al.*, 2014). Es por esto que la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) recomienda una ingesta para ambos ácidos grasos de cadena larga (EPA y DHA) de 500 mg diarios, lo que a efectos prácticos se traduce en el consumo de al menos 2 raciones de pescado a la semana. Sin embargo, es habitual que estas recomendaciones no se alcancen en las dietas de la sociedad occidental industrializada (Mataix, 2004; Arterbum *et al.*, 2006; Lin *et al.*, 2010).

Las **vitaminas** contenidas en el pescado pertenecen al grupo de las liposolubles e incluyen: vitamina A, D, E y K. La vitamina A tiene un fuerte poder antioxidante, así como la vitamina E. Por otro lado, la vitamina D que actúa como reguladora del metabolismo y se encuentra en mayor cantidad en los pescados más grasos. La vitamina K interviene, fundamentalmente, en el proceso de coagulación (Traverso y Avdalov, 2014).

Existe una amplia gama de **minerales** presentes en el pescado: calcio, fósforo, potasio, sodio, magnesio, hierro, yodo, cloro, zinc, entre otros; todos ellos relevantes en la nutrición humana ya que contribuyen en funciones vitales como la formación de huesos, producción de hormonas, etc.(Traverso y Avdalov 2014).

### **I.3.2. Calidad organoléptica instrumental**

Dentro de las características sensoriales, los parámetros de **textura** son determinantes en la aceptación del pescado por el consumidor. La textura depende de una serie de condicionantes: edad, estación del año, especie, fotoperiodo, contenido y distribución de grasa muscular, metodología de fileteado, pH, acortamiento post-mortem y propiedades de almacenamiento (Férrandez *et al.*, 1992; Bagni *et al.*, 2007; Lefevere *et al.*, 2008; Poli *et al.*, 2009; Roth *et al.*, 2009; Hardy y Lee, 2010).

Muchos de los autores afirman que el *rigor mortis* es uno de los cambios más importantes. Es ahí cuando se produce un endurecimiento del pescado, que se debe a la

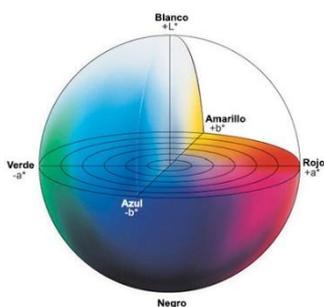
contracción muscular, y que desemboca en la pérdida de firmeza durante la conservación en frío. No obstante, los cambios debidos al *rigor mortis* en los peces no son drásticos como en el músculo del mamífero, debido a sus características que difieren sustancialmente (Haard, 1992).

Por otro lado, dentro de los parámetros relacionados con la textura destaca por su importancia la **capacidad de retención de agua** (CRA), que por sí misma juega un papel esencial en la aceptación del producto y su valor comercial (Olsson *et al.*, 2003).

La CRA mide la habilidad el músculo para retener el agua libre, por capilaridad y fuerzas de tensión. Está directamente relacionado con la jugosidad, así cuando el pescado posee una alta CRA, es jugoso y por ello obtendrá una alta puntuación en un análisis sensorial.

El **color**, tanto del músculo como de la piel, es un atributo sensorial crítico que determina el valor en el mercado. Una piel de color pálido indica buena calidad, sin embargo, una piel con coloración oscura se asocia a un almacenamiento prolongado en el tiempo (Hardy y Lee, 2010; Sefc *et al.*, 2014).

En 1976 se desarrolló un sistema para expresar el color de forma numérica, el espacio  $L^*a^*b^*$ . Fue creado por la Commission Internationale de l'Éclairage (Comisión Internacional de la Iluminación - CIE); y actualmente es uno de los más comunes para la medición de colores en casi todos los campos. Los colores se pueden expresar haciendo referencia a su tono (color), luminosidad (claridad) y saturación (viveza). En dicho espacio,  $L^*$  expresa luminosidad o claridad;  $a^*$  hace referencia a la desviación del punto acromático, si los valores son positivos colorea en rojo, mientras que si son negativos colorea en verde;  $b^*$  se desplaza hacia el color amarillo con valores positivos y hacia el color azul con valores negativos (**Figura 4**).



**Figura 4.** Espacio de color  $L^*a^*b^*$

Esta propiedad se debe a la deposición de pigmentos en ambas partes del pez. Astaxantina y cantaxantina son dos de los principales carotenoides de mayor interés en

la alimentación del pescado que no pueden ser sintetizados por los animales, y deben de aportarse a través de la dieta (Hardy y Lee, 2010).

Aplicado a calidad en el filete, los cambios que se producen *post-mortem* pueden vincularse con modificaciones en la reflexión de la luz. Algunos de los cambios (desnaturalización de proteínas, aumento de sustancias procedentes de oxidaciones,...) hacen que el contenido graso se vea elevado, y como consecuencia el color del filete más intenso. De esta manera, se podría utilizar la evaluación del color como instrumento de medida para hacer un seguimiento del deterioro de los lípidos en el músculo (Karlsdottir *et al.*, 2014).

### I.3.3. Calidad higiénico-sanitaria

La calidad higiénico-sanitaria engloba los aspectos de salubridad relacionados con el consumo del pescado (ausencia de microbios (según límites propios), bajo contenido en contaminantes y sustancias prooxidantes,...)

En relación con ella existen dos problemas principales:

- » Altos recuentos microbianos.
- » Oxidación de lípidos y generación de productos secundarios.

En un pez, los **microorganismos** están presentes en todas las superficies externas (piel y branquias) y en los intestinos. El músculo de un pez sano es estéril, ya que posee un sistema inmunológico que previene el crecimiento de bacterias. Una vez que el animal muere, el sistema inmunológico colapsa y las bacterias son capaces de proliferar libremente. En primer lugar, las bacterias colonizan la base de las escamas; y es durante el almacenamiento, cuando las bacterias consiguen invadir en el músculo adentrándose entre las fibras musculares. Cuando el total de microorganismos en la superficie de la piel alcanza un valor superior de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>, éstos pueden ser detectados también en el músculo (Ruskol y Bendsen, 1992).

Debido a que solo un cierto número de microorganismos son capaces de invadir el músculo, el deterioro probablemente sea una consecuencia de la difusión externa de nutrientes; así como de una difusión de enzimas bacterianas hacia el interior (Huss, 1998).

El recuento de microorganismos aeróbicos totales (TAC), representa, si se efectúa mediante métodos tradicionales, el número total de bacterias capaces de formar colonias visibles en un medio de cultivo a una temperatura dada. Este dato es difícilmente un buen indicador de la calidad sensorial o de la expectativa de duración del producto (Huss *et al.*, 1995). La vida útil del pescado, mediante este tipo de recuentos está fijada por la Comisión Internacional para las Especificaciones Microbiológicas en Alimentos

(ICMSF, 1986) en 7 log UFC/g, que en peces de acuicultura puede traducirse en una media de 10 días, en función de diferentes factores previos y posteriores al sacrificio de los mismos. El sustrato más comúnmente usado para los recuentos totales es el agar para recuento en placa (PCA).

En los lípidos del pescado ocurre una reacción de gran importancia en el deterioro de la calidad: **la oxidación**. Esto se debe a la gran cantidad de ácidos grasos poliinsaturados que posee, ya que son altamente susceptibles. Tiene lugar a nivel celular, y mientras la célula esté viva, el pez posee algunos mecanismos de protección (enzimas, vitamina E). La síntesis de la enzima peroxidasa requiere un aporte de aminoácidos para su síntesis pero una vez que el pez muere y la enzima se agota, la protección cesa (Huss, 1998).

Durante el almacenamiento del pescado se forman productos de oxidación debido, en parte, a la presencia de algunos compuestos prooxidantes endógenos como la hemoglobina. Los productos generados tras la oxidación de los lípidos del pescado pueden generar efectos nocivos en los humanos. La importancia de éstos recae en los productos secundarios, sobretodo en el malondialdehído (MDA), ya que los productos primarios no se absorben de una manera fácil desde el intestino, y los efectos más perjudiciales aparecen en la mucosa gastrointestinal. Es por ello que los alimentos deben contar con una protección para reducir sus efectos perjudiciales.

#### **I.4. Efecto de las algas sobre la calidad del pescado**

En general, el ideal de calidad en el pescado es aquel que presenta los mismos atributos que el recién extraído del mar. En el caso del pescado de acuicultura, se debe cumplir esto y que además dichas características sean similares a los de sus homólogos procedentes de la pesca extractiva. Sin embargo, existen algunas características tanto sensoriales como nutritivas que hacen que los peces de crianza sean menos valorados que los salvajes por el consumidor, ya que suelen ser más blandos y suaves, tienen un mayor depósito de grasa perivisceral y un menor sabor (Huss, 1998).

No obstante, una de las principales ventajas que presenta la acuicultura es que se produce bajo condiciones controladas. De manera que mediante el conocimiento de factores de producción se pueden influenciar en las características del producto final. En este sentido, la alimentación es un factor clave que puede repercutir con mayor impacto sobre la calidad bromatológica y organoléptica del pescado, así como en su vida útil (Hardy y Lee, 2010).

En general, las especies cultivadas se suelen caracterizar por presentar un mayor contenido de lípidos, agua y glucógeno, y un menor contenido de proteínas, debido a que tienen una alimentación más abundante y energética respecto a los peces procedentes de pesca extractiva. Sin embargo, en unas especies se produce un

considerable aumento de los depósitos de lípidos viscerales, mientras que en otras aumentan los lípidos musculares. En relación con la calidad de los lípidos del filete, el perfil de ácidos grasos se va a ver influenciado directamente por las materias primas usadas en la elaboración de los piensos (Hardy, 2003).

Dentro de las diferentes alternativas a realizar para igualar estos atributos de calidad del pescado en estado salvaje a su homólogo cultivado se encuentran el uso de aditivos funcionales, los cuales a una baja concentración modifican diferentes parámetros cualitativos. Un ejemplo de este tipo de aditivos son las macro y microalgas. En este sentido, diferentes estudios han evaluado el uso de las algas obteniendo mejoras en la calidad del filete de diferentes especies de acuicultura (Gomes *et al.*, 2002; Lu *et al.*, 2003; Promya y Chitmanat, 2011; Teimouri *et al.*, 2013a y 2013b).

Se conoce como macroalga a aquellos organismos autótrofos que poseen una estructura simple, con poca o ninguna diferenciación celular, y cuyos tejidos son completos. Es por esto que se denominan talofitas. Se pueden clasificar taxonómicamente en tres grupos: clorófitas, feofíceas y rodófitas; haciendo referencia a sus colores, verde, marrón y rojo, respectivamente (Ibáñez y Herrero, 2017).

Mayoritariamente se componen de agua, pero en formato deshidratado pueden considerarse una fuente de proteínas y lípidos. En las algas verdes y rojas las proteínas pueden variar entre un 10-47% del peso en seco, mientras que en las pardas solo representan entre un 5-24%. En los lípidos, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) n-3 y n-6 componen una parte significativa del perfil lipídico (Ortiz *et al.*, 2006; Denis *et al.*, 2010; Gómez-Ordoñez *et al.*, 2010; Peña-Rodríguez *et al.*, 2011; Yaic *et al.*, 2011; Dawczynsk *et al.*, 2018).

Aparte de sus componentes nutricionales, contienen componentes bioactivos con gran capacidad antioxidante, como por ejemplo carotenoides y polifenoles (Ortiz *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010; Cho *et al.*, 2011, Chater *et al.*, 2015), así como fibra, vitaminas y polisacáridos, que han sido determinados como ingredientes funcionales (Valente *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2017).

Se ha descrito que el contenido de vitamina C en macroalgas (*Porphyra umbilicalis*, *Himanthalia elongata*, *Gracilaria* spp.) es mayor que en otros vegetales terrestres (tomate, lechuga,..) (Norziah y Ching, 2020). De la misma manera, las macroalgas pueden ser consideradas una fuente rica de vitamina B (B<sub>2</sub> y B<sub>12</sub>), vitamina A y vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) (Well *et al.*, 2017). Adicionalmente, se ha demostrado que los diferentes tipos de algas (verdes, pardas y rojas) poseen efectos antimicrobianos notables (Vatsos y Rebours, 2015).

Por otra parte, tanto las macroalgas como sus extractos han sido introducidos recientemente como una alternativa profiláctica y terapéutica para el control de las enfermedades infecciosas de los peces de cultivo (Naiel *et al.*, 2020).

El género *Ulva* se conoce comúnmente como “lechugas de mar”, debido a sus delgadas hojas que poseen un color verde brillante. Pueden crecer hasta 45 cm y habitualmente lo hacen en zonas intermareales de ambientes marinos, teniendo preferencia por los estuarios (Edward *et al.*, 2012). Las condiciones óptimas (temperatura, concentración de nutrientes) para su crecimiento pueden causar floraciones de algas llamadas “mareas verdes” que son un grave problema ambiental en varios países (Yabe *et al.*, 2008).

En cuanto a las microalgas, a diferencia de las macroalgas, son especies unicelulares. En las últimas décadas, se han evaluado distintas aplicaciones comerciales de su biomasa en cosmética, nutrición, o como combustibles. Su composición mayoritaria es agua, pero una vez deshidratadas, el contenido nutricional varía en función de las diferentes especies; y dentro de una misma especie también depende de varios factores como: el medio de cultivo, régimen de temperatura, disponibilidad de luz, etc.. El contenido proteico promedio ronda el 40% de peso seco, pero existe alguna especie como *Arthrospira platensis* (Cianobacteria) que puede llegar a contener hasta un 70% de proteína; en cuanto a la fracción lipídica, la mayoría de microalgas oscilan entre un 30-40 % pero los protocoides de *Auxenochlorella* sp. pueden acumular hasta el 70% de la biomasa seca como lípidos (Miao y Wu, 2004; Griffiths y Harrison, 2009).

Nutricionalmente no sólo contienen proteína y lípidos, también poseen otros compuestos funcionales como vitaminas (A, B1, B9 y E), minerales y otros componentes bioactivos con efectos funcionales (licopeno,  $\beta$ -caroteno, astaxantina,..) y sobre la calidad del filete (Fábregas y Herrero, 1990; Olaizola, 2000; Barsanti *et al.*, 2001; Pulz y Gross, 2004; Koller *et al.*, 2014). En este sentido, en algunos trabajos se han definido estos componentes de las microalgas como inmunoestimulantes naturales específicos y antimicrobianos que aumentan la resistencia frente a los patógenos acuáticos (Chamoonnart *et al.*, 2018).

Los géneros más cultivados son: *Chlorella*, *Tetraselis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis* (Yamaguchi, 1997; Apt y Behrens, 1999; Muller-Feuga, 2000).

No obstante, a día de hoy, los costes de producción de las algas en general pueden verse afectados por multitud de parámetros, entre ellos: biológicos (tasa de crecimiento, nivel de conocimientos técnicos requeridos), económicos (mano de obra, coste de secado, capital necesario para equipos). Todo ello hace que el coste de producción sea elevado y no pueda ser factible, desde un punto de vista económico, contemplar el uso de algas como macroingrediente en la formulación de los piensos para peces. No obstante, en los últimos años tanto las macro como las microalgas han ganado cierta relevancia en investigación acuícola debido a que un amplio número de publicados avalan que su inclusión de pequeñas cantidades (a modo de aditivo) puede ejercer un efecto positivo en los peces (Wan *et al.*, 2019). Entre estos beneficios destacan mayores índices de crecimiento (Yone *et al.*, 1986; Mustafa *et al.*, 1995; Wassef *et al.*, 2005; Marinho *et al.*, 2013), mejora del sistema inmune y de la respuesta frente situaciones de estrés

(Wassef *et al.*, 2005; Valente *et al.*, 2015), y mejoras en la calidad del filete (Valente *et al.*, 2015; Sáez *et al.*, 2020b).

En este sentido, dentro del proyecto ALGADIET I se evaluaron qué efectos producen diferentes dietas experimentales enriquecidas con un bajo nivel de inclusión (5 y 10 %) de una mezcla de microalgas o con la macroalga *Ulva* sp. en juveniles de rodaballo, y se han comparado frente a dos tipos de pienso control: i) uno experimental sin algas y ii) un pienso comercial utilizado en el engorde de esta especie. Los resultados obtenidos indicaron que la inclusión de algas en la alimentación del rodaballo no ejerce efectos negativos en el crecimiento tras tres meses de alimentación, observándose valores similares a los de los dos tratamientos control. Por lo tanto, la administración de piensos enriquecidos al 5 y 10 % con algas puede ser una estrategia de aplicación práctica adecuada para llevar a cabo en granjas de engorde, en tanto que permite reducir cierto nivel de ingredientes convencionales por estas otras materias primas más sostenibles. Resultados similares han sido obtenidos también en juveniles de dorada con otros aditivos basados en macro y microalgas (Vizcaíno *et al.*, 2016, 2018, 2019; Galafat *et al.* 2020; Sales *et al.*, 2020; Perera *et al.*, 2020).

No obstante, existe poco conocimiento acerca de si un pulso de administración puntual de estos piensos puede tener un efecto diferido y colateral en el tiempo una vez que se cesa su administración, afectando a la vida útil del filete cuando los ejemplares llegan a su tamaño comercial. En este sentido, los resultados obtenidos en un trabajo similar llevado a cabo en el grupo de investigación de Ecología Acuática y Acuicultura de la UAL (Sáez *et al.*, 2020b), demostraron que la administración de una dieta para juveniles de lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) con un 5% de *Ulva ohnoi* durante tres meses causó una mejora de la calidad y vida útil de los filetes de lenguado tras 6 meses de haber interrumpido la administración del pienso suplementado con macroalga.

Partiendo de estos antecedentes, la hipótesis del presente proyecto es que en rodaballo un pulso de administración de un pienso suplementado al 5 o al 10% con una mezcla de microalgas o de *Ulva rigida* durante tres meses (90 días), seguido de un periodo de alimentación adicional de 5 meses con una dieta comercial, puede tener un efecto positivo a largo plazo sobre la calidad y la duración de la vida útil de los filetes cuando éstos son congelados durante 6 meses.

## II. OBJETIVOS

En el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto diferido y a largo plazo que ejerce la administración puntual de dietas suplementadas con dos niveles de inclusión (5 y 10%) de la macroalga *Ulva rigida* o de una mezcla de microalgas sobre la calidad y la duración de la vida útil en refrigeración de filetes de una especie de alto valor comercial de la acuicultura española, como es el rodaballo (*Scophthalmus maximus*).

Los objetivos parciales en los que se desglosa este trabajo son:

- » Evaluar el efecto que tiene un pulso de administración temprana de diferentes piensos suplementados con biomasas algales (*Ulva rigida* o mezcla de microalgas) a dos niveles de inclusión (5 y 10%) sobre la composición proximal y el perfil de ácidos grasos del músculo de rodaballo.
- » Determinar el efecto diferido y a largo plazo de la administración de piensos suplementados con las algas sobre los cambios post-descongelación durante el almacenamiento en refrigeración de los filetes de rodaballo.

# III. MATERIALES Y MÉTODOS

## III.1. Biomasa algal

Se utilizó una mezcla de microalgas dulceacuícolas y marinas cedidas por la empresa LifeBioencapsulation S.L. (Spin-off de la Universidad de Almería).

En cuanto a la biomasa macroalgal se utilizó la especie *Ulva rigida* que fue cultivada en el Instituto Español de Oceanografía (Planta El Bocal, Santander). Todas las harinas algales fueron proporcionadas en el marco del proyecto ALGADIET I financiado por la fundación Biodiversidad.

