



Facultade de Veterinaria

Traballo de  
Fin de Grao

Técnicas analíticas no control  
da fraude por substitución en  
produtos da pesca e a súa  
aplicación en España

Javier Castelos Esparís

**Grao en Veterinaria**

Ano 2021

Modalidade do Traballo: Revisión Bibliográfica

## Licenza

Agás onde se faga constar explicitamente, esta obra pertence a Javier Castelos Esparís e está baixo unha licenza de “Creative Commons Reconocimiento 4.0 Internacional”.



## Resumo

### *Técnicas analíticas no control da fraude por substitución en produtos da pesca e a súa aplicación en España*

A alta complexidade na cadea alimentaria que presentan os produtos da pesca é ideal para a presenza de actividades fraudulentas que poden supoñer un risco elevado para a saúde pública. Co fin de combater as fraudes alimentarias neste sector, existen numerosos mecanismos públicos que verifican que as actividades dos operadores son completamente lícitas. Entre eses mecanismos preséntanse unha gran variedade de técnicas analíticas, tanto de índole biolóxica como química, que permiten identificar con elevada precisión as especies que se presentan nos mercados. Entre as máis empregadas destacan o código de barras do ADN, a PCR (sobre todo as variantes que emiten resultados a tempo real) e a espectrometría, todas elas contan con numerosos estudos que avalan a súa efectividade para esta labor. Unha boa implementación destas ferramentas nas inspeccións pode supoñer un avance máis cara a mellorar a loita contra a fraude alimentaria.

**Palabras chave:** rastrexabilidade, métodos analíticos, peixe, fraude, inspección, control oficial, España.

## Resumen

### *Técnicas analíticas en el control del fraude por sustitución en productos de la pesca y su aplicación en España*

La alta complejidad en la cadena alimentaria que presentan los productos de la pesca es ideal para la presencia de actividades fraudulentas que pueden suponer un riesgo elevado para la salud pública. Con el fin de combatir los fraudes alimentarios en este sector, existen numerosos mecanismos públicos que verifican que las actividades de los operadores son completamente lícitas. Entre estos mecanismos se presentan una gran variedad de técnicas analíticas, tanto de índole biológica como química, que permiten identificar con elevada precisión las especies que se presentan en los mercados. Entre las más empleadas destacan el código de barras del ADN, la PCR (sobre todo las variantes que emiten resultados en tiempo real) y la espectrometría, todas ellas cuentan con numerosos estudios que avalan su efectividad para esta labor. Una buena implementación de estas herramientas en las inspecciones puede suponer un avance más en la mejora de la lucha contra el fraude alimentario.

**Palabras clave:** trazabilidad, métodos analíticos, pescado, fraude, inspección, control oficial, España.

## Abstract

### *Analytical techniques in the control of substitution fraud in fishery products and their application in Spain*

The high complexity of the food chain for fishery products is ideal for fraudulent activities that can pose a high risk to public health. In order to combat food fraud in this sector, numerous public mechanisms are in place to verify that operators' activities are completely legal. These mechanisms include a wide variety of analytical techniques, both biological and chemical, which allow highly accurate identification of the species sold on markets. Among the most used are DNA barcoding, PCR (especially those varieties with real-time results) and spectrometry, all of them appear in several studies that support their effectiveness for this work. A good implementation of these tools in inspections can be a further step improving the fight against food fraud.

**Key words:** traceability, analytical methods, fish, fraud, inspection, official control, Spain.

# Índice

Resumo.....	1
Resumen.....	2
Abstract.....	3
Índice de gráficas.....	6
Índice de ilustracións.....	6
Índice de táboas.....	6
Abreviaturas.....	7
1. Introducción e obxectivos.....	9
1.1. Situación actual do sector pesqueiro na Unión Europea.....	9
1.2. Fraude alimentaria nos produtos da pesca.....	11
1.2.1. Categorias de fraude alimentaria.....	11
1.2.2. Lexislación aplicable.....	14
2. Materiais e métodos.....	16
3. Exposición do tema.....	16
3.1. Métodos biolóxicos.....	16
3.1.1. Análise sensorial.....	17
3.1.2. Análise de proteínas.....	18
3.1.2.1. Isoelectroenfoque nativo (IEF).....	18
3.1.2.2. Electroforese en xeles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE).....	18
3.1.2.3. Electroforese bidimensional (2-DE).....	18
3.1.2.4. Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC).....	19
3.1.2.5. Ensaio por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).....	19
3.1.3. Análise do ADN.....	19
3.1.3.1. Código de barras do ADN (DNA <i>Barcoding</i> ).....	19
3.1.3.2. Reacción en Cadea da Polimerase (PCR).....	21
3.1.3.2.1. Reacción en cadea da polimerase xunto co polimorfismo de lonxitude de fragmentos de restrición (PCR-RFLP).....	21
3.1.3.2.2. Reacción en cadea da polimerase do polimorfismo de conformación de cadea simple (PCR-SSCP).....	22
3.1.3.2.3. Amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD).....	22
3.1.3.2.4. Polimorfismos na lonxitude de fragmentos amplificados (AFLP).....	23
3.1.3.2.5. Reacción en cadea da polimerase en tempo real (RT-PCR).....	23
3.1.3.2.6. Análise de Fusión de Alta Resolución (SA-HRMA).....	24

3.1.3.2.7. Secuenciación de nucleótidos con información forense (FINS) .....	24
3.1.3.2.8. Análise de pirosecuenciación .....	24
3.2. Métodos físico-químicos .....	25
3.2.1. Espectrometría de masas (MS).....	25
3.2.1.1. Espectrometría de masas en tándem (MS/MS) .....	25
3.2.1.2. Desorción/ionización láser asistida por unha matriz con detección de masas por tempo de voo (MALDI-TOF-MS) .....	27
3.2.1.3. Espectrometría de masas de relacións isotópicas (IRMS).....	27
3.2.1.4. Espectrometría de masas de ionización por evaporación rápida (REIMS) .....	28
3.2.2. Espectroscopia de reflectancia no infravermello próximo (NIRS) .....	28
3.2.3. Espectroscopia de impedancia.....	29
3.2.4. Impresión dixital de oligoelementos (TEF).....	29
3.3. Perspectivas no control da fraude e da rastrexabilidade do peixe .....	30
3.4. Estado actual do control analítico da fraude pesqueira en España .....	30
3.4.1. Mecanismos documentais contra a fraude.....	32
3.4.2. Exemplo de protocolo de actuación ante sospeita de fraude alimentaria .....	33
4. Conclusións .....	37
5. Bibliografía .....	38

## Índice de gráficas

Gráfica 1. Participantes do sector pesqueiro ata o consumidor final (elaboración propia, baseado no traballo de Leal et al., 2015).....	11
---	----

## Índice de ilustracións

Ilustración 1. Filetes de bacallau (Fonte: Leffmann, 2017). .....	14
Ilustración 2. Electroforese de produtos inespecíficos amplificados mediante PCR (Fonte: Retama, 2008). .....	21
Ilustración 3. Espectro de masas dunha mestura de péptidos (Fonte: Mkolt, 2005). .....	27
Ilustración 4. Etiqueta dun lote de palometa á venda na Lonxa de Vigo (autoría propia). .....	32
Ilustración 5. Corpo de atún fresco no mercado pesqueiro de Marsella (Fonte: Ratki, 2014). ...	33

## Índice de táboas

Táboa 1. Consumo de produtos da pesca en España no período 2014-2019 (Fonte: INE, 2020). .....	10
Táboa 2. Técnicas analíticas baseadas en métodos biolóxicos, mediante análise sensorial e de proteínas, efectivas nos control da fraude (elaboración propia). .....	17
Táboa 3. Técnicas analíticas baseadas en métodos biolóxicos, mediante análises do ADN, efectivas nos control da fraude (elaboración propia). .....	20
Táboa 4. Técnicas analíticas baseadas en métodos físico-químicos efectivas nos control da fraude (elaboración propia). .....	26