## III.2. Elaboración de piensos experimentales

Las dietas experimentales incluyendo los distintos tipos de biomasa algal descritos anteriormente fueron elaboradas en el Servicio de Pienso Experimentales de la Universidad de Almería. Para ello, se sustituyó parte de la harina de pescado por la biomasa algal, elaborándose 4 dietas experimentales isoproteicas e isoenergéticas. Además, se preparó un pienso control, con una mezcla de ingredientes estándar, en el que no se incluyó biomasa algal, y también se evaluó un pienso comercial usado para esta especie (gránulo 5 mm). Las dietas experimentales, así como los ingredientes utilizados en cada una de ellas se muestran en las **Tablas 2 y 3**, respectivamente:

Tabla 2. Diseño de las dietas experimentales

<b>M-5</b>	Dieta que incluye un 5% de la mezcla de microalgas
<b>M-10</b>	Dieta que incluye un 10% de la mezcla de microalgas
<b>U-5</b>	Dieta que incluye un 5% de <i>Ulva rigida</i>
<b>U-10</b>	Dieta que incluye un 10% de <i>Ulva rigida</i>
<b>CT</b>	Pienso control con ingredientes estándar
<b>SK</b>	Pienso comercial para rodaballo

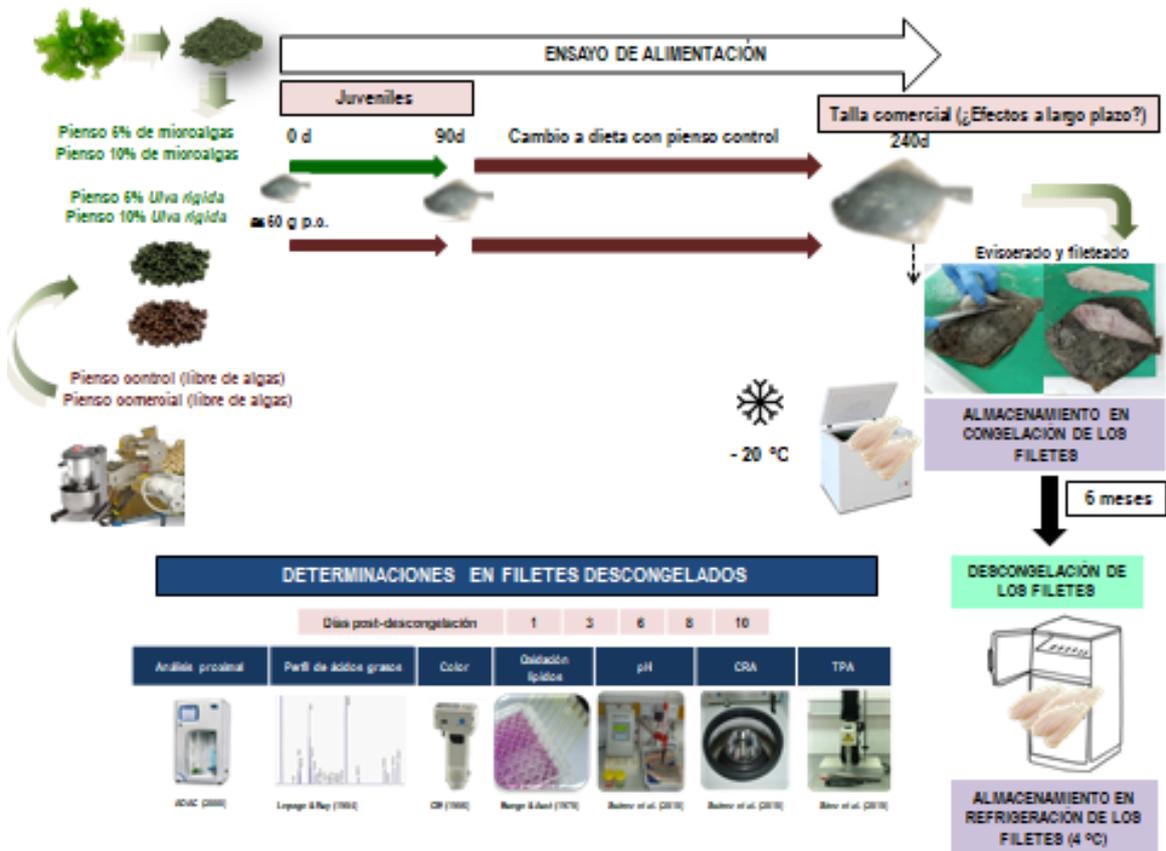
**Tabla 3.** Ingredientes de las dietas experimentales utilizadas en el ensayo de alimentación, en g/kg de pienso. Dieta control experimental (CT), con inclusión de harina de *Ulva rigida* por harina y aceite de pescado al 5 % y 10 % (U5 y U10 respectivamente) y de harina de microalgas por harina y aceite de pescado al 5 % y 10 % (M5 y M10 respectivamente).

Ingredientes	CT	M5	M10	U5	U10	SK
Harina de pescado LT97	372	336,8	302,6	349,9	327,8	
Biomasa algal	-	50	100	50	100	
Metionina + lisina	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	
Harina de calamar	30,2	30,2	30,2	30,2	30,2	
CPSP90	30,2	30,2	30,2	30,2	30,2	
Harina de krill	30,4	30,4	30,4	30,4	30,4	
Gluten de trigo	134,2	134,2	134,2	134,2	134,2	
Concentrado de soja	203,2	203,2	203,2	203,2	203,2	
Aceite de pescado	74,5	72,6	70,7	76,4	77,4	
Lecitina de soja	19,1	19,1	19,1	19,1	19,1	
Maltodextrina	56,4	43,9	30,6	27,7	0	
Cloruro de colina	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	
Betaína	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	
Vitaminas y minerales	14,3	14,3	14,3	14,3	14,3	
Vitamina C	1	1	1	1	1	
Goma guar	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	
Alginato	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	
Proteína bruta (%)	50,99±0,54	50,06±0,46	50,71±0,76	51,09±0,71	50,75±0,86	50,45±0,47
Lípidos totales (%)	16,65±0,39	16,49±0,07	16,7±0,22	16,96±0,25	16,65±0,39	19,56±0,13
Humedad (%)	4,51±0,16	4,73±0,22	5,08±0,54	6,81±0,63	6,18±0,35	6,07±0,17
Cenizas (%)	13,07±0,22	13,26±0,19	14,03±0,73	14,61±0,28	15,23±0,85	10,42±0,12

### III.3. Ensayo de alimentación y toma de muestras

El ensayo de alimentación (**Figura 5**) se llevó a cabo en la Planta de Cultivos Marinos El Bocal del Instituto Español de Oceanografía (Santander). Para ello se usaron juveniles de rodaballo (peso medio 50 g), los cuales se distribuyeron en tanques de 200 L en seis grupos experimentales, cada uno a su vez por triplicado (6 tratamientos x 3 tanques/tratamiento).

Los peces fueron alimentados con pellets de 4 y 5 mm de diámetro de manera *ad libitum*, distribuidos en 3 tomas a lo largo del día, durante un periodo de 90 días (3 meses). Una vez finalizado este periodo se prolongó el experimento por otros 5 meses más pero durante este tiempo todos los peces fueron alimentados con el pienso comercial (SK) hasta alcanzar la talla comercial (750 g), independientemente del tipo de pienso consumido en la etapa anterior.



**Figura 5.** Esquema del ensayo de alimentación y diseño experimental.

Al final del experimento, 8 meses después del comienzo del ensayo de alimentación, 20 peces de cada tratamiento experimental fueron sacrificados, eviscerados y fileteados (**Figura 6**). Los músculos dorsales superiores del lado pigmentado se envasaron, a razón de 4 filetes, en bolsas de polipropileno, las cuales se almacenaron a -20°C durante

6 meses. Una vez pasado ese tiempo, se enviaron, sin romper la cadena de frío, al laboratorio de Ciencia Animal II de la Universidad de Almería. Una vez allí, los filetes se almacenaron en una cámara fría a 4°C para realizar el seguimiento de los diferentes parámetros de calidad organoléptica durante 10 días post-descongelación.



Figura 6. Detalle del proceso de fileteado de los rodaballos.

### III.4. Análisis de la composición proximal y perfil de ácidos grasos del músculo

En el punto inicial post-descongelación (1 dpd) se tomaron muestras para analizar la composición proximal del músculo y el perfil de ácidos grasos (Rodríguez *et al.*, 1998). Para la composición proximal se determinaron los siguientes parámetros:

- » **Humedad:** La humedad se determinó por gravimetría, una vez pesadas las muestras frescas y desecadas en estufa a 105°C (Figura 7).

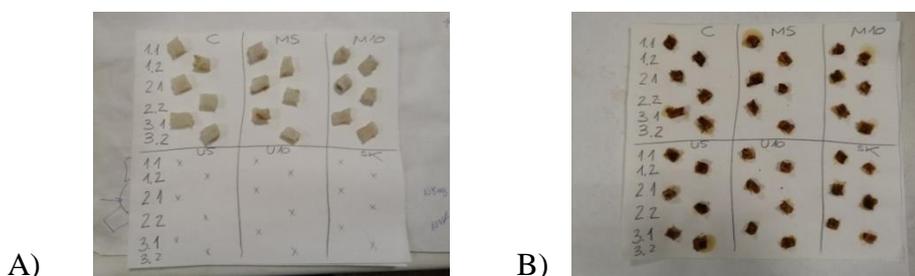


Figura 7. Muestras del músculo antes (A) y después (B) de la determinación de humedad en estufa a 105°C.

- » **Cenizas:** mediante un método gravimétrico, tras eliminación de la materia orgánica en horno mufla a 550°C durante 24 horas.
- » **Proteína bruta:** mediante la cuantificación del contenido en nitrógeno utilizando el método Kjeldahl.
- » **Lípidos totales:** mediante extracción por el método propuesto por Folch *et al.* (1957).
- » **Ácidos grasos:** para su cuantificación, se tomaron 150 mg de cada uno de filetes a analizar, a los que se añadió 1 mL de n-hexano y se procedió a cubrirlos por completo para evitar la evaporación de éste. A cada uno de los tubos, se

adicionaron 100 µL de una disolución de patrón interno (ácido pentadecanoico, C15:0) cuya concentración era 10 mg/mL.

Posteriormente, se agregó a cada tubo 1 mL de mezcla metilante (metanol y cloruro de acetilo 20:1 v/v), y se llevaron al termoblock 30 minutos a 100°C. Se lleva a cabo una fragmentación, gracias a la mezcla metilante, de los ésteres metílicos de los ácidos grasos y de los triglicéridos. Los ésteres son los que posteriormente serán identificados y cuantificados por cromatografía de gases (GLC). Una vez ocurrió la metilación, se agregó 1 mL de agua destilada para poder eliminar la fase de hexano con facilidad, y se centrifugó durante 5 minutos a 3500 g para suprimir las posibles impurezas de tipo físico. Se retiró la fase hexánica con las muestras y el patrón interno y se rellenó con ella viales aptos para el análisis de GLC previamente numerados. El cromatógrafo que se utilizó (**Figura 8**) es un modelo Focus GC (Thermo Electron Cambridge, UK) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Omegawax 250 (30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm de grosor de película (Supelco, Bellefonte, PA, USA). Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 250 °C y 260 °C, respectivamente. La GLC se ejecutó en modo “split”, con una relación de 50:1, siendo el nitrógeno el gas portador, con un flujo de 1 mL/min.



**Figura 8.** Cromatógrafo de gases

### Índices de Calidad Lipídica

Se procedió a determinar tanto el Índice Aterogénico como el Índice Trombogénico, según el método descrito por Ulbrich y Southgate (1991).

- Índice Aterogénico (IA): establece la relación entre la totalidad de los principales ácidos grasos saturados, considerados pro-aterogénicos, con la totalidad de los principales PUFAs n-3, considerados anti-aterogénicos.

$$IA = \frac{12:0 + (4 \cdot 14:0) + 16:0}{(n-6 + n-3) \text{ PUFA} + 18:1 + \text{suma de otros MUFA}}$$

- **Índice Trombogénico (IT)**: establece la predisposición que existe a la formación de coágulos de sangre en los vasos sanguíneos. Relaciona los AG “pro-trombogénicos”, es decir, los saturados, con los “anti-trombogénicos” (MUFAs, PUFAs n-6 y PUFAs n-3).

$$IT = \frac{14:0 + 16:0 + 18:0}{((0,5 * 18:1) + (0,5 * \Sigma MUFAs) + (0,5 * \Sigma PUFAs\ n-6) + 18:1 + (3 * PUFAs\ n-3) + (\frac{n-3}{n-6}))}$$

- **Índice de calidad lipídica (FLQ)**: indica la ratio entre la suma de los ácidos grasos EPA (20:5n3) y DHA (22:6n3), y el total de lípidos, expresados como mg por 100 g filete.

$$FLQ = (20:5n3 + 22:6n3) / \text{lípidos totales}$$

### **III.5. Estudio de la evolución de diferentes parámetros que definen la calidad organoléptica del músculo durante el almacenamiento del pescado en frío**

Se tomaron muestras de 4 filetes por tratamiento a los 1, 3, 6, 8 y 10 días post-descongelación (*dpd*). En cada punto de muestreo se realizaron las siguientes determinaciones:

- » Análisis del perfil de textura (TPA)
- » Capacidad de retención de agua (CRA)
- » pH
- » Pigmentación instrumental de la piel del músculo superior dorsal del lado ocular y del músculo
- » Estado de oxidación del músculo (TBARS)

#### **III.5.1. Análisis del perfil de textura (TPA)**

Este análisis puede determinar, de manera simultánea, la medición de varios parámetros de textura (firmeza, cohesividad, elasticidad, adhesividad, masticabilidad, gomosidad y resiliencia) (Szczesniak, 1975). Para ello se hace uso de un texturómetro (Texture Analyser TA-XT2) provisto de un software informático (Texture Expert, versión 1.19 para Windows).

Dichos parámetros se determinaron de acuerdo a lo recomendado por Abbot (1972) y Bourne (1978) (**Tabla 4**)

**Tabla 4.** Parámetros texturales en la determinación del análisis TPA

Velocidad pre-ensayo (mm s <sup>-1</sup> )	3
Velocidad de ensayo (mm s <sup>-1</sup> )	1
Velocidad post-ensayo (mm s <sup>-1</sup> )	3
Deformación (%)	75
Tiempo entre ciclos (s)	2
Distancia de calibración (mm)	30

A partir de la gráfica ofrecida por el equipo se obtuvo la curva fuerza/tiempo, y se determinaron los diferentes parámetros texturales comentados anteriormente:

» Firmeza (N)

Representa la fuerza necesaria para comprimir la muestra y producir el mayor pico durante dicha compresión. De esta manera se indica la resistencia de las fibras del músculo a la compresión sin rotura.

» Cohesividad

Parámetro adimensional que representa el grado en que la muestra puede ser deformada antes de alcanzar su punto de rotura. Indica, de esta manera, con qué fuerza están unidas las partículas. Su cálculo se realiza mediante la relación existente entre el área del segundo ciclo de compresión sobre el primero de éstos.

$$\text{Cohesividad (\%)} = \frac{A_2}{A_1} 100$$

» Elasticidad

Parámetro adimensional que indica el grado de recuperación de las dimensiones iniciales de la muestras tras eliminar la fuerza que las deforma. Su cálculo se realiza mediante la relación existente entre la longitud de la base del segundo ciclo sobre la longitud del primero de éstos.

$$\text{Elasticidad (\%)} = \frac{L_2}{L_1} 100$$

» Adhesividad

Indica el trabajo requerido para superar las fuerzas atractivas que existen entre la superficie del alimento y la superficie de los otros materiales con los que la comida entra en contacto.

» Fracturabilidad

Fuerza necesaria para que la muestra se desmorone, agriete o rompa.

» Masticabilidad (N m<sup>-2</sup>)

Indica el trabajo requerido para desintegrar un alimento antes de que éste sea tragado. Es el producto de cohesividad, firmeza y elasticidad.

Es el producto de cohesividad, firmeza y elasticidad.

- » Gomosidad ( $N\ mm^{-1}$ )

Representa la energía requerida para desintegrar un alimento antes de que éste sea tragado. Es el producto de la firmeza y la cohesividad.

- » Resiliencia ( $N\ mm^{-1}$ )

Capacidad de un producto para volver a la posición original.

### III.5.2. Capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retención de agua se determinó a través de la determinación del agua libre. Ésta, se determinó siguiendo la metodología descrita por Pastoriza *et al.* (1998), adaptándola a las características del músculo de rodaballo.

Tal y como se ve en la siguiente fórmula, el porcentaje de agua libre se calculó como la pérdida de agua en la centrifugación respecto al de la masa inicial de la muestra.

$$\text{Agua libre (\%)} = \frac{P_{inicial} - P_{centrifugación}}{P_{inicial}} 100$$

La CRA se calcula como el porcentaje de agua retenida por 100 gramos de músculo fresco.

$$\text{CRA (\%)} = \text{Humedad inicial (\%)} - \text{Agua libre (\%)}$$

### III.5.3. pH

Para medir el pH se utilizó un pH-metro (GLP 21 Crison) equipado con un electrodo de penetración (Crison cat. nº 52-32) que se inserta en el músculo ventral del pez.

### III.5.4. Pigmentación instrumental

Para determinar y darle un valor numérico a la pigmentación de los peces, tanto de la piel como del músculo, se utilizó un espectrofotómetro portátil KONICA-MINOLTA (modelo Chroma Meter CR-400) y se trabaja en espacio de color CIE  $L^*a^*b$  (CIE, 1976).

- »  $L^*$ : indica la cantidad de luz que refleja, siendo el valor de 100 blanco y 0 negro
- »  $a^*$ : los valores positivos indican coloración roja y los negativos verde
- »  $b^*$ : los valores positivos indican coloración amarilla y los negativos azul

Para poder obtener una mayor uniformidad en la medida, se realizaron tres mediciones en cada filete tanto en su piel del músculo superior dorsal del lado ocular como en su músculo.

### **III.5.5. Estado de oxidación del músculo (TBARS)**

Se evaluó la capacidad de los peróxidos para reaccionar con el ácido tiobarbitúrico (TBA) denominada por TBARS (tiobarbituric-reactive substances). El MDA, al igual que otros aldehídos, son productos derivados de la descomposición de lípidos oxidados, los cuales reaccionan en medio ácido con el ácido 2-tiobarbitúrico formando un complejo rojizo cuya concentración es proporcional a la absorbancia a 535 nm (Buege y Aust, 1978). Para ello se realizará una mezcla de muestras procedentes del músculo con el reactivo TCA-TBA-ClH-BHT, se medirá la absorbancia a 535 nm y los datos se expresarán mediante una curva patrón de MDA.

### **III.6. Análisis estadístico**

El efecto de las variables categóricas “*dieta*” “*tiempo de almacenamiento post-descongelación*”, y la interacción “*dieta x tiempo de almacenamiento post-descongelación*” se determinó en cada parámetro estudiado por medio de un análisis de modelo general lineal (GLM) usando el software específico (Statgraphics Plus 4.0, Statistical Graphics Corp., Rockville, Maryland). Las diferencias entre niveles de cada factor independiente se testarán con un test post-hoc LSD, y el efecto de las variables categóricas y su interacción sobre cada uno de los parámetros determinados se estimará mediante el test de Fisher’s. Salvo otra indicación, se considerará un nivel de significación del 95% para determinar diferencias estadísticas ( $p < 0,05$ ).

# IV. RESULTADOS

## IV. 1. Composición proximal

En la **Tabla 5** se muestran los resultados del análisis de la composición proximal del filete congelado de rodaballo a los 240 días del inicio del ensayo de alimentación, es decir, después de ser alimentados con las dietas experimentales durante 90 días y seguidos de 150 días de alimentación común para todos los lotes con un pienso comercial específico para esta especie.

Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias significativas en el contenido de cenizas o humedad del músculo entre los distintos tratamientos. Por otro lado, el contenido de proteína cruda si que se vio afectado por el tipo de pienso que consumieron los peces durante el pulso de alimentación recibido en el preengorde, observándose valores más altos para este parámetro en los peces alimentados con los piensos CT y U10, mientras que los valores más bajos se encontraron en el tratamiento M10. Inversamente, por su parte, el contenido de lípidos fue mayor en los lotes M10 y U5, mientras que los menores valores fueron observados en los músculos U10 y CT.

**Tabla 5.** Composición proximal del músculo de rodaballo a los 240 días tras finalizar el ensayo de alimentación en dos fases, i) una primera fase en la que los peces recibieron un pulso de alimentación de 90 días con el pienso correspondiente a su tratamiento, ii) una segunda fase de 5 meses de duración en la cual todos los peces consumieron pienso comercial (valores medios  $\pm$  SD, n=9).

	CT	M5	M10	U5	U10	SK	<i>p</i>
Proteína	19,80 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>	19,35 $\pm$ 0,05 <sup>cd</sup>	18,17 $\pm$ 0,59 <sup>a</sup>	18,63 $\pm$ 0,02 <sup>ab</sup>	19,59 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>	18,96 $\pm$ 0,00 <sup>bc</sup>	0,0039
Lípidos	1,45 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	2,29 $\pm$ 0,07 <sup>bc</sup>	3,57 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>	2,42 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	1,44 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	2,13 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	<0,0001
Ceniza	1,28 $\pm$ 0,07	1,30 $\pm$ 0,04	1,29 $\pm$ 0,04	1,32 $\pm$ 0,03	1,31 $\pm$ 0,00	1,32 $\pm$ 0,01	0,7259
Humedad	76,72 $\pm$ 2,78	78,47 $\pm$ 1,02	76,84 $\pm$ 1,22	78,15 $\pm$ 0,34	77,86 $\pm$ 0,48	76,73 $\pm$ 1,57	0,5353

**Códigos dietarios:** CT: pienso control; M5: pienso con el 5% de mezcla de microalgas, M10: pienso con el 10% de mezcla de microalgas; U5: pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*, M10: pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; SK: pienso comercial.

## IV.2. Perfil de ácidos grasos del músculo

En la **Tabla 6** se muestran los resultados del análisis del perfil de ácidos grasos del músculo congelado de los rodaballos. En general, se observó que un pulso de suplementación con algas durante el preengorde causó un efecto diferido sobre el perfil de ácidos grasos del músculo ( $p < 0,0001$ ).

Si se analizan los ácidos grasos por grupos, los resultados obtenidos evidenciaron que los músculos de los rodaballos de CT y U10 mostraron un mayor porcentaje de ácidos grasos saturados ( $\Sigma$ SFA) y poliinsaturados ( $\Sigma$ PUFA) respecto al resto de tratamientos. En cambio, los valores más bajos para estos dos grupos de ácidos grasos se obtuvieron en el tratamiento M10. Por el contrario, en los animales de M10 se cuantificaron mayores valores de ácidos grasos monoinsaturados ( $\Sigma$ MUFA), y en particular de 16:1n-7 y 18:1n-9, respecto a los demás tratamientos.