## Abreviaturas

- 16s ARN: ARN ribosómico da subunidade ribosómica 16S
- 2-DE: *2-dimensional electrophoresis* (Electroforese bidimensional)
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- ADNmt CR: Rexión de control do ADN mitocondrial
- ADNmt: ADN mitocondrial
- ADNr: ADN ribosómico
- AESAN: Axencia Española de Seguridade Alimentaria e Nutrición
- AFLP: *Amplified fragment length polymorphism* (Polimorfismos na lonxitude de fragmentos amplificados)
- AG: Ácidos graxos
- AMS: *Ambient Mass Spectrometry* (Espectrometría de masas en condicións ambientais)
- BCD: Documentación de capturas do atún vermello
- Bp: *Base pair* (Par de bases)
- CE: Comunidade Europea
- Cyt b: Citocromo b
- COI: Citocromo c oxidase I
- CNA: Centro Nacional de Alimentación
- CSIC: Consello Superior de Investigacións Científicas
- DOP: Denominación de Orixe Protexida
- EFTA: *European Free Trade Association* (Acordo Europeo de Libre Comercio)
- ELISA: Ensaio por inmunoabsorción ligado a enzimas
- ENAC: Entidade Nacional de Acreditación
- FAO: Organización das Nacións Unidas para a Alimentación e a Agricultura
- FINS: *Forensically informative nucleotide sequencing* (Secuenciación de nucleótidos con información forense)
- ICCAT: *International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas* (Comisión Internacional para a Conservación do Atún Atlántico)
- IEF: *Isoelectric focusing* (Isoelectroenfoque nativo)
- INDNR: Pesca ilegal, non declarada e non regulamentada
- INE: Instituto Nacional de Estatística
- IRMS: *Isotope-ratio mass spectrometry* (Espectrometría de masas de relacións isotópicas)
- ITS1: *Internal transcribed spacer* (Espazador transcrito interno)
- IXP: Indicación Xeográfica Protexida

LC-MS/MS: *Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry* (Cromatografía líquida ligada á espectrometría de masas en tándem)

LMR: Límite Máximo de Residuos

m/z: Relación masa/carga iónica

MALDI-TOF-MS: *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry* (Desorción/ionización láser asistida por unha matriz con detección de masas por tempo de voo)

MAPA: Ministerio de Agricultura, Pesca e Alimentación

MS/MS: *Tandem Mass Spectrometry* (Espectrometría de masas en tándem)

MS: *Mass Spectrometry* (Espectrometría de masas)

NIRS: *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* (Espectroscopia de reflectancia no infravermello próximo)

OCM: Organización Común de Mercados

PCR: *Polymerase chain reaction* (Reacción en cadea da polimerase)

PCR-RFLP: *Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism polymorphism* (Reacción en cadea da polimerase xunto co polimorfismo de lonxitude de fragmentos de restrición)

PCR-SSCP: *Polymerase chain reaction-Single-strand conformation polymorphism* (Reacción en cadea da polimerase do polimorfismo de conformación de cadea simple)

PNCOCA: Plan Nacional de Control Oficial da Cadea Alimentaria

PPC: Política Pesqueira Común

RAPD: *Random Amplification of Polymorphic DNA* (Amplificación aleatoria de ADN polimórfico)

RASFF: *Rapid Alert System Feed and Food* (Sistema de alerta rápida para pensos e alimentos)

REIMS: *Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry* (Espectrometría de masas de ionización por evaporación rápida)

RP-HPLC: *Reverse phase high performance liquid chromatography* (Cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa)

RT-PCR: *Real time polymerase chain reaction* (Reacción en cadea da polimerase a tempo real)

SA-HRMA: *Short Amplicon High Resolution Melting Analysis* (Análise de Fusión de Alta Resolución)

SCIRI: Sistema Coordinado de Intercambio de Información

SDS-PAGE: *Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (Electroforese en xeles de policramida con SDS)

TEF: *Trace Element Fingerprinting* (Impresión dixital de oligoelementos)

UE: Unión Europea

UV: Ultravioleta

## 1. Introducción e obxectivos

Os produtos da pesca, definidos no Regulamento (CE) N° 853/2004 como todos aqueles animais mariños ou de auga doce (salvo os moluscos bivalvos vivos, os equinodermos vivos, os tunicados vivos e os gasterópodos mariños vivos, así como todos os mamíferos, réptiles e ras), sexan salvaxes ou de cría, incluíndo tódalas partes e produtos comestibles do devandito animais, caracterízanse por seren alimentos cunha importante achega de proteínas de alto valor biolóxico, vitaminas, minerais en abundancia e ácidos graxos. Con respecto á carne, o peixe distínguese polo predominio de ácidos graxos insaturados, destacando o seu contido en omega-3, o que se traduce en importantes efectos beneficiosos sobre o sistema circulatorio do consumidor e ata unha diminución do risco de padecer certos tipos de cancro (Domingo *et al.*, 2007).

Unha das rexións europeas con maior comercio e consumo de produtos da pesca é España (De Battisti *et al.*, 2014). Neste país, o ambiente dunha gastronomía tradicional na que o peixe preséntase como un alimento fundamental e de elevado valor comercial, sumado ó intrincado mercado deste tipo de produtos (gran cantidade de intermediarios antes de chegar ó consumidor final), resultan nun caldo de cultivo comercial idóneo para a aparición de situacións fraudulentas.