En el caso de los PUFAS, y en particular PUFAn-3, los valores más altos se obtuvieron en los peces de U10, mientras que en el caso de los PUFAn-6 no se apreciaron diferencias significativas entre ningunos de los tratamientos experimentales. Debido a esto, la administración de las dietas U10 y CT causó a largo plazo y en diferido un aumento de la relación n3/n6 en el músculo.

El contenido en EPA y DHA también fue significativamente superior en los músculos de CT y U10, al igual que ocurrió con el índice de calidad lipídica (FLQ), obteniéndose los valores más bajos en el músculo de M10. Por otro lado, el resto de índices que definen la calidad lipídica de un filete de pescado (IA e IT) no se vieron afectados al final del ciclo de producción por ninguno de los tratamientos experimentales.

**Tabla 6.** Perfil de ácidos grasos del músculo de rodaballo (*Scophthalmus maximus*). Valores expresados como % del total de ácidos grasos (n=3).

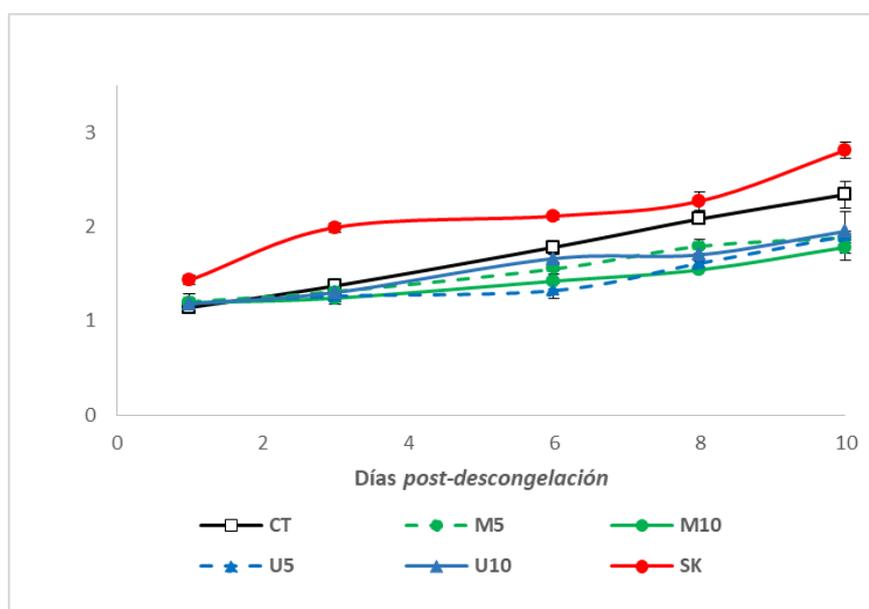
AGs	CT	M5	M10	U5	U10	SK	p
<b>14:0</b>	2,30 ± 0,12	1,84 ± 1,00	2,83 ± 0,00	2,53 ± 0,05	2,18 ± 0,06	2,58 ± 0,05	n.s.
<b>16:0</b>	15,02 ± 0,51 <sup>c</sup>	13,07 ± 0,06 <sup>ab</sup>	12,48 ± 0,20 <sup>a</sup>	13,54 ± 0,12 <sup>b</sup>	14,90 ± 0,20 <sup>c</sup>	13,63 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,0002
<b>18:0</b>	3,74 ± 0,07 <sup>c</sup>	3,09 ± 0,32 <sup>b</sup>	2,53 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,05 ± 0,08 <sup>ab</sup>	3,83 ± 0,03 <sup>c</sup>	3,10 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,0009
<b>16:1n7</b>	3,63 ± 0,13 <sup>a</sup>	3,86 ± 0,06 <sup>ab</sup>	4,03 ± 0,01 <sup>b</sup>	3,80 ± 0,07 <sup>ab</sup>	3,53 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,82 ± 0,08 <sup>ab</sup>	0,0084
<b>18:1n7</b>	2,64 ± 0,05	2,75 ± 0,09	2,80 ± 0,03	2,79 ± 0,02	2,72 ± 0,00	2,78 ± 0,02	n.s.
<b>18:1n9</b>	22,25 ± 0,54 <sup>c</sup>	24,41 ± 0,63 <sup>b</sup>	27,10 ± 0,26 <sup>c</sup>	24,08 ± 0,03 <sup>b</sup>	22,26 ± 0,05 <sup>a</sup>	24,04 ± 0,43 <sup>b</sup>	0,0002
<b>20:1n9</b>	3,31 ± 0,45	3,25 ± 0,58	3,65 ± 0,10	3,48 ± 0,05	3,59 ± 0,29	3,06 ± 0,01	n.s.
<b>18:2n6</b>	11,13 ± 0,24	12,10 ± 0,15	11,80 ± 0,10	11,86 ± 0,72	11,53 ± 0,11	12,10 ± 0,14	n.s.
<b>18:3n3</b>	2,79 ± 0,10 <sup>a</sup>	3,11 ± 0,03 <sup>ab</sup>	3,68 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,12 ± 0,16 <sup>a</sup>	2,97 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,19 ± 0,05 <sup>ab</sup>	0,0193
<b>16:2n4</b>	0,61 ± 0,03	0,61 ± 0,01	0,55 ± 0,00	0,44 ± 0,23	0,62 ± 0,02	0,26 ± 0,00	n.s.
<b>16:3n4</b>	0,43 ± 0,02	0,52 ± 0,01	0,64 ± 0,17	0,53 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,50 ± 0,02	n.s.
<b>18:4n3</b>	0,91 ± 0,09 <sup>ab</sup>	0,99 ± 0,01 <sup>ab</sup>	1,07 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,83 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,0008
<b>20:4n6</b>	1,26 ± 0,08 <sup>ab</sup>	1,33 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,19 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,0365
<b>20:4n3</b>	1,27 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,95 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,33 ± 0,07 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,01 ± 0,02 <sup>a</sup>	<0,0001
<b>20:5n3</b>	7,19 ± 0,28 <sup>c</sup>	6,60 ± 0,10 <sup>b</sup>	6,02 ± 0,11 <sup>a</sup>	6,42 ± 0,01 <sup>ab</sup>	6,93 ± 0,06 <sup>b</sup>	6,41 ± 0,09 <sup>ab</sup>	0,0013
<b>22:5n3</b>	2,25 ± 0,02 <sup>ab</sup>	2,36 ± 0,08 <sup>b</sup>	2,12 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,19 ± 0,04 <sup>a</sup>	2,36 ± 0,12 <sup>b</sup>	2,34 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,0344
<b>22:6n3</b>	14,96 ± 0,43 <sup>c</sup>	12,38 ± 0,26 <sup>a</sup>	9,30 ± 0,02 <sup>a</sup>	12,69 ± 0,26 <sup>b</sup>	16,12 ± 0,11 <sup>c</sup>	12,80 ± 0,35 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>Otros</b>							
<b>ΣSFA</b>	21,07 ± 0,69 <sup>c</sup>	18,00 ± 0,62 <sup>a</sup>	17,84 ± 0,28 <sup>a</sup>	19,12 ± 0,16 <sup>b</sup>	20,91 ± 0,29 <sup>c</sup>	19,31 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,0009
<b>ΣMUFA</b>	31,82 ± 0,28 <sup>a</sup>	34,27 ± 0,20 <sup>b</sup>	37,58 ± 0,37 <sup>c</sup>	34,14 ± 0,04 <sup>b</sup>	32,10 ± 0,17 <sup>a</sup>	33,70 ± 0,51 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>ΣPUFA</b>	41,76 ± 0,19 <sup>c</sup>	39,84 ± 0,54 <sup>b</sup>	34,51 ± 0,29 <sup>a</sup>	39,36 ± 0,80 <sup>b</sup>	43,23 ± 0,43 <sup>d</sup>	40,39 ± 0,10 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>Σn-3</b>	29,37 ± 0,02 <sup>c</sup>	26,40 ± 0,48 <sup>b</sup>	23,51 ± 0,18 <sup>a</sup>	26,41 ± 0,08 <sup>b</sup>	30,57 ± 0,36 <sup>d</sup>	27,04 ± 0,28 <sup>b</sup>	<0,0001
<b>Σn-6</b>	12,39 ± 0,16	13,43 ± 0,05	12,99 ± 0,11	12,94 ± 0,72	12,66 ± 0,07	13,35 ± 0,17	n.s.
<b>n3/n6</b>	2,37 ± 0,03 <sup>c</sup>	1,97 ± 0,03 <sup>ab</sup>	1,81 ± 0,00 <sup>a</sup>	2,04 ± 0,11 <sup>b</sup>	2,41 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,03 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,0001
<b>EPA/DHA</b>	0,48 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,53 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,43 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,50 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,0003
<b>IA</b>	0,33 ± 0,01	0,28 ± 0,06	0,32 ± 0,00	0,32 ± 0,00	0,31 ± 0,01	0,32 ± 0,00	n.s.
<b>IT</b>	0,19 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,18 ± 0,00	0,18 ± 0,00	0,18 ± 0,00	0,18 ± 0,00	n.s.
<b>FLQ</b>	22,15 ± 0,15 <sup>c</sup>	18,99 ± 0,36 <sup>b</sup>	15,32 ± 0,09 <sup>a</sup>	19,10 ± 0,25 <sup>b</sup>	23,05 ± 0,18 <sup>d</sup>	19,22 ± 0,26 <sup>b</sup>	<0,0001

**Códigos dietarios:** CT: pienso control; M5: pienso con el 5% de mezcla de microalgas; M10: pienso con el 10% de mezcla de microalgas; U5: pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*; M10: pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; SK: pienso comercial. SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados; EPA: ácido eicosapentaenoico; DHA: ácido docosahexaenoico. 1 IA: índice aterogénico = (12:0 + 4\*14:0 + 16:0)/[(n-6 + n-3) PUFAs + 18:1 + other MUFAs]; 2 IT: índice trombogénico = (14:0 + 16:0 + 18:0)/[(0.5\*18:1) + (0.5\*ΣMUFAs) + (0.5\*n-6 PUFAs) + (3\*n-3 PUFAs) + (n-3/n-6)]; 3 FLQ (%): índice de calidad lipídica = [(20:5n-3 + 22:6n-3)/lípidos T] x 100.

### IV.3. Oxidación lipídica

En la **Figura 9**, así como en la **Tabla A1** del apartado **Anexo I**, se muestran los resultados del análisis del contenido en sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en el músculo de rodaballo.

En general, la influencia de los piensos experimentales, el tiempo de almacenamiento, así como la interacción de ambos parámetros, afectaron significativamente a este parámetro ( $p < 0,0001$ ;  $p < 0,0001$ ;  $p < 0,0001$ , respectivamente). Inicialmente (1 día después de descongelación, *dpd*) se observó que en los músculos recién descongelados de los peces alimentados durante todo el periodo de alimentación (3 meses iniciales + 5 meses finales) con el pienso comercial (SK), los niveles de oxidación lipídica fueron significativamente mayores respecto a los obtenidos para el resto de tratamientos. Esta tendencia se mantuvo durante todo el periodo de almacenamiento en refrigeración. Por otro lado, la administración de piensos suplementados con algas (M5, M10, U5 y U10), independientemente del nivel de inclusión, causó a largo plazo y en diferido una mayor respuesta antioxidante en el músculo, respecto a lo observado en los tratamientos SK y CT. En el caso de CT, a partir de los 6 *dpd* y hasta el final del periodo de estudio, las diferencias fueron significativas respecto a lo observado en los músculos de los peces que fueron alimentados con dietas enriquecidas con algas (M5, M10, U5 y U10).



**Figura 9.** Evolución del contenido en sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) en el músculo descongelado de ejemplares de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) durante el almacenamiento en refrigeración (media  $\pm$ sd, n=5).

#### IV.4. Análisis del perfil de textura (TPA)

La **Figura 10** muestra los resultados del análisis del perfil de textura en los filetes de rodaballo de tamaño comercial tras su descongelación. En general, la influencia de la dieta y del tiempo de almacenamiento afectaron de forma significativamente ( $p < 0,0001$ ) a todos los parámetros texturales. En cambio, la interacción de las 2 variables no causó efecto estadístico sobre estos parámetros (**Tabla A2**, apartado **Anexo I**).

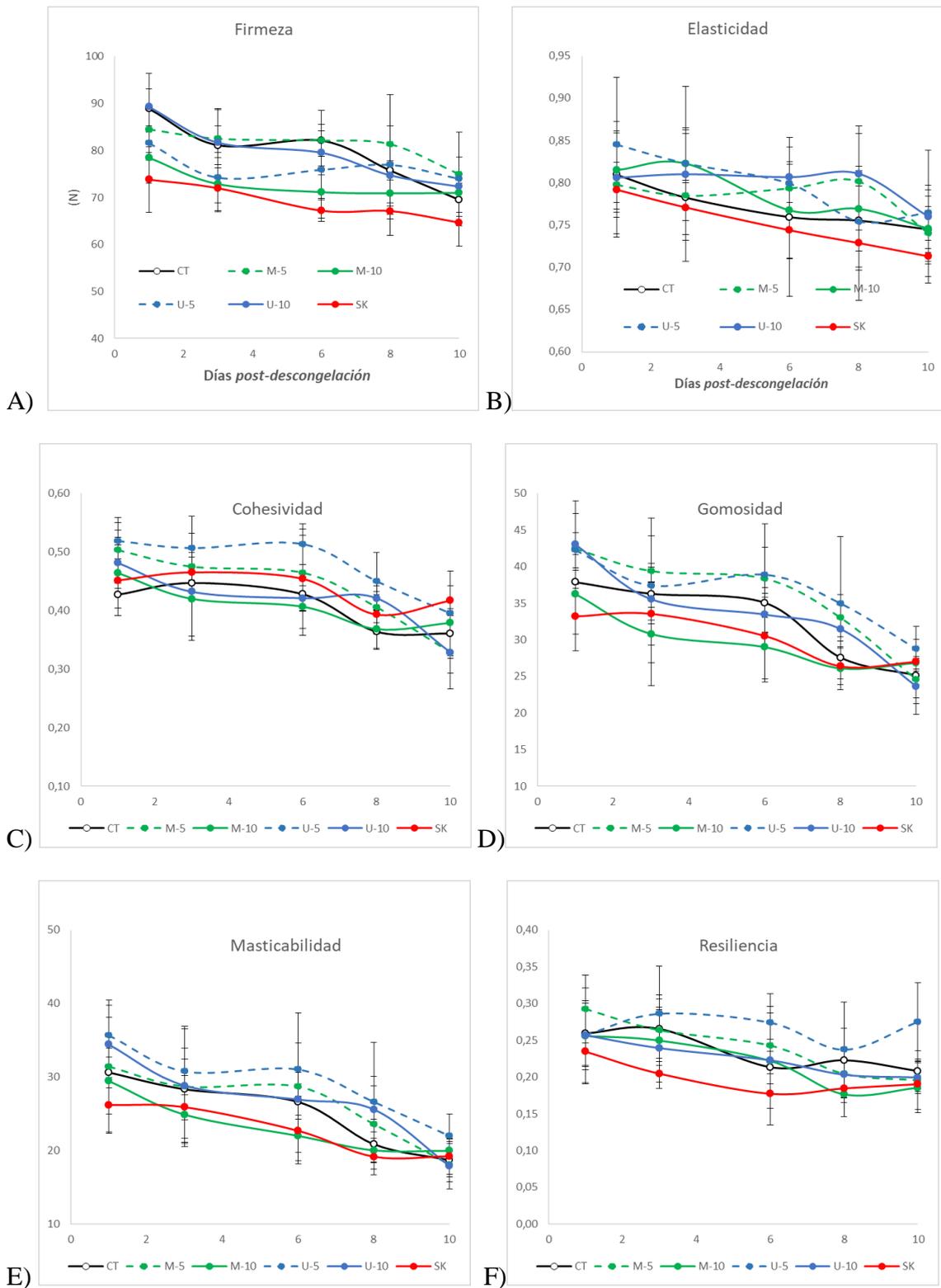
En cuanto al parámetro firmeza (**Figura 10.A.**), la inclusión de la biomasa algal, independientemente del origen y dosis, causó diferencias significativas durante los 8 primeros días de almacenamiento post-descongelación en refrigeración. *Grosso modo*, los filetes U10 y CT tendieron a ser más firmes, mientras que los procedentes de peces alimentados durante todo el tiempo (3 meses iniciales + 5 meses finales) con el pienso comercial mostraron siempre los valores más bajos respecto a los demás tratamientos dietarios. Por otro lado, este parámetro tendió a disminuir en todos los lotes evaluados, pero esta disminución sólo fue estadísticamente significativa en los filetes de los lotes CT, U10 y el pienso comercial.

El parámetro elasticidad (**Figura 10.B.**) no se vio influenciado ni por la dieta ni el tiempo de almacenamiento post-descongelación en ninguno de los lotes. En este sentido siguió la misma tendencia en todos ellos, disminuyendo levemente pero no significativamente conforme avanzaba su almacenamiento en refrigeración.

En cuanto a la cohesividad de los filetes, (**Figura 10.C.**) si se vio afectada a largo plazo por el tipo de dieta administrada en la etapa de preengorde (3 meses iniciales del ensayo), observándose valores más altos de manera generalizada en los filetes U5, aunque sólo fue significativa a los 1, 6 y 8 *dpd*. En cuanto a su evolución durante el almacenamiento en frío, en todos los lotes se observó una tendencia significativa a disminuir con el tiempo, excepto en los filetes M10 y SK en los cuales este descenso no fue estadísticamente significativo.

En cuanto a los parámetros gomosidad (**Figura 10.D.**) y masticabilidad (**Figura 10.E.**), éstos presentaron una tendencia similar, ambos influenciados por la dieta y el tiempo de almacenamiento. Si comparamos las diferentes dietas, en los filetes M5, U5 y U10 se obtuvieron valores generalmente superiores para ambos parámetros. El tiempo de almacenamiento también fue clave en la evaluación de la gomosidad y masticabilidad de los filetes, disminuyendo en todos los lotes de forma significativa.

Por último, en el parámetro resiliencia (**Figura 10.F.**) también se observó un efecto diferido de las dietas de preengorde. Nuevamente, si comparamos entre lotes, los valores más altos para este parámetro se encontraron en los filetes U5. En cuanto al tiempo de almacenamiento, este también tendió a disminuir con el mismo, siendo esta disminución sólo estadísticamente significativa en los filetes CT, M5 y SK.



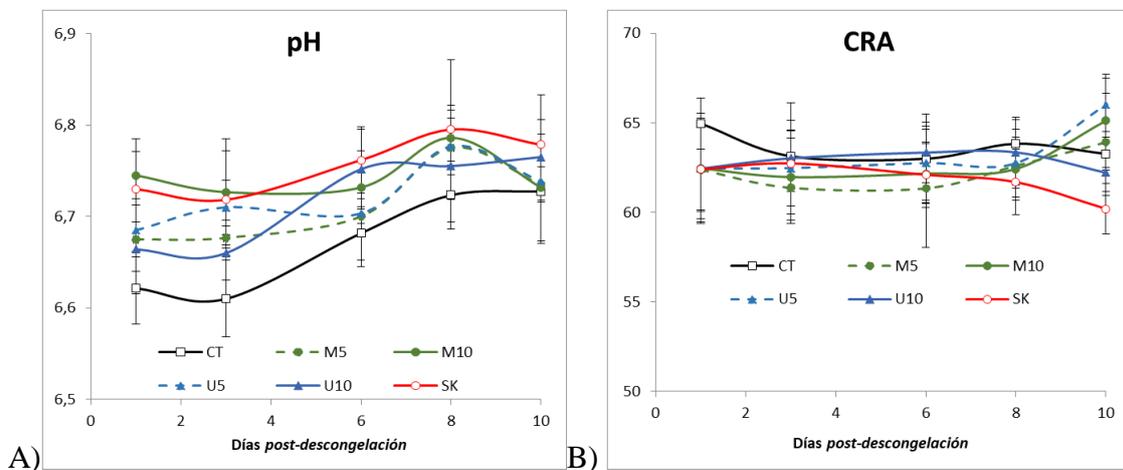
**Figura 10.** Cambios post-descongelación de los parámetros de perfil de textura de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

## IV.5. pH y capacidad de retención de agua (CRA)

La evaluación de los parámetros pH y CRA de los filetes de rodaballo congelados durante 10 días de almacenamiento en frío post-descongelación se muestran en la **Figura 11. A y B.**

En cuanto al pH (**Figura 11.A y Tabla A3**, apartado **Anexo I**), se vio influenciado por la dieta y el tiempo de almacenamiento ( $p < 0,0001$  y  $0,0001$ , respectivamente), aunque la interacción de las 2 variables no causó efecto estadístico. En general, el pH los filetes M10 y SK fue significativamente superior al de resto de lotes, siendo significativo este incremento durante los 6 primeros *dpd*. Con el tiempo de conservación en frío los valores de pH aumentaron en todos los lotes, excepto en M5 y SK en los cuales fueron altos desde el comienzo del estudio (*1dpd*).