Os perigos derivados da fraude son numerosos e abarcan tanto o ámbito económico como o de saúde pública. As actividades para evitalas e controlalas son fundamentais para asegurar un comercio seguro do peixe.

O obxectivo deste traballo é facer unha recompilación bibliográfica das principais técnicas analíticas dispoñibles para a identificación efectiva das especies de peixe habitualmente comercializadas en España. A intención é mostrar e comparar a súa eficacia para atallar o fraude por substitución e o etiquetado erróneo e, a maiores, comprobar a súa utilidade para implementar o labor das autoridades competentes con respecto á seguridade alimentaria, determinando cales poden ser as ferramentas que mellor se adaptan a detección da fraude nos produtos da pesca do mercado español.

### 1.1. Situación actual do sector pesqueiro na Unión Europea

O comercio de peixe e demais produtos pesqueiros é un dos sectores máis importantes da industria alimentaria. Estimouse unha produción mundial total de 179 millóns de toneladas durante o ano 2018, das cales, 159 destináronse ó consumo humano. Un sector no que Europa aporta un 10 % da produción total de peixe e, dentro do continente, España participa co 1 % da totalidade da produción da pesca de captura mariña, situándose como un dos 25 principais produtores a nivel mundial (FAO, 2020).

Dentro da produción total a acuicultura representa un 46 %, mostrando un incremento gradual nas últimas décadas. Semella que vai superar nun futuro próximo ás capturas de peixe salvaxe. Na

acuicultura, a maior representación atópase nas especies extractivas coma os bivalvos mariños con máis da metade das toneladas obtidas en todo o mundo ó longo do ano 2018 (FAO, 2020).

En España, dende 2008, foi diminuindo a cantidade de compra de produtos pesqueiros. Pese a esta redución, os fogares destinan a mercar este tipo de produtos ó redor dun 12,94 % do seu presuposto asignado para alimentación. Ademais, o prezo medio das mercadorías incluídas na categoría de produtos pesqueiros (peixes frescos, peixes conxelados, mariscos, moluscos, crustáceos e conservas de peixes e moluscos) incrementouse ata 8,66 €/kg no 2019. Neste mesmo ano, o consumo per cápita individual destes produtos situouse en 22,53 kg (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación [MAPA], 2020).

Os produtos da pesca máis consumidos nos últimos anos (Táboa 1), continúan sendo os frescos, seguidos das conservas e, a continuación, do marisco fresco (MAPA, 2020). A maior parte do comercio está representado pola venda de peixe fresco ou refrixerado para o consumo humano directo. Porén, unha gran parte do peixe, principalmente nos países desenvolvidos, destínase para conxelados, conservas e outros tipos de elaboracións.

Táboa 1. Consumo de produtos da pesca en España no período 2014-2019 (Fonte: INE, 2020).

Cantidade consumida total (miles de unidades)						
	2019	2018	2017	2016	2015	2014
<b>Peixe fresco ou refrixerado (K)</b>	355.250	358.735	365.220	390.274	396.424	397.814
<b>Peixe conxelado (K)</b>	77.495	80.115	75.691	86.986	86.356	96.305
<b>Marisco fresco ou refrixerado (K)</b>	127.530	121.233	124.639	138.052	150.588	145.249
<b>Marisco conxelado (K)</b>	51.924	49.213	51.979	50.734	55.697	53.722
<b>Peixe e marisco seco, afumado ou salgado (K)</b>	23.379	23.706	21.522	26.156	26.943	25.460
<b>Peixe e marisco procesado e outras preparacións de peixe e marisco (K)</b>	237.997	246.761	254.055	246.152	264.247	257.800