La CRA no se vio afectada ni por la dieta, el tiempo de almacenamiento y la interacción de ambos ( $p < 0,0680$ ,  $0,04074$  y  $0,3561$ , respectivamente). En general, todos los lotes mostraron la misma tendencia, aunque en los filetes CT se encontraron valores superiores durante todo el tiempo de estudio, siendo sólo significativo a los 10 *dpd*.



**Figura 11.** Cambios post-descongelación del pH y la CRA de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

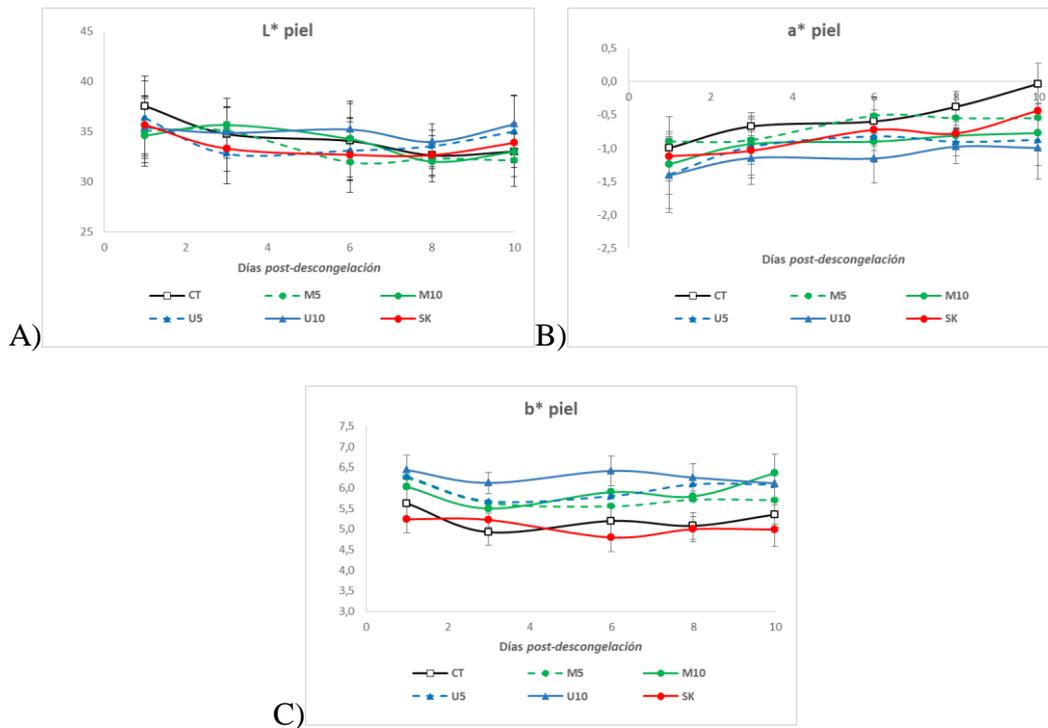
## IV.6. Medida instrumental del color

En las **Tabla A4** y **Tabla A5** se muestran los resultados de la pigmentación de la piel y el músculo, respectivamente, de los filetes de rodaballo congelados de tamaño comercial. En general, la influencia de la dieta y del tiempo de almacenamiento afectaron de forma significativamente ( $p < 0,0001$ ) a los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  a ambos lados del filete (piel y músculo). Por el contrario, la luminosidad ( $L^*$ ) sólo se influyó por el tiempo de conservación post-descongelación. La interacción de las 2 variables sólo causó efecto estadístico en los parámetros  $a^*$  y  $b^*$  del músculo.

En cuanto a la piel de los rodaballos, la evolución del parámetro  $L^*$  se presenta en la **Figura 12.A**. Como se ha dicho anteriormente, la dieta no afectó a la luminosidad de la piel, observándose valores similares en todos los lotes. No obstante, lo que sí se determinó en todos los tratamientos fue una tendencia a disminuir con el tiempo, siendo sólo significativa este descenso en la piel de los filetes CT y M5.

El parámetro  $a^*$  (**Figura 12.B**.) mostró valores negativos en todos los lotes, indicando una tonalidad verdosa en la piel de los mimos. No obstante, a partir de los 6 *dpd* la piel de los especímenes M10, U5 y U10 mostró una coloración más verdosa (menores valores de  $a^*$ ) que la del resto de los tratamientos, sobre todo respecto a los CT (con los mayores valores para este parámetro). Con el tiempo en refrigeración a 4°C, los valores tendieron a aumentar en todos los lotes, siendo sólo significativo en los peces CT, M5 y SK.

Por último, el parámetro  $b^*$  (**Figura 12.C**.) mostró valores positivos para todos los lotes, indicando una coloración amarillenta de los mismos. No obstante, se observó una influencia clara con efecto a largo plazo de los piensos suplementados con algas, mostrando valores superiores a los de CT y los alimentados con el pienso comercial. Para la inclusión de microalgas (M5 y M10) no se vio un efecto dosis dependiente, mientras que en el caso de la harina de *Ulva rigida* sí se encontró este efecto, con valores superiores en todos los puntos de muestreo en general en la piel de U10. El tiempo de almacenamiento disminuyó estadísticamente este parámetro sólo en los lotes CT, M5 y SK.

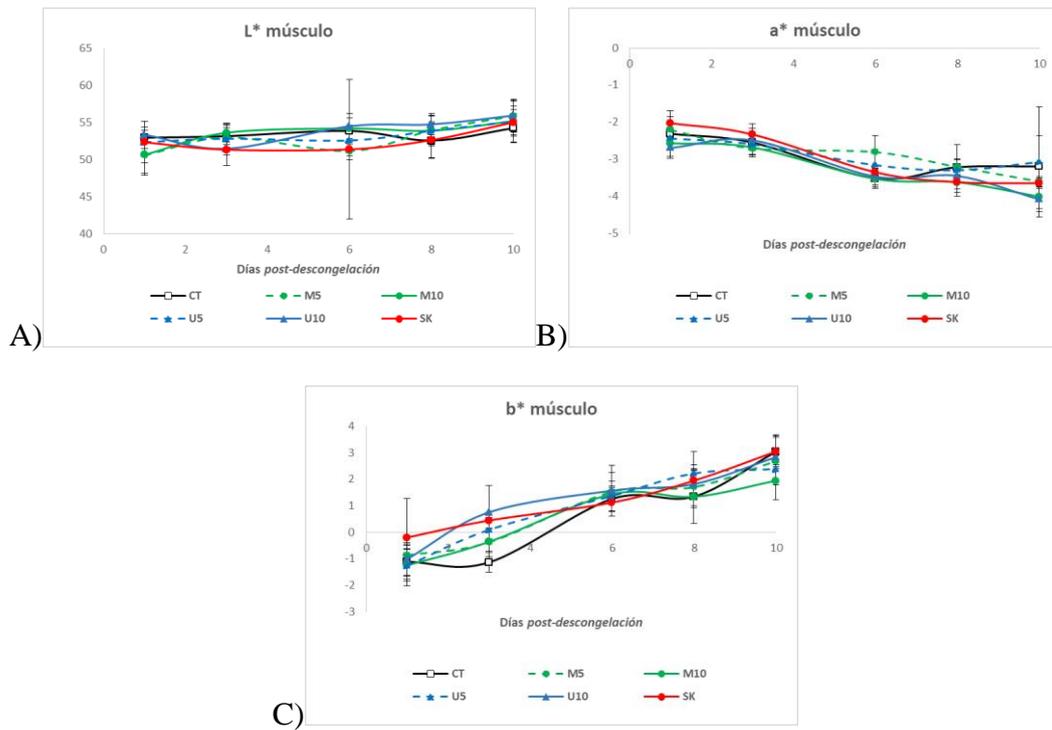


**Figura 12.** Cambios post-descongelación en los parámetros de color de la piel de los filetes de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

El parámetro L\* (**Figura 13.A.**) inicialmente se vio afectado por el tipo de dieta utilizado en el precondor (3 meses iniciales), siendo la cara del músculo del filete más luminosa en los lotes CT y U10. Con el tiempo, los valores de L\* aumentaron sólo en los lotes M5, M10 y U10, permaneciendo más o menos constantes en el resto.

El parámetro a\* (**Figura 13.B.**) mostró valores negativos para todos los filetes durante todo el tiempo de estudio, indicando una ligera tonalidad verdosa del músculo la cual aumento significativamente con el tiempo de almacenamiento. Si se comparan los diferentes lotes, en general los valores más bajos se obtuvieron en los peces alimentados con un 10% de algas (M10 y U10).

El parámetro b\* (**Figura 13.C.**) mostró valores negativos (tonalidades ligeramente azules) en la etapa inicial, virando a positivos (ligeramente amarillentos) a partir de los 3 y 6 *dpd*. La dieta afectó significativamente sólo de forma puntual, no observándose una tendencia clara para este parámetro, aunque en general los valores fueron más bajos para los filetes CT.



**Figura 13.** Cambios post-descongelación en los parámetros de color de la parte muscular de los filetes de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

## V. DISCUSIÓN

La acuicultura a nivel mundial está experimentando un crecimiento continuo ocasionando paralelamente un aumento en la demanda de materias primas para la fabricación de piensos, siendo aquellas de carácter proteico las más limitantes. Tradicionalmente se ha usado para este fin la harina de pescado (HP), pero actualmente se considera un recurso insostenible (Bell *et al.*, 2004; Turchini *et al.*, 2009; Kumar *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2021). Por esta razón, en las actuales fórmulas comerciales se está utilizando de manera selectiva la HP incrementándose el porcentaje de otras fuentes proteicas, principalmente de origen vegetal (Xu *et al.*, 2021). Las materias primas vegetales se caracterizan por tener un menor coste y su utilización se ha abordado de forma amplia en numerosas especies de peces cultivados como la dorada *Sparus aurata* (Izquierdo *et al.*, 2005; Benedito-Palos *et al.*, 2009; Díaz-López *et al.*, 2009; Fountoulaki *et al.*, 2009), lubina europea *Dicentrarchus labrax* (Montero *et al.*, 2005; Mourente *et al.*, 2005; Mourente y Bell, 2006), lenguado senegalés *Solea senegalensis* (Reis *et al.*, 2014). No obstante, los resultados obtenidos han sido dispares ya que distintos factores como el tipo de ingrediente, el tamaño de los peces y la duración del periodo de alimentación influyen de forma determinante en los resultados obtenidos. Otros inconvenientes derivados de su inclusión en el pienso a altos niveles es, en general, su menor digestibilidad, así como la presencia de factores antinutritivos que dificultan los procesos digestivos en los peces (Xu *et al.*, 2021).

Las algas, tanto macro como microalgas, se han postulado como un recurso sostenible y nutricionalmente adecuado para utilizarlas en la formulación de piensos para acuicultura. En este sentido, la biomasa algal ofrece un buen aporte proteico y lipídico. Por esta razón, diversos trabajos han evaluado su potencial como ingrediente para piensos acuícolas con resultados positivos en relación al crecimiento, así como el estado de condición general de los peces (Valente *et al.*, 2006; Cerezuela *et al.*, 2012; Vizcaíno *et al.*, 2014, 2015; Moroney *et al.*, 2015; Vizcaíno *et al.*, 2019).

No obstante, a día de hoy, su coste de producción, especialmente el de las microalgas, continúa siendo bastante elevado para ser consideradas como ingredientes convencionales, hecho que supone un obstáculo para su uso generalizado en las fórmulas comerciales (Osmond y Colombo, 2019). En este sentido, el interés práctico actual de esta biomasa algal reside en su utilización como aditivo funcional, pudiendo ejercer un efecto clave sobre ciertos aspectos más allá del crecimiento y del aporte de proteína, como son potenciando la respuesta antioxidante e inmune, o la calidad y vida útil del filete del pescado (Kiron, 2012). Esto es debido a que algunas algas, como por ejemplo ciertas especies del género *Ulva*, poseen un gran interés por su destacado contenido en lípidos, vitaminas, minerales, pigmentos, polifenoles, entre otras sustancias de carácter bioactivo (Ortiz *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2008; Wang *et al.*,

2010; Cho *et al.*, 2011, Chater *et al.*, 2015; Valente *et al.*, 2015; Ribeiro *et al.*, 2017). También las microalgas comparten bastantes de estos componentes funcionales atribuidos a las macroalgas, y por esta razón en los últimos años también se ha evaluado su potencial como aditivo tanto a nivel experimental (Abdel-Tawwab *et al.*, 2009; Cerezuela *et al.*, 2012; Vizcaíno *et al.*, 2014, 2016; Galafat *et al.*, 2020; Sales *et al.*, 2021) como a escala comercial (Perera *et al.*, 2020).

Respecto a su influencia sobre la calidad del filete, la mayoría de los estudios llevados a cabo han tenido como objetivo evaluar el efecto inmediato después de la administración de piensos de finalización suplementados con biomasa algal (Guroy *et al.*, 2012; Teimouri *et al.*, 2013; Moroney *et al.*, 2015; 2016; Valente *et al.*, 2016). No obstante, recientemente se ha observado que un pulso de alimentación en etapas más tempranas (preengorde) puede afectar a la calidad del producto final, incluso aunque esta administración se haya interrumpido en la fase final, y no haya sido continuada hasta el final de ciclo de producción. En relación con esto, hay otro estudio similar realizado en lenguado senegalés por Sáez *et al.* (2020b) en el que se evaluó el efecto diferido que ejerce un pulso de administración temprana de una dieta de preengorde suplementada con 5% de *Ulva ohnoi* solo por 90 días sobre la calidad de los filetes congelados. Los resultados obtenidos indicaron que la administración puntual durante tres meses de dicha dieta funcional, además de ejercer un efecto positivo sobre el crecimiento y funcionalidad digestiva de los juveniles de lenguado (Vizcaíno *et al.*, 2020), también mejoró a largo plazo (5 meses después de haber interrumpido la administración de algas) diferentes parámetros relacionados con la calidad de los filetes tras conservarlos congelados durante 6 meses.

Partiendo de estos resultados, el objetivo del presente trabajo ha sido evaluar si un pulso de alimentación durante tres meses (90 días) de un pienso suplementado con 5 o 10% de una mezcla de microalgas o con biomasa de *Ulva rigida*, seguido de un periodo de alimentación adicional de 5 meses de alimentación con una dieta comercial, puede tener un efecto diferido positivo sobre la calidad y la duración de la vida útil de los filetes congelados de rodaballo. El estudio de estos efectos diferidos de dietas de preengorde es una vía muy interesante a explorar, ya que no solo pueden beneficiar el estado de condición del pez durante su administración, sino que también de forma colateral, podría suponer ciertos beneficios adicionales en el producto final, tanto en su composición nutricional como en aspectos de calidad, lo cuales suponen un valor añadido adicional.

Se ha demostrado en literatura que la alimentación juega un papel clave en la calidad final del producto (Matos *et al.*, 2016). Esto es debido al hecho de que variaciones en las características de la dieta se reflejan muy rápidamente en la composición del pescado de crianza (Suárez *et al.*, 2010; Sáez *et al.*, 2013). En este sentido, también se ha descrito que la inclusión de algas a baja dosis también afecta a la composición proximal del músculo (Wan *et al.*, 2017; Abdel-Tawwab *et al.*, 2009). En concreto, el uso de piensos enriquecidos con biomasa de *Ulva* sp. aumentó el contenido proteico del

músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Azzaza *et al.*, 2008; Ergüm *et al.*, 2008;), lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Valente *et al.*, 2015) y de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Yildirim *et al.*, 2009). En el presente trabajo se ha encontrado un efecto similar al comparar los filetes congelados U10 en relación con los procedentes de peces alimentados con el pienso comercial (SK) o U5 (**Tabla 5**). Estos resultados también son concordantes con los obtenidos por Sáez *et al.* (2020b), quienes evidenciaron que una dieta de preengorde con 5% de *Ulva ohnoi* no aumentó el contenido de proteína muscular en los peces de talla comercial, lo que sugiere que un 5% de inclusión de esta macroalga no es suficiente para generar un efecto diferido a largo plazo.

En cuanto a la influencia de las microalgas, los resultados obtenidos muestran un mayor contenido proteico en los filetes M5 respecto a los M10, no pudiéndose atribuir un efecto dosis dependiente como sí que se observa cuando se suplementa el pienso con *Ulva rigida*. Estos resultados son difíciles de explicar, aunque la literatura referente a este aspecto tampoco es concluyente. A este respecto, por ejemplo, la inclusión de un 5% de la microalga *Nannochloropsis gaditana* en el pienso no causó efectos directos sobre el contenido proteico del músculo en juveniles de rodaballo (Qiao *et al.*, 2019), lenguado senegalés (Vizcaíno *et al.*, 2018) y dorada (Sales *et al.*, 2021). En cambio, en otros trabajos si se ha observado un aumento del contenido de proteína en el músculo asociado a la suplementación del pienso con microalgas (Galafat *et al.*, 2020; Perera *et al.*, 2020).

También los filetes de los peces alimentados en preengorde con el pienso CT, junto con los de U10, mostraron un elevado contenido en proteína, cuando se compara con los valores presentes en los peces alimentados con el pienso comercial SK. Esta tendencia también se observó, aunque no fue significativa, por Xu *et al.* (2021) al comparar un pienso con alto contenido en harina de pescado HP y aceite de pescado (AP) con piensos de alto contenido de proteico vegetal, así como con diferentes pautas de alternancia de estos piensos en juveniles de rodaballo.

Sin embargo, teniendo en cuenta que el contenido en proteína de los peces alimentados con dietas control (CT) es mayor que en el resto de lotes, y que todos los piensos son isoproteicos, se podría considerar que las diferencias observadas podrían deberse a la diferente biodisponibilidad de la proteína dietaria (**Tabla 3**). De hecho, la proteína de la harina de pescado es más biodisponible y bioasimilable que algunas proteínas vegetales, y en este sentido, las algas son también vegetales. De esta forma, aunque todos los piensos presenten el mismo contenido proteico, las diferencias observadas podrían ser consecuencia de la diferente biodisponibilidad para el animal en cada una de ellas.

En relación con el contenido lipídico, los filetes mostraron un contenido graso inferior al 3,5 %, expresado en materia fresca (**Tabla 5**), siendo valores que están dentro del rango para un pescado magro como es el rodaballo (Grigorakis *et al.*, 2017). No obstante, se observaron claras diferencias causadas a largo plazo por el tipo de alimentación suministrada en la primera fase del preengorde. Así, el depósito de lípidos

en el músculo fue mayor en los peces alimentados con M10. Un efecto similar ha sido descrito por Abdel Tawwad *et al.* (2009) y Perera *et al.* (2020), y se atribuye a la inclusión de algas en el pienso. No obstante, un efecto contrario se observó en los filetes congelados del lote U10, que presentaron el menor contenido lipídico junto con los filetes CT. Resultados similares han sido descritos en peces alimentados con piensos suplementados con menos de un 10% de biomasa de *Ulva* sp., en los que se observó una reducción significativa en el contenido graso del músculo del pescado (Ergün *et al.*, 2008; Yildirim *et al.*, 2009; Nisha *et al.*, 2014). Algunos autores atribuyen que el efecto observado sobre la reducción del depósito lipídico en músculo se debe al alto contenido de vitamina C que posee *Ulva* (Raman-Ortiz *et al.*, 2006; García-Casal *et al.*, 2007), aunque puede resultar dudoso que esta sustancia concreta haya jugado un papel significativo en el presente estudio, teniendo en cuenta el bajo nivel de suplementación que se utiliza para elaborar los piensos.

En cuanto al efecto en diferido sobre el metabolismo lipídico en músculo, este fenómeno también se observó en el ensayo de alimentación interrumpida de lenguado senegalés con 5% de *U. ohnoi* (Sáez *et al.*, 2020b), pero no en el presente estudio con rodaballo al emplear ese nivel de inclusión (lote U5). Esto puede ser achacado a que el efecto podría ser especie específico, y ambos estudios difieren en las especies objetivo que se utilizan, tanto de algas como de peces. Para dilucidar este aspecto sería necesario realizar estudios complementarios para evaluar las dos macroalgas en ambas especies de pez.

Centrándose en la calidad de los lípidos del filete, el perfil de ácidos grasos del músculo se ve influenciado directamente por las materias primas que se utilizan en la elaboración de los piensos (Hardy, 2003; Turchini *et al.*, 2009; Tocher *et al.*, 2019). El uso abusivo de ingredientes vegetales de origen terrestre en la alimentación de peces cultivados ha determinado un aumento en el contenido de ácidos grasos n-6 (fundamentalmente LA, 18:2n-6) y una menor relación n-3/n-6 en el músculo en comparación con los individuos salvajes, lo que supone una disminución de la calidad de los lípidos desde el punto de vista nutricional (Turchini *et al.*, 2009). En el presente trabajo se comprueba que la administración del pienso comercial SK de forma continuada altera significativamente los lípidos desde un punto de vista cualitativo, disminuyendo el contenido en PUFA-n3, al igual que observaron Xu *et al.* (2021) en rodaballos alimentados ininterrumpidamente con un pienso rico en materias primas vegetales de origen terrestre. También en rodaballo se describió que las dietas suplementadas con aceite de cártamo (*Carthamus Tinctorius*, Altundag *et al.*, 2014), aceite de soja (Peng *et al.*, 2014), aceite de palma, de lizana y de colza (Regost *et al.*, 2003; Peng *et al.*, 2017), como sustitutos totales o parciales del aceite de pescado, alteran el perfil de ácidos grasos de los tejidos del pez. Los resultados obtenidos por estos autores difirieron en función del aceite usado, de esta forma la inclusión de aceite de las semillas de cártamo disminuyó el contenido total en MUFA y PUFA- n6, mientras que aumentó el contenido de EPA y PUFA-n3.

Una alternativa para la mejora del perfil nutricional del filete de especies acuicultivadas puede ser la inclusión de un bajo porcentaje de algas. En el caso de las microalgas, se ha observado que la suplementación de la dieta con un 5,5% (Sprague et al., 2015) o un 1,5 % (Kousulaki et al., 2015) de biomasa de *Schizochytrium* durante la etapa de acabado supuso un aumento en el contenido en DHA y EPA del filete de salmón atlántico. También, se ha comprobado en juveniles de dorada que los valores de PUFA-n3 se incrementan cuando se suplementa el pienso con niveles bajos de *Tisochrysis lutea* (Vizcaíno et al., 2016). Sin embargo, los resultados de trabajo no evidencian que haya un efecto positivo sobre el porcentaje de PUFAs-n3 a largo plazo con las dietas M5 y M10, ni tampoco en el contenido de EPA y DHA, mientras que sí que se constata un aumento en el contenido de MUFAs (**Tabla 6**).

Por el contrario, la suplementación del pienso con *Ulva rigida* a la mayor dosis (U10), sí que causó un aumento diferido del contenido en SFA, PUFA-n3, EPA y DHA en el músculo de rodaballo. Estos resultados son coincidentes con los observados cuando se utiliza esta misma pauta de alimentación en lenguado senegalés, pero en este caso con un pienso enriquecido con 5% *U. ohnoi* (Sáez et al., 2020b). Ahora bien, aunque al igual que ocurría con el contenido de lípidos, para ese mismo porcentaje de inclusión no se observó ese efecto en el presente estudio (lote U5). La disparidad en los resultados entre ambos estudios puede deberse al hecho de utilizar una especie diferente de *Ulva* y un modelo animal distinto. En otros trabajos que incluyen biomasa del género *Ulva* en las dietas de finalización o preengorde también se observó esta modificación del perfil de AGs en favor de un aumento de PUFA-n3 (Valente et al., 2016; Vizcaíno et al., 2019).

En el caso de los peces alimentados durante 90 días con el pienso CT y con U10, el porcentaje de PUFA-n3, así como EPA y DHA fue superior. En el primer caso puede deberse a que el pienso control tiene un mayor contenido en HP/AP, y ambas son materias primas con un elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie omega 3, y por lo tanto, se reflejaría este perfil en el músculo de rodaballo, y en el caso de U10, a una retención selectiva de PUFAs. De este modo, la influencia de ambos piensos permanecería en el músculo de los peces tras finalizar un segundo periodo de alimentación de 5 meses con el pienso comercial, que incluye un menor contenido en materias primas de origen marino.

Otro resultado interesante es que el índice de calidad lipídica (FLQ), que indica la relación entre la suma de los ácidos grasos EPA y DHA y el total de lípidos, fue superior en los filetes de rodaballo CT y, especialmente en los de U10. Este hecho indica que a pesar de presentar un menor contenido de lípidos en ambos lotes de filetes (**Tabla 5**), su contenido en PUFAs-n3 es mayor.

La peroxidación lipídica es uno de los principales problemas durante el almacenamiento del pescado, debido a que contribuye al deterioro de la calidad, acorta la vida útil y disminuye el valor nutricional (Secci y Parisi, 2016). La evolución del estado oxidativo

de músculo de rodaballo se evaluó durante el almacenamiento en refrigeración a través de la cuantificación de los compuestos secundarios de la oxidación lipídica, como es el MDA (malondialdehído) que reacciona con el ácido 2-tiobarbitúrico. Los resultados obtenidos (**Figura 9, Tabla A.1.**) indican que se produce un incremento en el estado de oxidación de los lípidos musculares con el paso de los días en todos los lotes de filetes estudiados. Esta tendencia es la habitualmente observada en otros trabajos en los que se evalúa este parámetro durante el almacenamiento en frío de filetes de diferentes especies de pez (Molina *et al.*, 2014; Sáez *et al.*, 2020a, 2021)

Por otro lado, los valores obtenidos de MDA fueron, en general, muy bajos en todos los lotes, y más aún, teniendo en cuenta que los filetes permanecieron congelados durante 5 meses antes de realizar este análisis. Este resultado es llamativo teniendo en cuenta que durante la congelación a largo plazo se produce un deterioro de la grasa, y especialmente de los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, por la acción de las enzimas relacionadas con los procesos de lipólisis (Karlsdottir *et al.*, 2014; Ojagh *et al.*, 2014).

Para considerar que un pescado se encuentra en perfecto estado, el contenido de este tipo de sustancias debe ser inferior a <3mg de MDA/kg, siendo apto para consumo valores alrededor 6,5mg MDA/kg. En cambio, si el contenido excede de 8mg MDA/kg, el pescado no se debe consumir. Los resultados obtenidos indican que tras la descongelación los filetes de todos los lotes seguían estando en perfecto estado incluso después de 10 días de mantenerlos en refrigeración. Este hecho puede estar fundamentado en la naturaleza magra del rodaballo.

La comparativa entre lotes parece indicar un claro efecto diferido que es atribuible al pulso de alimentación que recibieron los peces durante la fase inicial de preengorde que incluía los dos tipos de algas (M5, M10, U5 y U10), no sólo en los valores iniciales de oxidación lipídica justo al descongelar los filetes, sino que también se observó este efecto protector durante el tiempo de almacenamiento en refrigeración. Esta hipótesis se argumenta en el hecho de que este efecto no se observó en los peces de los tratamientos CT y SK. Resultados similares fueron obtenidos siguiendo la misma pauta de administración de un pienso suplementado con 5% de *U. ohnoi* en lenguado senegalés (Sáez *et al.*, 2020b).

En bibliografía existen numerosas evidencias sobre el efecto antioxidante de las algas, principalmente atribuidas a presencia de compuestos fenólicos, y su contenido en vitaminas, así como la riqueza en pigmentos antioxidantes (Cho *et al.*, 2011; Holdt y Kraan, 2011; Valente, *et al.*, 2016; Sáez *et al.*, 2021). En la mayoría de las plantas los polifenoles ejercen un papel importante como antioxidantes. De forma similar, este efecto se ha descrito en algas, en las cuales se encontraron varias clases de flavonoides (isoflavonas, flavanonas, flavonoles y dihidrocalconas) (Klejdus *et al.*, 2010). Además, en general, las algas son ricas en vitaminas C y E (Wells *et al.*, 2017), sustancias con reconocido efecto antioxidante (García Casal *et al.*, 2007). También se ha comprobado

que los pigmentos naturales de las algas marinas, como clorofilas, carotenoides y xantofilas, pueden tener un efecto protector frente al daño oxidativo en los tejidos (Ortiz *et al.*, 2006; Kumar *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010; Cho *et al.*, 2011, Chater *et al.*, 2015).

Los filetes del lote SK, procedentes de especímenes alimentados ininterrumpidamente durante los 8 meses con el mismo el pienso comercial, mostraron los niveles más altos de oxidación lipídica durante los 10 días de almacenamiento en refrigeración. Resultados en esta misma línea fueron descritos por Xu *et al.* (2021) en el suero de juveniles de rodaballo alimentados con dieta rica en materias vegetales alternada con una dieta rica en HP y AP.

La textura probablemente sea uno de los parámetros que más influye en la aceptación del pescado por parte del consumidor. Mediante el análisis de perfil de textura (TPA) se pueden medir simultáneamente varios parámetros texturales, simulando la masticación humana, mediante la aplicación de dos ciclos consecutivos de compresión.

Los resultados obtenidos para el parámetro firmeza, quizás el parámetro textural más importante, indicaron que todos los filetes congelados presentaron unos valores iniciales altos si se comparan con los de otras especies de pez menos magras, pero más bajos a los determinados para filetes frescos de esta especie (Wijerah *et al.*, 2019). Estos resultados son coherentes ya que generalmente, los valores de firmeza disminuyen tras un almacenamiento a largo plazo debido a que a estas bajas temperaturas siguen produciéndose procesos proteolíticos (Sáez *et al.*, 2015).

Por otro lado, todos los filetes, independientemente del manejo de alimentación llevado a cabo, sufrieron una pérdida de firmeza (**Figura 10.A.**). Este hecho puede ser debido a la acción de las proteasas endógenas, que son las encargadas de la relajación de la estructura muscular, provocando la degradación de los componentes miofibrilares (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006) y del tejido conectivo (Ando *et al.*, 1995). Estos fenómenos pueden generar la desintegración de las células musculares, causando finalmente el ablandamiento del músculo (Delbarre-Ladrat *et al.*, 2006).

Si se compara entre lotes, la inclusión de biomasa de *U. rigida* al 10% durante la etapa juvenil resultó en mayores valores de firmeza del filete, efecto que no se observó en ninguno de los otros lotes aditivados con algas (U5, M5 y M10). Estos resultados nuevamente coinciden con lo observado en lenguado alimentados con 5% de *U. ohnoi* (Sáez *et al.*, 2020b). También los filetes CT mostraron valores superiores de firmeza. Esta mejora en los parámetros texturales puede estar fundamentada por el menor contenido de lípidos en el músculo de ambos lotes (**Tabla 5**). Un mayor contenido de lípidos en el músculo puede afectar a la integridad del tejido conectivo, originando una disminución de la firmeza (Thakur *et al.*, 2003). De esta manera, también podría verse relacionado un mayor contenido lipídico de los lotes M10 y U5 (**Tabla 5**) con menores valores de firmeza en sus filetes (**Figura10.A.**). No obstante, a pesar de que los filetes M10 y U5 mostraron valores intermedios para este parámetro, los datos más bajos se

registraron en los filetes SK. A pesar de la ausencia de una extensa bibliografía sobre los parámetros texturales en rodaballo, algunos trabajos han descrito que la sustitución del AP por aceites vegetales puede afectar negativamente a la firmeza del filete de salmón del Atlántico, de bacalao (*Gadus morhua*) y de lubina japonesa (*Lateolabrax japonicus*) (Regost *et al.*, 2003c; Mørkøre, 2006; Xu *et al.*, 2016). Sin embargo, en el trabajo de Xu *et al.* (2021) no se observó una diferencia significativa en la textura muscular entre el grupo control y los grupos de alternancia de piensos vegetales con piensos ricos en HP/AP.

En especies poco grasas, como es el caso del rodaballo, la alteración que sufren los lípidos en el proceso de congelación da lugar a la formación de ácidos grasos libres (de Koning y Mol, 1991). Estos ácidos grasos libres, junto con los lípidos ya oxidados, pueden favorecer los procesos de desnaturalización proteica (Mackie 1993; Sotelo *et al.*, 1995). Es por ello que también podría relacionarse los menores valores de los parámetros texturales en los peces del grupo SK (**Figura 10, Tabla A.2.**) con los mayores valores de oxidación lipídica (**Figura 9, Tabla A.1.**).

El pH es otro indicador que aporta información sobre la condición del músculo del pescado. Durante el almacenamiento en frío, los datos obtenidos oscilaron entre 6,0 y 6,8, indicando un buen estado de los filetes descongelados ya que a los 10 días de conservación no fue superior a 6,9, valor límite para el consumo (FAO, 2003) (**Figura 11.A.**). Los valores iniciales del pH del músculo de los peces CT, M5 y U10 fueron inferiores al resto, no observándose diferencias significativas entre lotes a partir del 8 dpd. En cuanto a la tendencia respecto al tiempo, en todos los casos excepto en SK, el pH muscular aumentó. Esto es debido a que, tras el sacrificio, se produce una disminución del pH del músculo debido al aumento de ácido láctico producido por la oxidación anaeróbica de glucosa en las células musculares (Huss *et al.*, 1995). No obstante, esta bajada de pH no es tan drástica como ocurre en la carne de mamíferos, obteniéndose valores relativamente altos (6-6,8). Una vez ha ocurrido este descenso, los valores de pH aumentan debido a la formación de compuestos alcalinos provenientes de metabolismo de las bacterias (Goulas y Kontominas 2007). La mayor proliferación bacteriana puede desembocar en menores valores de firmeza, ya que las enzimas de estos microorganismos también pueden afectar a la estructura del músculo. Nuevamente se pueden relacionar los mayores valores de firmeza en los filetes CT, U10 y M5 (Figura 9) con los menores valores de pH muscular (Figura 10).

Por otro lado, la CRA ofrece información, en porcentaje, del agua retenida en el músculo. Los valores obtenidos no mostraron diferencias entre los lotes de filetes, y se encontraron en el rango comprendido entre 60 y 66%, valores relativamente altos si se tiene en cuenta que los filetes estuvieron 6 meses congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  (**Tabla A.3., Figura 11.B.**). La disminución de la CRA muscular es un fenómeno común durante el almacenamiento en frío del pescado, y es causado principalmente por los daños mecánicos que tienen lugar en el tejido muscular, y por la desnaturalización proteica ocasionada por el deterioro del músculo *post-mortem* (Duun y Rustad, 2007).

Como bien se ha comentado en la introducción, el color es otra de las características que el consumidor percibe en primer lugar, y por lo tanto, es determinante en su aceptabilidad (Hardy y Lee, 2010; Sefc *et al.*, 2014). Los resultados obtenidos no mostraron diferencias atribuidas a un efecto a largo plazo generado por las dietas suministradas sobre la luminosidad ( $L^*$ ) de la piel de los rodaballos (**Figura 12.A.**). Sin embargo, la inclusión de algas favoreció un aumento tanto en coloración verdosa (disminución de los valores de  $a^*$ ) como de la tonalidad amarillenta (valores positivos de  $b^*$ ) (**Figuras 12. B y C**). Los lotes que mayor intensidad de la pigmentación presentaron fueron M10, U5 y, sobre todo, U10. Algunos estudios han confirmado que la suplementación del pienso con macroalgas puede cambiar la pigmentación de los peces (Moroney *et al.*, 2015, 2016; Jones *et al.*, 2016). Las algas son una fuente natural de pigmentos (Tacchi *et al.*, 2011). De esta manera, ha sido descrito que el género *Ulva* posee pigmentos disponibles para la absorción y depósito en el músculo como: clorofilas (a y b), ficobiliproteínas (R-ficocianina, aloficocianina, R-ficococianina),  $\beta$ -carotenos y xantofilas (luteína, zeaxantina, anteraxantina, neoxantina y violaxantina) (Stengel *et al.*, 2011).

El alto contenido en clorofilas, R-ficocianina y aloficocianina propios del género *Ulva* ha podido favorecer la tonalidad más verdosa observada en estos filetes, intuyéndose un efecto dosis dependiente. Las xantofilas del género *Ulva* (sobre todo luteína y zeaxantina) poseen un fuerte efecto antioxidante frente a las especies reactivas al oxígeno (ROS), cuyo depósito en el músculo supone una tonalidad amarillenta (Moroney *et al.*, 2016). De hecho, resultados similares se obtuvieron en tilapia (Valente *et al.*, 2016), pargo (*Pagrus pagrus*; Kalinowski *et al.*, 2005) y pez gato (*Ictalurus punctatus*, Li *et al.*, 2007). Resultados similares a largo plazo han sido descritos en la piel de los filetes de lenguado senegalés por Sáez *et al.* (2020b), sugiriendo que los pigmentos procedentes de las algas son selectivamente retenidos en los cromatóforos de la piel del pescado durante un periodo de tiempo prolongado.

El músculo del rodaballo es reconocido por su blancura, con una tendencia clara que evoluciona a un color más lechoso y amarillento según avanza el almacenamiento (Roth *et al.*, 2009). En cuanto a la coloración del filete, los resultados (**Figura 13.A, 13.B. y 13.C**) mostraron un aumento del parámetro  $L^*$ , es decir, una mayor luminosidad con respecto al tiempo de almacenamiento sólo en los filetes M5, M10 y U10, pudiendo ser el resultado del aumento del agua libre y, en consecuencia, de menores valores (aunque no significativos) de CRA, principalmente en M5 y M10. El parámetro  $a^*$  disminuyó durante el almacenamiento post-descongelación (coloración más verdosa), aunque los valores más bajos se encontraron en el músculo de los peces alimentados con dietas enriquecidas en microalgas. Este efecto también se ha observado en el músculo de doradas alimentadas durante 90 días con dietas de finalización enriquecidas con una mezcla de microalgas (datos no publicados). Respecto al parámetro  $b^*$ , en todos los lotes la pigmentación del músculo tendió de valores negativos (ligera coloración azulada) a valores positivos (coloración amarillenta) con el tiempo de almacenamiento. En este sentido, los cambios experimentados en este parámetro están asociados con una

---

mayor oxidación lipídica, y consecuentemente con una pigmentación más amarillenta (Thanonkaew *et al.*, 2006; Sáez *et al.*, 2014). Por este motivo, se podría decir que al final del periodo experimental (10 *dpd*) los menores valores de  $b^*$  en el músculo de los ejemplares alimentados con las dietas funcionales (M5, M10, U5 y U10) pudieran estar directamente relacionados con los menores valores de oxidación lipídica obtenidos en los mismos (**Figura 9, Tabla A.1.**). Resultados similares también han sido descritos por Sáez *et al.* (2020b) en lenguado senegalés.

## VI. CONCLUSIONES

-La administración de dietas enriquecidas con algas (una mezcla de microalgas o biomasa de *Ulva rigida* y) en un pulso de 90 días durante la etapa de preengorde produjo cambios significativos tanto en la calidad nutricional como en la organoléptica de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maxima*).

-La inclusión de un 10% de biomasa de *Ulva rigida* aumentó el contenido en proteínas y disminuyó el de lípidos en el filete del rodaballo, mejorando el perfil de ácidos grasos y los índices de calidad lipídica del mismo. Además, también se observó una influencia positiva sobre los parámetros texturales del músculo.

-El uso de algas en general (macro y microalgas) como aditivo de dietas de preengorde previno los procesos oxidativos de los lípidos en el músculo, prolongando la vida útil de los filetes congelados durante 5 meses y posteriormente durante su almacenamiento en refrigeración. También se observó que ejerce una influencia favorablemente en la pigmentación de la piel y del filete en rodaballo.

-La administración temprana de una dieta rica en harina de pescado durante la fase juvenil en un pulso de 90 días, seguida de una alimentación con un pienso comercial también afectó positivamente a la calidad y vida útil del filete congelado de rodaballo, a niveles comparables a los obtenidos con la dieta U10.

-Como conclusión final, los resultados obtenidos indican que la suplementación puntual de los piensos con algas durante el preengorde representa una estrategia prometedora para mejorar de la calidad nutricional y organoléptica del filete congelado de rodaballo, así como para extender su periodo de vida útil en la fase de post-descongelación. No obstante, es necesario seguir profundizando en este tipo de estudios para conocer si estos efectos son comparables entre distintas especies, así como determinar cuál es la dosis y momento más adecuados para garantizar los efectos beneficiosos observados a largo plazo sobre la calidad del producto, sin que ello suponga un excesivo sobrecoste en la alimentación de los animales.