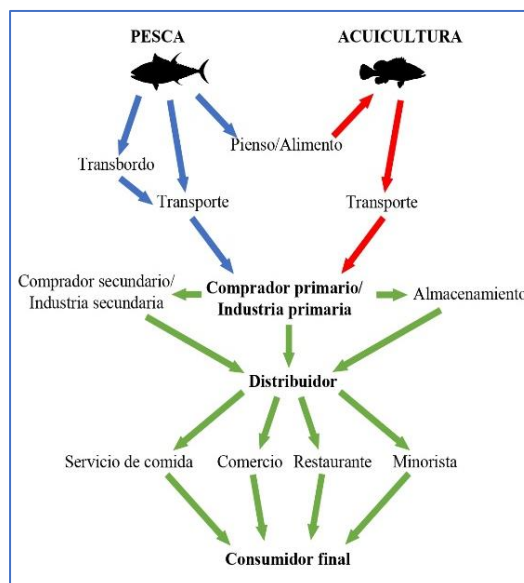
Precisamente, os países desenvolvidos son os que teñen as restricións máis estritas para a comercialización e transporte do peixe vivo e refrixerado, o que supón un maior control nas materias de hixiene alimentaria e nos requisitos de calidade deste tipo de alimentos (FAO, 2020). O acceso libre á información, as campañas de concienciación e as tendencias sociais mostran un aumento na preocupación dos consumidores por temas como a sostibilidade, a calidade ou a inocuidade dos alimentos, impulsando sistemas de rastrexabilidade e de certificación cada vez máis completos e eficaces (FAO, 2020) cos que se favoreza un comercio xusto e seguro no que o consumidor poida escoller atendendo á información importante dos produtos que queira mercar.

## 1.2. Fraude alimentaria nos produtos da pesca

Defínese no *Diccionario panhispánico del español jurídico* (2017) o concepto de fraude alimentaria como o “delito consistente en adulterar alimentos ou bebidas destinados a consumo humano ou en comerciar cos mesmos, ou con xénero corrompidos, con perigo para a saúde das persoa”. Pódense incluír nesta definición o emprego de sustancias prohibidas ou o intento de enmascarar defectos dos propios alimentos a sabendas de que pode resultar perigoso para a saúde dos consumidores. O obxectivo da fraude adoita ser o incremento dos beneficios económicos alterando o valor dos produtos que van ser comercializados ou reducindo os seus custos de produción (Everstine *et al.*, 2013). Trátase dun delito contra a saúde pública recollido nos artigos 363- 367 do Código Penal.

A característica da fraude alimentaria é a intencionalidade das accións co fin de obter un beneficio económico mediante o incumprimento da normativa, tendo como resultado o descontento dos consumidores (Comisión Europea, 2020a). Non se trata unicamente das repercusións económicas que estas actividades desencadean, xa que os enganados comerciais poñen en risco a saúde dos propios consumidores sexa por alérxenos, parasitos, contaminación química, farmacolóxica ou toxinas, entre outros. A isto debemos sumarlle as consecuencias ambientais derivadas da pesca ilegal, non declarada e non regulamentada (INDNR) que provoca sobreexplotación de poboacións mariñas e destrución dos hábitats acuáticos. De aí a importancia da loita coordinada e intensiva sobre a fraude no comercio dos produtos da pesca.

O sector pesqueiro e da acuicultura é altamente vulnerable á fraude alimentaria. Existen diferenzas de prezos considerables entre especies semellantes que, sumado á complexidade do sector (Gráfica 1), forman un contexto idóneo para as actividades fraudulentas (FAO, 2020). Debido a estas prácticas desleais estímase unhas perdas de 30 000 millóns de euros anuais na industria alimentaria de produtos pesqueiros a nivel mundial (Secretaría General del Consejo, 2019).



Gráfica 1. Participantes do sector pesqueiro ata o consumidor final (elaboración propia, baseado no traballo de Leal *et al.*, 2015).

### 1.2.1. Categorias de fraude alimentaria

A *EU Food Fraud Network* divide en cinco categorías principais as distintas formas de incorrer en delito de fraude alimentaria: (1) erros no etiquetado, (2) adulteración dos produtos, (3)

tratamentos ou procedementos prohibidos, (4) fallos na documentación e (5) incumprimento dos dereitos de propiedade intelectual (Comisión Europea, 2020a).