# BIBLIOGRAFÍA

- » Abbot, J.W. (1972). Sensory assessment of food texture. *Food Technology*, 26 (1): 40-49.
- » Abdel-Tawwad, M. y Ahmad, M.H. (2009). Live *Spirulina (Arthrospira platensis)* as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 40: 1037-1046
- » Altundag, M.S., Tiril, S.U. y Ozdemir, A. (2014). Effects of safflower oil supplementation in diet on growth performance and body fatty acid composition of turbot (*Psetta maxima*). *Aquac. Int*, 22: 597–605.
- » Ando, M., Yoshimoto, Y., Inabu, K., Nakagawa, T. y Makimodan, Y. (1995). Post-mortem change of three-dimensional structure of collagen fibrillar network in fish muscle pericellular connective tissues corresponding to post-mortem tenderization. *Fisheries Science*, 61(2): 327-330.
- » APROMAR (2020). La acuicultura en España 2020. <http://www.apromar.es/content/la-acuicultura-en-espa%C3%B1a-2020>
- » Apt, K.E. y Behrens, P.W. (1999). Commercial developments in microalgal biotechnology. *J. Phycol.*, 35: 215–226.
- » Arterburn, L.M., Hall, E.B. y Oken. H. (2006). Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83: 1467S-1476S.
- » Azzaza, M.S., Mensi, F., Ksouri, J., Dhraief, M.N., Brini, B., Abdelmouleh, A. y Kraiem, M.M. (2008). Growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with diets containing graded levels of green algae *Ulva* meal (*Ulva rigida*) reared in geothermal waters of southern Tunisia. *Journal of Applied Ichthyology*, 24(2): 202-207.
- » Bagni, M., Civitareale, C., Priori, A., Ballerini, A., Finoia, M., Brambilla, G. y Marino, G. (2007). Pre-slaughter crowding stress and killing procedures affecting quality and welfare in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 263 (1-4): 52–60.
- » Barsanti, L., Vismara, R., Passarelli, V. y Gualtieri, P. (2001). Paramylon ( $\beta$ -1,3-glucan) content in wild type and WZSL mutant of *Euglena gracilis*. Effects of growth conditions. *Journal of Applied Phycology.*, 13: 59–65.
- » Bell, J.G., Henderson, R.J., Tocher, D.R. y Sargent, J.R. (2004). Replacement of dietary fish oil with increasing levels of linseed oil: modification of flesh fatty acid composition in Atlantic salmon (*Salmo salar*) using a fish oil finishing diet. *Lipids*, 39: 223–232.
- » Benedito-Palos, L., Navarro, J.C., Bermejo-Nogales, A., Saera-Vila, A., Kaushik, S. y Pérez- Sánchez, J. (2009). The time course of fish oil wash-out

- follows a simple dilution model in gilthead sea bream (*Sparus aurata L.*) fed graded levels of vegetable oils. *Aquaculture*, 288 (1–2), 98–105.
- » Bourne, M.C. (1978) Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 32 (7): 62-66.
  - » Buege, J., y Aust, S. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52: 302-310.
  - » Burr, G., Gatlin, D. y Ricke, S. (2005). Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36: 425–436.
  - » Cerezuela, R., Guardiola, F.A., Gonzalez, P., Mesenguer, J. y Esteban M.A. (2012). Effects of dietary *Bacillus subtilis*, *tetraselmis chuii*, and *Phaeodactylum tricornutum*, singularly or in combination, on the immune response and disease resistance of sea bream (*Sparus aurata L.*). *Fish & shellfish immunology*, 33 (2): 342-349.
  - » Charoonart, P., Purton, S. y Saksmerprome, V (2018). Applications of microalgal biotechnology for disease control in aquaculture. *Biology*, 7: 24.
  - » Chater, P.I., Wilcox, M.D., Houghton, D. y Pearson, J.P. (2015). The role of seaweed bioactives in the control of digestion: Implications for obesity treatments. *Food Funct.*, 6: 3420–3427.
  - » Cho, M., Lee, H.S., Kang, I.J., Won, M.H. y You, S. (2011). Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chem.*, 127: 999–1006
  - » CIE (Commission Internationale de l'Eclairage). (1976). Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. Supplement N° 2 to CIE Publication N° 15, Colorimetry, Bureau Central de la CIE, Paris.
  - » Dawczynski, C., Schubert, R. y Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem.*, 103: 891–899.
  - » de Koning, A. y Mol, T. (1991). Quantitative quality tests for frozen fish: Soluble protein and free fatty acid content as quality criteria for hake (*Merluccius capensis*) stored at –18°C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(3): 449-458.
  - » Delbarre-Ladrat, C., Cheret R, Taylor, R. y Verrez-Bagnis, V. (2006). Trends in post mortem aging in Fish: Understanding of proteolysis and disorganization of the myofibrillar structure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(5): 409-421.
  - » Denis, C., Morançais, M, Li, M., Deniaud, E., Gaudin, P., Wielgosz-Collin, G., Barnathan, G., Jaouen, P. y Fleurence, J. (2010). Study of the chemical composition of edible red macroalgae *Grateloupia turuturu* from Brittany (France). *Food Chemistry*, 119 (3): 913-917.
  - » Díaz-López, M., Perez, M.J., Acosta, N.G., Tocher, D.R., Jerez, S. y Lorenzo, A. (2009). Effect of dietary substitution of fish oil by Echium oil on growth,
-

- plasma parameters and body lipid composition in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquac. Nutr.*, 15: 500–512.
- » Duun, A.S. y Rustad, T. (2007). Quality changes during superchilled storage of cod (*Gadus morhua*) fillets. *Food Chemistry*, 105(3): 1067-1075.
  - » Edwards, M., Hanniffy, D., Heesch, S., Hernández-Kantún, J., Moniz, M., Queguineur, B., Ratcliff, J., Soler-Vila, A. y Wan, A. (2012). *Macroalgae Fact-sheets*.
  - » Ergun, S., Soyuturk, M., Guroy, B., Guroy, D. y Merrifield, D. (2008). Influence of *Ulva* meal on growth, feed utilization and Body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. *Aquaculture International*, 17: 355-361.
  - » Fabregas, J. y Herrero, C. (1990). Vitamin content of four marine microalgae. Potential use as source of vitamins in nutrition. *Journal of Industrial Microbiology.*, 5: 259–263.
  - » FAO (2021). Programa de información de especies acuáticas [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Psetta\\_maxima/es](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Psetta_maxima/es)
  - » FAO (2021). Evaluación de la calidad del pescado <http://www.fao.org/3/v7180s/v7180s09.htm#:~:text=Generalmente%20el%20%C3%A9mino%20%22calidad%22%20se,que%20ha%20sufrido%20el%20pesca do.&text=Los%20m%C3%A9todos%20para%20la%20evaluaci%C3%B3n,dos%20categor%C3%ADas%3A%20sensorial%20e%20instrumental>.
  - » Fernández, E., Moreno, F. y Rodicio, R. (1992). The ICL1 gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *European Journal of Biochemistry*, 204 (3): 983-990.
  - » Folch, J., Lees, M., y Sloane Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, 226 (1): 497-509.
  - » Fountoulaki, E., Vasilaki, A., Hurtado, R., Grigorakis, K., Karacostas, I. y Nengas, I. (2009). Fish oil substitution by vegetable oils in commercial diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.), effects on growth performance, flesh quality and fillet fatty acid profile: recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet under fluctuating water temperatures. *Aquaculture*, 289: 317–326.
  - » Galafat, A., Vizcaíno, A.J., Sáez, M.I., Martínez, T.F., Jerez-Cepa, I., Mancera, J.M. y Alarcón, F.J. (2020). Evaluation of *Arthrospira* sp. Enzyme hydrolysate as dietary additive in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Journal of Applied Phycology*, 32 (5): 3089-3100.
  - » Garcia Casal, M.N., Pereira, A.C., Leets, I., Ramirez, J. y Quiroga, M.F. (2007). High iron content and bioavailability in humans from four species of marine algae, *J. Nut.*, 137: 2691–2695.
  - » Garza-Gil, M.D., Varela-Lafuente, M., y Caballero-Miguez, G. (2009). Price and production trends in the marine fish aquaculture in Spain. *Aquaculture Research*, 40(3): 274–281.

- » Gomes, E., Dias, J., Silva, P., Valente, L., Empis, J., Gouveia, L., Bowen, J. y Young, A. (2002). Utilization of natural and synthetic sources of carotenoids in the skin pigmentation of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Eur Food Res Technol*, 214: 287–293.
- » Gómez-Ordóñez, E., Jiménez-Escrig, A. y Rupérez, P. (2010). Dietary fibre and physicochemical properties of several edible seaweeds from the northwestern Spanish coast. *Food Res. Int.*, 43: 2289–2294.
- » Goulas, A.E. y Kontominas, M.G. (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chemistry*, 100(1): 287-296.
- » Graham, J., Johnston, W.A., Nicholson, F.J. (1993). El hielo en las pesquerías. FAO, Documento Técnico de Pesca N° 331
- » Griffiths, M.J. y Harrison, S.T.L. (2009). Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J. Appl. Phycol.*, 21: 493–507.
- » Grigorakis, K. (2017). Fillet proximate composition, lipid quality, yields and organoleptic quality of Mediterranean farmed marine fish: A review with emphasis on new species. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(14): 2956-2969.
- » Guroy, B; Sahin, I; Mantoglu, S. y Kayali, S. (2012). Spirulina as a natural carotenoid source on growth, pigmentation and reproductive performance of yellow tail cichlid *Pseudotropheus acei*. *Aquaculture International*, 20 (5): 869-878.
- » Haard, N.F. (1992). Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish. *Food Research International*, 25 (4): 289–307.
- » Hardy, RW. (2003). Farmed fish and omega-3 fatty acids. - *Aquaculture Magazine*, 2003. Disponible en: [https://www.iatp.org/sites/default/files/Farmed\\_Fish\\_Omega-3\\_Fatty\\_Acids.pdf](https://www.iatp.org/sites/default/files/Farmed_Fish_Omega-3_Fatty_Acids.pdf)
- » Hardy, R.W. y Lee, C. (2010). Aquaculture feed and seafood quality. *Bulletin of Japan Fisheries Research and Education Agency* 31: 43–50.
- » Holdt, S. L. y Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3): 543-597.
- » Huss, H.H. (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO fisheries technical paper. Rome. 348.
- » Huss, H.H. (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad. FAO, Documento Técnico de Pesca N° 348
- » Ibáñez, E. y Herrero, M. (2017). *Las Algas que Comemos*; Consejo Superior de Investigaciones Científicas. ISBN 978-84-00-10182-4.
- » Izquierdo, M.S., Montero, D., Robaina, L., Caballero, M.J., Rosenlund, G. y Ginés, R. (2005). Alterations in fillet fatty acid profile and flesh quality in

- gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fed vegetable oils for a long term period. Recovery of fatty acid profiles by fish oil feeding. *Aquaculture*, 250: 431–444.
- » Jones, B., Smullen, R. y Cartona, A.G. (2016). Flavour enhancement of freshwater farmed barramundi (*Lates calcarifer*), through dietary enrichment with cultivated sea lettuce, *Ulva ohnoi*. *Aquaculture*, 454: 192–198.
  - » Kalinowski, C. T., Robaina, L. E., Fernández-Palacios, H., Schuchardt, D. e Izquierdo, M. S. (2005). Effect of different carotenoid sources and their dietary levels on red porgy (*Pagrus pagrus*) growth and skin colour. *Aquaculture*, 244(1-4): 223-231.
  - » Karlsdottir, G.M., Sveinsdottir, K., Kristinsson, G.H., Dominique, V., Craft, B. y Arason, S. (2014). Effects of temperature during frozen storage on lipid deterioration of saithe (*Pollachius virens*) and hoki (*Macruronus novaezelandiae*). *Food Chemistry*, 156: 234–242.
  - » Kiron, V., Wutiporn, P., Huntley, M., Archibald, I. y de Scheemaer, G. (2012). Marine microalgae from bioreinery as a potencial feed protein source for Atlantic salom, common carp and whiteleg shrimp. *Aquaculture Nutrition*, 18(5): 521-531.
  - » Klejdus, B., Lojková, L., Plaza, M., Snóblová, M. y Stěrbová, D. (2010). Hyphenated technique for the extraction and determination o isoflavones in algae: Ultrasound-assisted supercritical fluid extractio followed by fast chromatography with tandem mass spectrometry *J Chromatogr A* 1217:7956–7965.
  - » Koller, M., Muhr, A. y Braunegg, G. (2014). Microalgae as versatile cellular factories for valued products. *Algal Res.*, 6: 52–63.
  - » Kousoulaki, K., Saether, B.S., Albrektsen, S. y Noble, C. (2015). Review on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) nutrition and feed management: a practical guide for optimizing feed formulation and farming protocols. *Aquaculture Nutrition*, 451: 47-57.
  - » Kumar, C.S., Ganesan, P., Suresh, P.V. y Bhaskar, N. (2008). Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds a review. *J. Food Sci. Technol.*, 45: 1–13.
  - » Kumar, P., Jain, K.K., Munilkumar, S., Sahu, N.P., Siddaiah, G.M. y Saha, H. (2012). Effect of alternate day feeding strategy of sub-optimal protein level on haemato-biochemical responses in *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 96: 1012–1019.
  - » Lefevre, F., Bugeon, J., Auperin, B. y Aubin, J. (2008). Rearing oxygen level and slaughter stress effects on rainbow trout flesh quality. *Aquaculture*, 284 (1-4): 81-89.
  - » Li, M. H., Robinson, E. H., Oberle, D. F. y Zimba, P. V. (2007). Effects of various dietary carotenoid pigments on fillet appearance and pigment absorption in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(4): 557-563.
-

- » Lin, Y.H., Llanos, A., Mena, P., Uauy, R., Salem, N.J. y Pawlosky, R.J. (2010). Compartmental analyses of 2H5-alpha-linolenic acid and C-U-eicosapentaenoic acid toward synthesis of plasma labeled 22:6n-3 in newborn term infants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 92: 284-293.
- » Lu, J., Takeuchi, T. y Ogawa, H. (2003). Flesh quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed solely on raw Spirulina. *Fish Sci*, 69(3): 529–534.
- » Mackie, I. (1993). The effect of freezing on flesh proteins. *Food Reviews International*, 9(4): 575–610.
- » Marinho, G., Nunes, C., Sousa-Pinto, I., Pereira, R., Rema, P. y Valente, L.M.P. (2013). The IMTA-cultivated *Chlorophyta Ulva spp.* as a sustainable ingredient in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Journal of Applied Phycology*, 25 (5): 1359-1367.
- » Mataix, J. (2004). Requerimientos e ingestas recomendadas de ácidos grasos omega-3 y ácido oleico. Mataix J, Gil A. En: “Libro Blanco de los Omega-3. Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud”. Médica Panamericana (Eds). Madrid.
- » Matos, J., Cardoso, C., Bandarra, N. y Afonso, C. (2017). Microalgae as a healthy ingredient for functional food: A review. *Food & Function*, 8 (8).
- » Miao, X. y Wu, Q. (2004). High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *J. Biotechnol.*, 110: 85–93.
- » Molina, B., Sáez, M. I., Martínez, T. F., Guil-Guerrero, J. L., y Suárez, M. D. (2014). Effect of ultraviolet light treatment on microbial contamination, some textural and organoleptic parameters of cultured sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26: 205–213.
- » Montero, D., Robaina, L., Caballero, M., Gines, R. e Izquierdo, M. (2005). Growth, feed utilization and flesh quality of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed diets containing vegetable oils: a time-course study on the effect of a re-feeding period with a 100% fish oil diet. *Aquaculture*, 248: 121–134.
- » Mørkøre, T. (2006). Relevance of dietary oil source for contraction and quality of pre-rigor filleted Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, 251: 56–65.
- » Moroney, N.C., Wan, A.H., Soler-Vila, A., FitzGerald, R.D., Johnson, M.P. y Kerry, J.P. (2015). Inclusion of *Palmaria palmata* (red seaweed) in Atlantic salmon diets: effects on the quality, shelf-life parameters and sensory properties of fresh and cooked salmon fillets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5): 897–905.
- » Moroney, N.C., Wan, A.H.L., Soler-Vila, A., O’Grady, M., FitzGerald, R.D., Johnson, M.P. y Kerry, J.P. (2016). Influence Of Green Seaweed (*Ulva Rigida*) Supplementation On The Quality And Shelf-Life Of Atlantic Salmon Fillets. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(10); 1175-1188.
- » Mourente, G. y Bell, J.G. (2006). Partial replacement of dietary fish oil with blends of vegetable oils (rapeseed, linseed and palm oils) in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) over a long term growth study: effects on

- muscle and liver fatty acid composition and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 145: 389–399.
- » Mourente, G., Good, J. y Bell, J. (2005). Partial substitution of fish oil with rapeseed, linseed and olive oils in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*): effects on flesh fatty acid composition, plasma prostaglandins E2 and F2 $\alpha$ , immune function and effectiveness of a fish oil finishing diet. *Aquac. Nutr.*, 11: 25–40.
  - » Muller-Feuga, A. (2000). The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *J. Appl. Phycol.*, 12: 527–534.
  - » Mustafa, M.G., Wakamatsu, S., Takeda, T.A., Umino, T. y Nakagawa, H. (1995). Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream. *Fisheries Science*, 61 (1): 25–28.
  - » Naiel, M.A.E, Alagawany, M., Patra, A.K., El-Kholy, A.I., Amer, M.S y Abd El-Hack, M.E. (2020). Beneficial impacts and health benefits of macroalgae phenolic molecules on fish production. *Aquaculture*.
  - » Nettleton, J.A. y Exñer, J. (1992). Nutrients in wild and farmed fish and shellfish. *J. Food Science*, 57: 257-260.
  - » Nisha, P.R., Mary, A. E., Uthayasiva, M. y Arularasan, S. (2014). Seaweed *Ulva reticulata* a potential feed supplement for growth, colouration and disease resistance in fresh water ornamental gold fish, *Carassius auratus*. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5(5).
  - » Norziah, M.H. y Ching, C.Y. (2000). Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changgi*. *Food Chem.* 68: 69-76.
  - » Ojagh, S.M., Rezaei, M. y Razavi, S.H. (2014). Improvement of the storage quality of frozen rainbow trout by chitosan coating incorporated with cinnamon oil. *J Aquat Food Prod Technol.*, 23:146–154.
  - » Olaizola, M. (2000). Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000-liter outdoor photobioreactors. *J. Appl. Phycol.*, 12: 499–506.
  - » Olsson, G.B., Olsen, R.L., Carlehog, M. y Ofstad, R., (2003). Seasonal variation in chemical and sensory characteristics of farmed and wild Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 217 (1-4): 191-205.
  - » Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernández, J., Bozzo, C., Navarrete, E., Osorio, A. y Rios, A. (2006). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chem.*, 99: 98–104.
  - » Osmond, A.T.Y. y Colombo, S.M. (2019). The future of genetic engineering to provide essential dietary nutrients and improve growth performance in aquaculture: advantages and challenges. *J. World Aquacult. Soc.*, 50 (3): 490–509.
  - » Pastoriza, L., Sampedro, G., Herrera, J.J., y Cabo, M.L. (1998). Influence of sodium chloride and modified atmosphere packaging on microbiological,

- chemical and sensorial properties in ice storage of slices of Hake (*Merluccius merluccius*). Food Chemistry, 61(1-2): 23–28.
- » Peng, M., Xu, W., Mai, K., Zhou, H., Zhang, Y., Liufu, Z., Zhang, K. y Ai, Q. (2014). Growth performance, lipid deposition and hepatic lipid metabolism related gene expression in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus L.*) fed diets with various fish oil substitution levels by soybean oil. Aquaculture, 433: 442–449.
  - » Peng, M., Xu, W., Tan, P., Du, J., Mai, K., Zhou, H., Zhang, Y., Nian, R., Macq, B. y Ai, Q. (2017). Effect of dietary fatty acid composition on growth, fatty acids composition and hepatic lipid metabolism in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus L.*) fed diets with required n3 LC-PUFAs. Aquaculture, 479: 591–600.
  - » Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T.P., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (2011). Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. Food Chem., 129: 491–498.
  - » Perera, E., Sánchez-Ruiz, D., Sáez, M.I., Galafat, A., Barany, A., Fernández-Castro, M., Vizcaíno A.J., Fuentes, J., Martínez, T.F., Mancera, J.M., Alarcón, F.J. y Martos-Sitcha, J.A. (2020). Low dietary inclusion of nutraceuticals from microalgae improves feed efficiency and modifies intermediary metabolisms in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). Scientific Report 10, 18676.
  - » Piñeiro-Corrales, G, Lago Rivero, N. y Culebras-Fernández, J.M. (2014). Papel de los ácidos grasos omega-3 en la prevención de enfermedades cardiovasculares. Nutrición Hospitalaria, 28 (1): 1-5.
  - » Poli, M.B., (2009). Farmed fish welfare-suffering assessment and impact on product quality. Italian Journal of Animal Science, 8: 139-160.
  - » Promya, J. y Chitmanat, C. (2011). The effects of Spirulina platensis and Cladophora algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the African Sharptooth Catfish (*Clarias gariepinus*). Int J Agric Biol, 13:77–82.
  - » Pulz, O. y Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. Appl. Microbiol. Biotechnol., 65: 635–648.
  - » Qiao, H.J., Hu, D.X., Ma, J., Wang, X.Y., Wu, H.Y. y Wang, J.Y. (2019). Feeding effects of the microalga *Nannochloropsis* sp. On juvenile turbot (*Scophthalmus maximus L.*). Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts, 41: 101540.
  - » Regost, C., Arzel, J., Robin, J., Rosenlund, G. y Kaushik, S.J. (2003). Total replacement of fish oil by soybean or linseed oil with a return to fish oil in turbot (*Psetta maxima*): 1. Growth performance, flesh fatty acid profile, and lipid metabolism. Aquaculture, 217: 465–482.
  - » Reis, B., Cabral, E.M., Fernandes, T.J.R., Castrocunha, M., Oliveira, M.B.P.P. y Cunha, L.M. (2014). Long-term feeding of vegetable oils to *Senegalese sole* until market size: effects on growth and flesh quality. Recovery of fatty acid profiles by a fish oil finishing diet. Aquaculture, 434: 425–433.

- » Ribeiro, A.R., Gonçalves, A., Bandarra, N., Nunes, M.L., Dinis, M.T., Dias, J. y Rema, P. (2017). Natural fortification of trout with dietary macroalgae and selenised-yeast increases the nutritional contribution in iodine and selenium. *Food Research International*, 99: 1103-1109.
- » Rodríguez-Ruiz, J., Belarbi, E.H., García, J.L., López, D. (1998). Rapid simultaneous lipid extraction and transesterification for fatty acid analyses, *Biotechnol. Tech.* 12: 689–691.
- » Roth, B., Birkeland, S. y Oyarzun, F., (2009). Stunning, pre slaughter and filleting conditions of Atlantic salmon and subsequent effect on flesh quality on fresh and smoked fillets. *Aquaculture*, 289 (3-4): 350-356.
- » Ruskol., D. y P., Bendsen (1992). Invasion of *S. putrefaciens* during spoilage offish.
- » Sáez, M.I., Navarro, G., García-Mesa, S., Martínez, T.F., García-Gallego, M. y Suárez, M.D. (2013). Influence of pre-slaughtering feed restriction on muscle characteristics of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) during cold storage. *J Sci Food Agri*, 93: 2323-2330.
- » Sáez, M.I., Martínez, T.F., Cárdenas, S. y Suarez, M.D. (2014). Effect of different preservation strategies on microbiological counts, lipid oxidation and colour of cultured meagre (*Argyrosomus regius, L*) fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 768-775.
- » Sáez, M.I., Suarez, M.D., Cárdenas, S. y Martínez, T.F. (2015). Influence of freezing and freezing-thawing cycles on textural and biochemical changes of meagre (*Argyrosomus regius, L*) fillets during further cold storage. *Int J Food Prop*, 18:1635–1647.
- » Sáez, M.I., Suárez, M.D. y Martínez, T.F. (2020a). Effects of alginate coating enriched with tannins on shelf life of cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *LWT-Food Science and Technology*, 118, 108767.
- » Sáez, M.I, Vizcaíno, A., Galafat, A., Anguís, V., Fernández-Díaz, C., Balebona, M.C., Alarcón, F.J. y Martínez, T.F. (2020b). Assessment of long-term effects of the macroalgae *Ulva ohnoi* included in diets on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fillet quality. *Algal Res*, 47.
- » Sáez, M.I., Vizcaíno, A.J., Galafat, A., Anguís, V., Fernández-Díaz, C., Balebona, M.C., Alarcón, F.J. y Martínez, T.F. (2021). Assessment of long-term effects of the macroalgae *Ulva ohnoi* included in diets on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fillet quality. *Algal Research*, 47: 101885.
- » Sales, R., Galafat, A., Vizcaíno, A.J., Sáez, M.I., Martínez, T.F., Cerón-García, M.C., Navarro-López, E., Tsuzuki, M.Y., Acien-Fernandez, F.G., Molina-Grima, E. y Alarcón, F.J. (2021). Effects of dietary use of two lipid extracts from the microalga *Nannochloropsis gatinada* (Lubian, 1982) alone and in combination on growth and muscle composition in juvenile gilthead seabream, *Sparus aurata*. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*, 53: 102162.

- » Secci, G. y Parisi, G., (2016). From farm to fork: lipid oxidation in fish products. A review. *Italian Journal of Animal Science*, 15(1): 124-136.
- » Sefc, K.M., Brown, A.C. y Clotfelter, E.D. (2014). Carotenoid-based coloration in cichlid fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & integrative physiology*, 173 (100): 42–51.
- » Sotelo, C.G., Piñeiro, C. y Pérez-Martín, R.I. (1995). Denaturation of fish proteins during frozen storage: role of formaldehyde. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 200(1):14-23.
- » Sprague, M., Walton, J., Campbell, P.J., Strachan, F., Dick, J.R. y Bell, J.G. (2015). Replacement of fish oil with a DHA-rich algal meat derived from *Schizochytrium* sp. On the fatty acid and persistent organic pollutant levels in diets and flesh of Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) post-smolts. *Food Chemistry*, 185: 413-421.
- » Stengel, D. B., Connan, S. y Popper, Z. A. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*, 29(5): 483-501.
- » Suárez, M.D., Martínez, T.F., Sáez, M.I., Morales, A.E. y García-Gallego, M. (2010). Effects of dietary restriction on post-mortem changes in white muscle of sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 307 (2010): 49–55.
- » Szczesniak, A.S., Loewe B.J., y Skinner, E.Z. (1975). Consumer texture profile technique. *Journal of Food Science*, 40(6): 1253-1256.
- » Tacchi, L., Bickerdike, R., Douglas, A., Secombes, C.J. y Martin, S.A.M. (2011). Transcriptomic responses to functional feeds in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish and Shellfish Immunology*, 31(5): 704-715.
- » Teimouri, M., Amirkolaie, A.K. y Yeganeh, S. (2013a). The effects of dietary supplement of *Spirulina platensis* on blood carotenoid concentration and fillet color stability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 414–415: 224–228.
- » Teimouri, M., Amirkolaie, A.K. y Yeganeh, S. (2013b). The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 396–399:14–19.
- » Thakur, D.P., Morioka, K., Itoh, Y. y Obatake, A. (2003). Lipid composition and deposition of cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata* muscle at different anatomical locations in relation to meat texture *Fisheries Science*, 69 (3): 487-494
- » Tocher, D.R., Betancor, M.B., Sprague, M., Olsen, R.E. y Napier, J.A. (2019). Omega-3 longchain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA: bridging the gap between supply and demand. *Nutrients*, 11: 89.
- » Thanonkaew, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. y Decker, E. A. (2006). Development of yellow pigmentation in squid (*Loligo peali*) as a result of lipid oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3): 956-962.
- » Traverso, J y Avdalov, N. (2014) Beneficios del consumo del pescado.

- » Turchini, G.M., Torstensen, B.E. y Ng, W.K. (2009). Fish oil replacement in finfish nutrition. *Rev. Aquac.*, 1: 10–57.
- » Turchini, G.M., Ng, W.K. y tocher, D.R. (2010). Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds in *Aquaculture Feeds*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- » Turchini, G.M., Hermon, K., Cleveland, B.J., Emery, J.A., Rankin, T., y Francis, D.S. (2013). Seven fish oil substitutes over a rainbow trout grow-out cycle: I) effects on performance and fatty acid metabolism. *Aquaculture Nutrition*, 19: 82–94.
- » Ulbricht, T., y Southgate, D. (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*. 338: 985-992.
- » Valente, L.M.P., Gouveia, A., Rema, P., Matos, J., Gomes, E.F. y Pinto, I.S. (2006). Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 252(1): 85–91.
- » Valente, L.M.P., Araújo, M., Batista, S., Peixoto, M.J., Sousa-Pinto, I., Brotas, V., Cunha, L.M. y Rema, P. (2015). Carotenoid deposition, flesh quality and immunological response of *Nile tilapia* fed increasing levels of IMTA-cultivated *Ulva* spp. *Journal of Applied Phycology*, 28 (1): 691–701.
- » Vatsos, I.N. y Rebours, C. (2015). Seaweed extracts as antimicrobial agents in aquaculture. *J Appl. Phycol.* 27: 2017-2035.
- » Vizcaíno, A.J., López, G., Sáez, M.I., Jimenez, J.A., Barros, A., Hidalgo, L., Camacho-Rodriguez, J., Martinez, T.F., Cerón-García, M.C. y Alarcón, F.J. (2014). Effects of the microalga *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles. *Aquaculture*, 431: 34-43.
- » Vizcaíno, A.J., Mendes, S.I., Varela, J.L., Ruiz-Jarabo, I., Rico, R., Figueroa, F.L., Abdala, R., Moríñigo, M.A., Mancera, J.M. y Alarcón, F.J. (2016). Growth, tissue metabolites and digestive functionality in *Sparus aurata* juveniles fed different levels of macroalgae, *Gracilaria cornea* and *Ulva rigida*. *Aquac. Res.* 4: 3224–3238.
- » Vizcaíno, A.J., Rodiles, A., López, G., Sáez, M.I., Herrera, M., Hachero, I., Martinez, T.F., Cerón-García, M.C. y Alarcón, F.J. (2018). Growth performance, body composition, and digestive functionality of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles fed diets including microalgae freeze-dried biomass. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44 (2): 661-677.
- » Vizcaíno, A.J., Fumanal, M., Sáez, M.I., Martinez, T.F., Moringo, M.A., Fernández-Díaz, C., Anguis, V., Balebona, M.C. y Alarcón, F.J. (2019). Evaluation of *Ulva ohnoi* as functional dietary ingredient in juvenile Senegalese solea (*Solea senegalensis*): Effects on the structure and functionality of the intestinal mucosa. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*, 42.

- » Wan, A.H.L., Davies S.J., Soler-Vila, A., Fitzgerald, R. y Johnson, M.P. (2017). Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. *Reviews in Aquaculture*, 1–35.
- » Wan, A.H., Davies, S.J, Soler-Vila, A., Fitzgerald, R. y Johnson, M.P. (2019). Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. *Rev Aquacult*, 11: 458-492.
- » Wang, T., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H.G., Hreggvidsson, G.O., Jónsson, J.Ó., Thorkelsson, G. y Ólafsdóttir, G. (2010). Enzyme-enhanced extraction of antioxidant ingredients from red algae *Palmaria palmata*. *LWT Food Sci. Technol.* 43: 1387–1393.
- » Wassef, E.A., El-Sayed, A.F.M., Kandeel, K.M. y Sakr, E.M. (2005). Evaluation of *Pterocladia* (Rhodophyta) and *Ulva* (Chlorophyta) meals as additives to gilthead seabream *Sparus aurata* diets. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 31: 321–332.
- » Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E. y Brawley, S.H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J Appl. Phycol.* 29: 949-982.
- » Wijerah, W.H.A.S., Yue, Z., Jiahuan, L., Mengxi, Y, Wenbing, Z. y Kangsen, M. (2020). Dietary taurine improves muscle growth and texture characteristics in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture Reports*, 17, 100305.
- » Xu, H., Dong, X., Zuo, R., Mai, K. y Ai, Q. (2016). Response of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) to different dietary fatty acid profiles: growth performance, tissue lipid accumulation, liver histology and flesh texture. *Aquaculture*, 461: 40–47.
- » Xu, H., Bi, Q., Liao, Z, Sun, B., Jia, L., Wei, Y. y liang, M. (2021). Long-term alternate feeding between fish oil-and terrestrially sourced oil-based diets mitigated the adverse effects of terrestrially source oils on turbot fillet quality. *Aquaculture*, 531.
- » Yabe, T., Ishii, Y., Amano, Y., Koga,T., Hayashi, S., Nohara, S. y Tatsumoto, H. (2008). Green tide forme by free-floating *Ulva spp.* at Yatsu tidal flat, Japan. *Limnology*, 10: 239-245.
- » Yaich, H., Garna, H., Besbes, S., Paquot, M., Blecker, C. y Attia, H. (2011). Chemical composition and functional properties of *Ulva lactuca* seaweed collected in Tunisia. *Food Chem.*, 128: 895–901.
- » Yildirim, O., Ergun, S., Yamam, S. y Toker, A. (2009). Effect of two seaweeds (*Ulva lactuca* and *Enteromorpha linza*) as a feed additive in diets on growth performance, feed utilization and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 15(3): 455-460.
- » Yone, Y., Furuichi, M. y Urano, K. (1986). Effects of dietary wakame *Undaria penatifida* and *Ascophyllum nodosum* supplements on growth, feed efficiency,

and proximate composition of liver and muscle of red sea bream. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52(8):1465-1468.

# ANEXO 1. TABLAS

**Tabla A1.** Cambios *post-descongelación* en el contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS).

	CT	M5	M10	U5	U10	SK	<i>p</i>
<b>1</b>	1,14 ± 0,05 <sup>a1</sup>	1,20 ± 0,04 <sup>a1</sup>	1,19 ± 0,09 <sup>a1</sup>	1,18 ± 0,02 <sup>a1</sup>	1,16 ± 0,01 <sup>a1</sup>	1,43 ± 0,05 <sup>b1</sup>	0,0099
<b>3</b>	1,37 ± 0,03 <sup>b2</sup>	1,31 ± 0,01 <sup>ab2</sup>	1,24 ± 0,04 <sup>a1</sup>	1,26 ± 0,08 <sup>ab1</sup>	1,30 ± 0,01 <sup>ab2</sup>	1,99 ± 0,05 <sup>c2</sup>	<0,0001
<b>6</b>	1,78 ± 0,00 <sup>d3</sup>	1,55 ± 0,02 <sup>cb3</sup>	1,42 ± 0,08 <sup>ab2</sup>	1,32 ± 0,08 <sup>a12</sup>	1,66 ± 0,04 <sup>cd3</sup>	2,11 ± 0,04 <sup>e23</sup>	0,0001
<b>8</b>	2,08 ± 0,04 <sup>c4</sup>	1,79 ± 0,07 <sup>b4</sup>	1,54 ± 0,00 <sup>a2</sup>	1,61 ± 0,08 <sup>a23</sup>	1,70 ± 0,07 <sup>ab3</sup>	2,27 ± 0,10 <sup>d3</sup>	0,0003
<b>10</b>	2,34 ± 0,14 <sup>b5</sup>	1,88 ± 0,05 <sup>a4</sup>	1,78 ± 0,07 <sup>a3</sup>	1,90 ± 0,26 <sup>a3</sup>	1,95 ± 0,00 <sup>a4</sup>	2,81 ± 0,09 <sup>c4</sup>	0,0014
<i>p</i>	0,0001	0,0001	0,0014	0,0132	<0,0001	0,0001	

**Códigos dietarios:** **CT:** pienso control; **M5:** pienso con el 5% de mezcla de microalgas, **M10:** pienso con el 10% de mezcla de microalgas; **U5:** pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*, **M10:** pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; **SK:** pienso comercial. Los valores en la misma columna con diferente letra o número indican diferencias atribuidas al tiempo de almacenamiento, y en la misma fila a la dieta (*n.s.*: no significativo).

**Tabla A2.** Cambios *post-descongelación* en los parámetros de perfil de textura del músculo de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) a los 240 días tras ser alimentados de forma intermitente con piensos experimentales durante los 90 primeros días en preengorde (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

		CT	M5	M10	U5	U10	SK	p
<b>Firmeza</b>	<b>1</b>	88,80 $\pm$ 4,25 <sup>c4</sup>	84,42 $\pm$ 4,98 <sup>bc</sup>	78,39 $\pm$ 5,44 <sup>ab</sup>	81,49 $\pm$ 3,67 <sup>b</sup>	89,20 $\pm$ 7,16 <sup>c3</sup>	73,75 $\pm$ 6,92 <sup>a3</sup>	0,0002
	<b>3</b>	81,06 $\pm$ 4,13 <sup>b3</sup>	82,45 $\pm$ 6,19 <sup>b</sup>	72,81 $\pm$ 5,63 <sup>a</sup>	74,16 $\pm$ 5,40 <sup>a</sup>	81,60 $\pm$ 7,31 <sup>b2</sup>	71,92 $\pm$ 4,96 <sup>a23</sup>	0,0041
	<b>6</b>	82,04 $\pm$ 3,42 <sup>d3</sup>	82,07 $\pm$ 6,35 <sup>d</sup>	71,10 $\pm$ 5,50 <sup>ab</sup>	75,83 $\pm$ 6,07 <sup>bc</sup>	79,47 $\pm$ 4,86 <sup>cd2</sup>	67,17 $\pm$ 2,37 <sup>a12</sup>	<0,0001
	<b>8</b>	75,69 $\pm$ 2,02 <sup>b2</sup>	81,28 $\pm$ 3,88 <sup>c</sup>	70,84 $\pm$ 4,55 <sup>abc</sup>	76,88 $\pm$ 14,94 <sup>bc</sup>	74,66 $\pm$ 6,60 <sup>ab12</sup>	67,08 $\pm$ 1,71 <sup>a12</sup>	0,0027
	<b>10</b>	69,46 $\pm$ 3,47 <sup>1</sup>	74,91 $\pm$ 3,62	70,93 $\pm$ 4,11	73,92 $\pm$ 9,96	72,26 $\pm$ 2,55 <sup>1</sup>	64,63 $\pm$ 4,99 <sup>1</sup>	n.s
	<i>p</i>	<0,0001	n.s	n.s	n.s	0,0016	0,0193	
<b>Elasticidad</b>	<b>1</b>	0,81 $\pm$ 0,03	0,80 $\pm$ 0,06	0,82 $\pm$ 0,05	0,85 $\pm$ 0,08	0,81 $\pm$ 0,07	0,79 $\pm$ 0,03	n.s
	<b>3</b>	0,78 $\pm$ 0,08	0,78 $\pm$ 0,02	0,82 $\pm$ 0,09	0,82 $\pm$ 0,04	0,81 $\pm$ 0,05	0,77 $\pm$ 0,03	n.s
	<b>6</b>	0,76 $\pm$ 0,09	0,79 $\pm$ 0,05	0,77 $\pm$ 0,06	0,80 $\pm$ 0,05	0,81 $\pm$ 0,01	0,74 $\pm$ 0,03	n.s
	<b>8</b>	0,76 $\pm$ 0,06	0,80 $\pm$ 0,06	0,77 $\pm$ 0,05	0,75 $\pm$ 0,05	0,81 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,07	n.s
	<b>10</b>	0,75 $\pm$ 0,03	0,74 $\pm$ 0,05	0,75 $\pm$ 0,04	0,76 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,08	0,71 $\pm$ 0,01	n.s
	<i>p</i>	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	
<b>Cohesividad</b>	<b>1</b>	0,43 $\pm$ 0,02 <sup>a2</sup>	0,50 $\pm$ 0,06 <sup>bc3</sup>	0,46 $\pm$ 0,07 <sup>abc</sup>	0,52 $\pm$ 0,03 <sup>c3</sup>	0,48 $\pm$ 0,04 <sup>abc3</sup>	0,45 $\pm$ 0,06 <sup>ab</sup>	0,0427
	<b>3</b>	0,45 $\pm$ 0,03 <sup>2</sup>	0,47 $\pm$ 0,06 <sup>3</sup>	0,42 $\pm$ 0,07	0,51 $\pm$ 0,05 <sup>23</sup>	0,43 $\pm$ 0,08 <sup>123</sup>	0,46 $\pm$ 0,03	n.s
	<b>6</b>	0,43 $\pm$ 0,03 <sup>a2</sup>	0,46 $\pm$ 0,06 <sup>ab23</sup>	0,41 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,51 $\pm$ 0,03 <sup>b3</sup>	0,42 $\pm$ 0,02 <sup>a2</sup>	0,45 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	0,0169
	<b>8</b>	0,36 $\pm$ 0,03 <sup>a1</sup>	0,41 $\pm$ 0,03 <sup>bc2</sup>	0,37 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	0,45 $\pm$ 0,05 <sup>d12</sup>	0,42 $\pm$ 0,02 <sup>cd2</sup>	0,39 $\pm$ 0,03 <sup>abc</sup>	0,0008
	<b>10</b>	0,36 $\pm$ 0,04 <sup>1</sup>	0,33 $\pm$ 0,04 <sup>1</sup>	0,38 $\pm$ 0,02	0,39 $\pm$ 0,07 <sup>1</sup>	0,33 $\pm$ 0,06 <sup>1</sup>	0,42 $\pm$ 0,03	n.s
	<i>P</i>	0,0001	0,0002	n.s	0,0022	0,0154	n.s	

<b>Gomosidad</b> (N/mm <sup>2</sup> )	<b>1</b>	37,84 ± 1,60 <sup>ab 2</sup>	42,39 ± 4,84 <sup>b 3</sup>	36,21 ± 5,45 <sup>a 2</sup>	42,20 ± 2,36 <sup>b 3</sup>	42,97 ± 6,00 <sup>b 3</sup>	33,17 ± 4,69 <sup>a 2</sup>	0,0022
	<b>3</b>	36,26 ± 3,60 <sup>2</sup>	39,36 ± 7,19 <sup>23</sup>	30,78 ± 7,07 <sup>12</sup>	37,38 ± 3,03 <sup>23</sup>	35,51 ± 8,68 <sup>2</sup>	33,51 ± 4,26 <sup>2</sup>	n.s
	<b>6</b>	35,03 ± 2,03 <sup>bc 2</sup>	38,32 ± 7,44 <sup>c 23</sup>	28,97 ± 4,75 <sup>a 1</sup>	38,86 ± 3,73 <sup>c 23</sup>	33,42 ± 2,37 <sup>abc 2</sup>	30,49 ± 5,81 <sup>ab 12</sup>	0,0045
	<b>8</b>	27,56 ± 2,87 <sup>ab 1</sup>	32,99 ± 3,17 <sup>b 2</sup>	26,07 ± 2,93 <sup>a 1</sup>	34,93 ± 9,16 <sup>ab 12</sup>	31,44 ± 3,59 <sup>b 2</sup>	26,35 ± 2,45 <sup>a 1</sup>	0,0057
	<b>10</b>	25,11 ± 3,82 <sup>1</sup>	24,55 ± 2,50 <sup>1</sup>	26,81 ± 0,87 <sup>1</sup>	28,73 ± 3,05 <sup>1</sup>	23,62 ± 3,83 <sup>1</sup>	26,96 ± 3,10 <sup>1</sup>	n.s
	<i>p</i>	<0,0001	0,0006	0,0151	0,0064	0,0003	0,0267	
<b>Masticabilidad</b> (N.mm)	<b>1</b>	30,65 ± 2,08 <sup>abc 2</sup>	31,45 ± 9,06 <sup>abc</sup>	29,48 ± 4,52 <sup>ab 3</sup>	35,69 ± 4,09 <sup>c 3</sup>	34,45 ± 3,71 <sup>cb 3</sup>	26,24 ± 3,70 <sup>a 2</sup>	0,0350
	<b>3</b>	28,37 ± 4,12 <sup>2</sup>	28,75 ± 8,18	24,93 ± 3,89 <sup>2</sup>	30,80 ± 3,15 <sup>23</sup>	28,87 ± 7,71 <sup>23</sup>	25,93 ± 4,25 <sup>2</sup>	n.s
	<b>6</b>	26,64 ± 4,01 <sup>abc 2</sup>	28,73 ± 10,07 <sup>bc</sup>	22,03 ± 2,24 <sup>a</sup>	31,05 ± 3,63 <sup>c 23</sup>	26,97 ± 2,16 <sup>b 2</sup>	22,72 ± 4,51 <sup>ab 12</sup>	0,0124
	<b>8</b>	20,90 ± 3,37 <sup>1</sup>	23,63 ± 5,21	20,07 ± 2,52 <sup>1</sup>	26,65 ± 8,13 <sup>12</sup>	25,62 ± 4,48 <sup>2</sup>	19,20 ± 2,49 <sup>1</sup>	n.s
	<b>10</b>	18,71 ± 2,92 <sup>1</sup>	18,14 ± 1,69	20,00 ± 1,23 <sup>1</sup>	22,01 ± 2,95 <sup>1</sup>	17,91 ± 3,11 <sup>1</sup>	19,25 ± 2,46 <sup>1</sup>	n.s
	<i>p</i>	<0,0001	n.s	0,0002	0,0031	0,0004	0,0059	
<b>Resiliencia</b> (N/mm)	<b>1</b>	0,26 ± 0,04 <sup>2</sup>	0,29 ± 0,05 <sup>3</sup>	0,26 ± 0,07	0,26 ± 0,04	0,26 ± 0,06	0,23 ± 0,02 <sup>2</sup>	n.s
	<b>3</b>	0,27 ± 0,03 <sup>2</sup>	0,26 ± 0,05 <sup>23</sup>	0,25 ± 0,06	0,29 ± 0,07	0,24 ± 0,06	0,21 ± 0,02 <sup>12</sup>	n.s
	<b>6</b>	0,21 ± 0,04 <sup>ab 1</sup>	0,24 ± 0,05 <sup>bc 12</sup>	0,22 ± 0,06 <sup>abc</sup>	0,27 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,22 ± 0,02 <sup>abc</sup>	0,18 ± 0,04 <sup>a 1</sup>	0,0225
	<b>8</b>	0,22 ± 0,04 <sup>12</sup>	0,20 ± 0,02 <sup>1</sup>	0,18 ± 0,03	0,24 ± 0,07	0,20 ± 0,03	0,18 ± 0,02 <sup>1</sup>	n.s
	<b>10</b>	0,21 ± 0,03 <sup>a 1</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>a 1</sup>	0,19 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,03 <sup>a 1</sup>	0,0119
	<i>p</i>	0,0492	0,0035	n.s	n.s	n.s	0,0201	

**Códigos dietarios:** CT: pienso control; M5: pienso con el 5% de mezcla de microalgas, M10: pienso con el 10% de mezcla de microalgas; U5: pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*, M10: pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; SK: pienso comercial. Los valores en la misma columna con diferente letra o número indican diferencias atribuidas al tiempo de almacenamiento y en la misma fila a la dieta (n.s.: no significativo).

**Tabla A3.** Cambios *post-descongelación* en el pH y la CRA del músculo dorsal de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) a los 240 días tras ser alimentados de forma intermitente con piensos experimentales durante los 90 primeros días en preengorde (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

	CT	M5	M10	U5	U10	SK	p	
<b>pH</b>	1	6,62 $\pm$ 0,04 <sup>a1</sup>	6,68 $\pm$ 0,06 <sup>abc1</sup>	6,75 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	6,69 $\pm$ 0,05 <sup>bc1</sup>	6,66 $\pm$ 0,05 <sup>ab1</sup>	6,73 $\pm$ 0,05 <sup>cd</sup>	0,0013
	3	6,61 $\pm$ 0,04 <sup>a1</sup>	6,68 $\pm$ 0,04 <sup>bc1</sup>	6,73 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	6,71 $\pm$ 0,03 <sup>bc1</sup>	6,66 $\pm$ 0,03 <sup>ab1</sup>	6,72 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	0,0005
	6	6,68 $\pm$ 0,03 <sup>a2</sup>	6,70 $\pm$ 0,03 <sup>ab1</sup>	6,73 $\pm$ 0,04 <sup>bc</sup>	6,70 $\pm$ 0,06 <sup>ab1</sup>	6,75 $\pm$ 0,04 <sup>c2</sup>	6,76 $\pm$ 0,04 <sup>c</sup>	0,0112
	8	6,72 $\pm$ 0,04 <sup>2</sup>	6,78 $\pm$ 0,06 <sup>2</sup>	6,79 $\pm$ 0,04	6,78 $\pm$ 0,03 <sup>2</sup>	6,76 $\pm$ 0,06 <sup>2</sup>	6,80 $\pm$ 0,08	<i>n.s</i>
	10	6,73 $\pm$ 0,01 <sup>2</sup>	6,74 $\pm$ 0,05 <sup>12</sup>	6,73 $\pm$ 0,06	6,74 $\pm$ 0,07 <sup>1</sup>	6,77 $\pm$ 0,04 <sup>2</sup>	6,78 $\pm$ 0,05	<i>n.s</i>
	<i>p</i>	<0,0001	0,0196	<i>n.s</i>	0,0290	0,0010	<i>n.s</i>	
<b>CRA</b>	1	64,97 $\pm$ 1,42	62,38 $\pm$ 2,89	62,46 $\pm$ 2,31	62,47 $\pm$ 3,09	62,45 $\pm$ 2,40	62,41 $\pm$ 2,76	<i>n.s</i>
	3	63,14 $\pm$ 1,98	61,38 $\pm$ 1,81	61,98 $\pm$ 2,58	62,48 $\pm$ 2,13	63,02 $\pm$ 3,11	62,74 $\pm$ 1,43	<i>n.s</i>
	6	63,00 $\pm$ 2,48	61,34 $\pm$ 3,31	62,17 $\pm$ 1,67	62,75 $\pm$ 2,08	63,53 $\pm$ 1,70	62,11 $\pm$ 1,83	<i>n.s</i>
	8	63,84 $\pm$ 1,49	62,60 $\pm$ 1,27	62,43 $\pm$ 1,75	62,75 $\pm$ 1,90	63,36 $\pm$ 1,81	61,69 $\pm$ 1,82	<i>n.s</i>
	10	63,27 $\pm$ 0,92 <sup>bc</sup>	63,92 $\pm$ 2,76 <sup>bc</sup>	65,12 $\pm$ 2,60 <sup>c</sup>	66,02 $\pm$ 1,50 <sup>c</sup>	62,22 $\pm$ 1,27 <sup>ab</sup>	60,20 $\pm$ 1,41 <sup>a</sup>	0,0053
	<i>p</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	

**Códigos dietarios:** CT: pienso control; M5: pienso con el 5% de mezcla de microalgas, M10: pienso con el 10% de mezcla de microalgas; U5: pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*, M10: pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; SK: pienso comercial. Los valores en la misma columna con diferente letra o número indican diferencias atribuidas al tiempo de almacenamiento.y en la misma fila a la dieta (*n.s.*: no significativo).

**Tabla A4.** Cambios *post-descongelación* en los parámetros de color de la piel de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) a los 240 días tras ser alimentados de forma intermitente con piensos experimentales durante los 90 primeros días en preengorde (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

	CT	M5	M10	U5	U10	SK	p	
<b>L*</b>	1	37,60 $\pm$ 2,99 <sup>2</sup>	35,13 $\pm$ 3,24 <sup>2</sup>	34,64 $\pm$ 3,07	36,40 $\pm$ 3,74	35,46 $\pm$ 3,10	35,72 $\pm$ 2,92	<i>n.s</i>
	3	34,80 $\pm$ 1,20 <sup>2</sup>	35,11 $\pm$ 2,43 <sup>2</sup>	35,70 $\pm$ 2,64	32,82 $\pm$ 2,96	34,92 $\pm$ 2,53	33,35 $\pm$ 2,27	<i>n.s</i>
	6	34,11 $\pm$ 2,21 <sup>12</sup>	31,99 $\pm$ 1,83 <sup>1</sup>	34,29 $\pm$ 3,79	33,15 $\pm$ 2,89	35,25 $\pm$ 2,60	32,73 $\pm$ 3,75	<i>n.s</i>
	8	32,67 $\pm$ 1,99 <sup>12</sup>	32,35 $\pm$ 2,29 <sup>1</sup>	32,05 $\pm$ 1,52	33,60 $\pm$ 2,25	34,02 $\pm$ 1,18	32,69 $\pm$ 1,15	<i>n.s</i>
	10	33,06 $\pm$ 0,93 <sup>1</sup>	32,16 $\pm$ 2,60 <sup>1</sup>	33,03 $\pm$ 2,48	35,06 $\pm$ 3,57	35,76 $\pm$ 2,93	33,93 $\pm$ 1,98	<i>n.s</i>
	<i>p</i>	<0,0001	0,0160	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	
<b>a*</b>	1	-0,99 $\pm$ 0,15 <sup>1</sup>	-0,90 $\pm$ 0,37 <sup>12</sup>	-1,24 $\pm$ 0,45	-1,39 $\pm$ 0,56	-1,40 $\pm$ 0,50	-1,12 $\pm$ 0,37 <sup>1</sup>	0,0703
	3	-0,67 $\pm$ 0,13 <sup>2</sup>	-0,87 $\pm$ 0,31 <sup>1</sup>	-0,94 $\pm$ 0,47	-0,98 $\pm$ 0,39	-1,15 $\pm$ 0,39	-1,04 $\pm$ 0,20 <sup>1</sup>	<i>n.s</i>
	6	-0,60 $\pm$ 0,36 <sup>b 23</sup>	-0,51 $\pm$ 0,09 <sup>b 2</sup>	-0,90 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	-0,82 $\pm$ 0,37 <sup>ab</sup>	-1,15 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	-0,72 $\pm$ 0,48 <sup>b 23</sup>	0,0011
	8	-0,38 $\pm$ 0,23 <sup>c 3</sup>	-0,55 $\pm$ 0,15 <sup>c 2</sup>	-0,81 $\pm$ 0,10 <sup>ab</sup>	-0,90 $\pm$ 0,26 <sup>ab</sup>	-0,97 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	-0,78 $\pm$ 0,12 <sup>b 2</sup>	<0,0001
	10	-0,03 $\pm$ 0,31 <sup>d 3</sup>	-0,55 $\pm$ 0,22 <sup>bc 2</sup>	-0,77 $\pm$ 0,22 <sup>abc</sup>	-0,87 $\pm$ 0,47 <sup>ab</sup>	-1,00 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	-0,43 $\pm$ 0,36 <sup>c 3</sup>	0,0004
	<i>p</i>	<0,0001	0,0073	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	0,0031	
<b>b*</b>	1	5,62 $\pm$ 0,34 <sup>ab 3</sup>	6,25 $\pm$ 0,63 <sup>c 2</sup>	6,03 $\pm$ 0,53 <sup>bc</sup>	6,28 $\pm$ 0,59 <sup>c</sup>	6,43 $\pm$ 0,35 <sup>c</sup>	5,24 $\pm$ 0,34 <sup>a 2</sup>	<0,0001
	3	4,92 $\pm$ 0,32 <sup>a 1</sup>	5,64 $\pm$ 0,55 <sup>c 1</sup>	5,50 $\pm$ 1,04 <sup>abc</sup>	5,67 $\pm$ 0,68 <sup>c</sup>	6,12 $\pm$ 0,26 <sup>d</sup>	5,22 $\pm$ 0,17 <sup>b 2</sup>	0,0004
	6	5,19 $\pm$ 0,36 <sup>ab 12</sup>	5,55 $\pm$ 0,41 <sup>bc 1</sup>	5,89 $\pm$ 0,78 <sup>c</sup>	5,80 $\pm$ 0,70 <sup>c</sup>	6,41 $\pm$ 0,36 <sup>d</sup>	4,79 $\pm$ 0,35 <sup>a 1</sup>	<0,0001
	8	5,07 $\pm$ 0,32 <sup>a 12</sup>	5,71 $\pm$ 0,24 <sup>b 1</sup>	5,79 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	6,08 $\pm$ 0,63 <sup>c</sup>	6,25 $\pm$ 0,33 <sup>c</sup>	4,99 $\pm$ 0,31 <sup>a 12</sup>	<0,0001
	10	5,35 $\pm$ 0,23 <sup>ab 23</sup>	5,70 $\pm$ 0,45 <sup>b 1</sup>	6,36 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	6,08 $\pm$ 0,93 <sup>ab</sup>	6,11 $\pm$ 0,70 <sup>b</sup>	4,98 $\pm$ 0,41 <sup>a 12</sup>	0,0067
	<i>p</i>	0,0007	0,0327	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	<i>n.s</i>	0,0327	

**Códigos dietarios:** CT: pienso control; M5: pienso con el 5% de mezcla de microalgas, M10: pienso con el 10% de mezcla de microalgas; U5: pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*, M10: pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; SK: pienso comercial. Los valores en la misma columna con diferente letra o número indican diferencias atribuidas al tiempo de almacenamiento y en la misma fila a la dieta (*n.s.*: no significativo).

**Tabla A5.** Cambios *post-descongelación* en los parámetros de color del músculo de los filetes congelados de rodaballo (*Scophthalmus maximus*) a los 240 días tras ser alimentados de forma intermitente con piensos experimentales durante los 90 primeros días en preengorde (valores medios  $\pm$  SD, n=5).

	CT	M5	M10	U5	U10	SK	<i>p</i>	
<b>L*</b>	<b>1</b>	52,93 $\pm$ 1,47 <sup>b</sup>	50,55 $\pm$ 2,42 <sup>a 1</sup>	50,63 $\pm$ 2,80 <sup>a 1</sup>	52,32 $\pm$ 2,82 <sup>ab</sup>	53,33 $\pm$ 1,83 <sup>b 2</sup>	52,31 $\pm$ 1,59 <sup>ab</sup>	0,0443
	<b>3</b>	53,15 $\pm$ 1,62 <sup>ab</sup>	52,97 $\pm$ 1,33 <sup>ab 2</sup>	53,60 $\pm$ 1,27 <sup>b 2</sup>	52,80 $\pm$ 1,81 <sup>ab</sup>	51,46 $\pm$ 2,31 <sup>a 1</sup>	51,32 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	0,0140
	<b>6</b>	53,85 $\pm$ 1,79	51,14 $\pm$ 1,19 <sup>1</sup>	54,17 $\pm$ 2,07 <sup>2</sup>	52,57 $\pm$ 2,08	54,47 $\pm$ 1,70 <sup>23</sup>	51,37 $\pm$ 9,38	<i>n.s</i>
	<b>8</b>	52,55 $\pm$ 2,30	53,94 $\pm$ 1,93 <sup>23</sup>	53,88 $\pm$ 1,18 <sup>2</sup>	53,87 $\pm$ 2,09	54,73 $\pm$ 1,47 <sup>23</sup>	52,62 $\pm$ 2,47	<i>n.s</i>
	<b>10</b>	54,23 $\pm$ 1,94	55,85 $\pm$ 2,10 <sup>3</sup>	55,18 $\pm$ 2,03 <sup>2</sup>	55,12 $\pm$ 2,78	55,93 $\pm$ 2,26 <sup>3</sup>	55,02 $\pm$ 1,69	<i>n.s</i>
	<i>p</i>	<i>n.s</i>	<0,0001	0,0006	<i>n.s</i>	0,0007	<i>n.s</i>	
<b>a*</b>	<b>1</b>	-2,31 $\pm$ 0,27 <sup>bcd 2</sup>	-2,20 $\pm$ 0,36 <sup>cd 4</sup>	-2,56 $\pm$ 0,36 <sup>ab 3</sup>	-2,43 $\pm$ 0,29 <sup>abc 3</sup>	-2,69 $\pm$ 0,28 <sup>a 3</sup>	-2,02 $\pm$ 0,34 <sup>d 4</sup>	0,0006
	<b>3</b>	-2,54 $\pm$ 0,21 <sup>ab 2</sup>	-2,70 $\pm$ 0,17 <sup>a 3</sup>	-2,67 $\pm$ 0,20 <sup>a 3</sup>	-2,59 $\pm$ 0,17 <sup>a 3</sup>	-2,48 $\pm$ 0,45 <sup>ab 3</sup>	-2,32 $\pm$ 0,16 <sup>b 3</sup>	0,0108
	<b>6</b>	-3,51 $\pm$ 0,27 <sup>ab 1</sup>	-2,80 $\pm$ 0,44 <sup>b 23</sup>	-3,52 $\pm$ 0,17 <sup>a 2</sup>	-3,15 $\pm$ 0,32 <sup>b 2</sup>	-3,46 $\pm$ 0,27 <sup>ab 2</sup>	-3,34 $\pm$ 0,19 <sup>b 2</sup>	0,0007
	<b>8</b>	-3,21 $\pm$ 0,20 <sup>b 1</sup>	-3,20 $\pm$ 0,21 <sup>c 2</sup>	-3,61 $\pm$ 0,27 <sup>ab 2</sup>	-3,29 $\pm$ 0,69 <sup>acb 12</sup>	-3,44 $\pm$ 0,18 <sup>b 2</sup>	-3,61 $\pm$ 0,18 <sup>a 1</sup>	0,0038
	<b>10</b>	-3,19 $\pm$ 0,83 <sup>12</sup>	-3,60 $\pm$ 0,13 <sup>1</sup>	-4,00 $\pm$ 0,32 <sup>1</sup>	-3,07 $\pm$ 1,48 <sup>1</sup>	-4,08 $\pm$ 0,34 <sup>1</sup>	-3,64 $\pm$ 0,14 <sup>1</sup>	<i>n.s</i>
	<i>p</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0018	<0,0001	<0,0001	
<b>b*</b>	<b>1</b>	-1,12 $\pm$ 0,67 <sup>1</sup>	-0,88 $\pm$ 0,24 <sup>1</sup>	-1,25 $\pm$ 0,61 <sup>1</sup>	-1,27 $\pm$ 0,76 <sup>1</sup>	-1,02 $\pm$ 0,62 <sup>1</sup>	-0,20 $\pm$ 1,47 <sup>1</sup>	<i>n.s</i>
	<b>3</b>	-1,14 $\pm$ 0,37 <sup>a 1</sup>	-0,38 $\pm$ 0,55 <sup>abc 1</sup>	-0,37 $\pm$ 0,37 <sup>b 2</sup>	0,09 $\pm$ 0,46 <sup>c 2</sup>	0,75 $\pm$ 1,01 <sup>c 1</sup>	0,44 $\pm$ 0,32 <sup>c 1</sup>	<0,0001
	<b>6</b>	1,26 $\pm$ 0,47 <sup>2</sup>	1,52 $\pm$ 0,74 <sup>2</sup>	1,44 $\pm$ 0,26 <sup>3</sup>	1,37 $\pm$ 0,56 <sup>3</sup>	1,57 $\pm$ 0,96 <sup>2</sup>	1,12 $\pm$ 0,35 <sup>2</sup>	<i>n.s</i>
	<b>8</b>	1,34 $\pm$ 0,41 <sup>2</sup>	1,70 $\pm$ 0,70 <sup>2</sup>	1,33 $\pm$ 1,00 <sup>3</sup>	2,22 $\pm$ 0,83 <sup>4</sup>	1,81 $\pm$ 0,54 <sup>2</sup>	1,94 $\pm$ 0,59 <sup>3</sup>	<i>n.s</i>
	<b>10</b>	3,04 $\pm$ 0,64 <sup>b 3</sup>	2,68 $\pm$ 0,89 <sup>ab 3</sup>	1,94 $\pm$ 0,73 <sup>3</sup>	2,38 $\pm$ 0,52 <sup>4</sup>	2,83 $\pm$ 0,30 <sup>b 3</sup>	3,04 $\pm$ 0,58 <sup>b 4</sup>	0,0434
	<i>p</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	

**Códigos dietarios:** CT: pienso control; M5: pienso con el 5% de mezcla de microalgas, M10: pienso con el 10% de mezcla de microalgas; U5: pienso con el 5% de harina de *Ulva rigida*, M10: pienso con el 10% de harina de *Ulva rigida*; SK: pienso comercial. Los valores en la misma columna con diferente letra o número indican diferencias atribuidas al tiempo de almacenamiento y en la misma fila a la dieta (*n.s.*: no significativo).