- 1) Etiquetado erróneo intencionado. Declaración incompleta ou inexistente de produtos empregados na elaboración dos alimentos, por exemplo, non incluír no etiquetado a presenza dalgúns aditivos ou engadidos pero de maneira incompleta. Tamén poden incluírse as etiquetas enganosas que usan categorías comerciais como “orgánico” ou “ecolóxico” en produtos que non cumpren coas especificacións. É a forma de fraude máis común na Unión Europea.
- 2) Adulteración dos produtos. Relaciónase principalmente coa substitución de especies máis caras por outras de menor prezo no mercado. Os nomes comúns do peixe adoitan ser diferentes segundo as zonas onde se atopan; esta situación causa confusión nos consumidores cando son empregados tamén como nomes comerciais polo tanto, estas prácticas intencionadas poden ser utilizadas como mecanismo de fraude alimentaria nesta clase de produtos (Pardo & Jiménez, 2020). Inclúense nesta categoría as dilucións ou adicións doutros produtos que tamén provocan a confusión do consumidor sobre o que está a mercar.
- 3) Tratamentos e procedementos prohibidos. Emprego de substancias recollidas como prohibidas na normativa europea ou que superan os límites máximos de residuos establecidos (LMR). Os procedementos de elaboración deben estar en consonancia coa normativa europea e estatal aplicable en materia de hixiene.
- 4) Fallos na documentación. Por falsificación de datos ou falta de información obrigatoria que impiden unha correcta rastrexabilidade dos produtos.
- 5) Incumprimento dos dereitos da propiedade intelectual. Denominacións de mercadorías baixo o nomeamento específico de certificacións de calidade como a Indicación Xeográfica Protexida (IXP) ou a Denominación de Orixe Protexida (DOP) sen cumpriren a lexislación sobre as mesmas.

Segundo o informe anual sobre a fraude alimentaria na Unión Europea realizado pola Comisión, no ano 2019 notificáronse, por parte dos países membros, 292 casos de fraude dos cales 42 atópanse baixo a categoría de peixe e produtos da pesca, sendo esta a segunda categoría que máis notificacións rexistrou, superada unicamente polos aceites. España participou neste informe con 4 avisos ó longo do ano (Comisión Europea, 2020a).

Europa é a principal zona de importación de peixe, situación que segue unha tendencia á alza co paso dos anos (FAO, 2020), sendo España o país máis importador e grande exportador destas mercadorías dentro da Unión Europea (Saubí, 2019). Existe unha crecente preocupación por

detectar a fraude no comercio mundial<sup>1</sup> e as medidas adoptadas no continente son un bo reflexo desta inquietude.

No ano 2014 nace un proxecto coordinado entre 60 participantes e promotores procedentes dos estados membros da Unión Europea (máis dous alleos, un de China e outro de Arxentina) chamado FoodIntegrity. A propia UE financia publicamente este proxecto. O obxectivo desta organización versa sobre a loita contra a fraude alimentaria en tódolos niveis da cadea alimentaria, implementando métodos e ferramentas que permitan asegurar a calidade e a seguridade dos alimentos. O apartado 6 do proxecto está enfocado directamente ós produtos pesqueiros (Fera, 2015), tratando de determinar novos métodos que favorezan unha análise efectiva dos produtos como as ferramentas de *screening* ou as bases de recollida de datos sobre o etiquetado incorrecto. De feito, unha das súas grandes propostas é a creación dunha plataforma *web* de coñecemento e de almacenamento de datos sobre a fraude alimentaria, á que teñan acceso todos os axentes implicados e as propias autoridades competentes como medida para fortalecer a loita ante estes delitos (Fera, 2015).

Un ano despois, a Comisión Europea pon en marcha un plan coordinado para coñecer a incidencia de peixe branco (bacallau, merluza, rodaballo, etc.) incorrectamente etiquetado no comercio interior. Neste proxecto participan os 27 países membros e 2 países da *European Free Trade Association* (EFTA). Analízanse cerca de 4000 mostras de 150 especies diferentes de peixe fresco e produtos procesados. O 6 % das mostras analizadas resultaron non conformes; en España a porcentaxe de produtos de peixe branco mal etiquetado duplica a media europea (33 resultados non conformes de 270 mostras). As técnicas empregadas para este estudo foron IEF (isoelectroenfoque nativo), PCR-RFLP (reacción en cadea da polimerase xunto co polimorfismo de lonxitude de fragmentos de restrición), *DNA-barcoding*, RT-PCR (reacción en cadea da polimerase a tempo real) (Comisión Europea, 2015).

Enfocando á fraude alimentaria no sector pesqueiro debemos recoñecer, a maiores das categorías xa citadas, a pesca ilegal ou non declarada, como pode ser superar os límites das cotas establecidas ou a captura de especies prohibidas e talles inferiores aos permitidos; a fraude polo método de captura, declarando falsamente un método de captura que non corresponde coa realidade da actividade; e mesmo as condicións escravistas de traballo dos empregados e o benestar animal asociado, sobre todo, ca acuicultura: densidades, procedementos de sacrificio ou o transporte (Fox *et al.*, 2018).

---

<sup>1</sup> O escándalo da carne de cabalo do ano 2013 foi un dos maiores desencadeantes da nova situación legislativa con respecto á fraude alimentaria no continente europeo. Atopouse carne de cabalo en produtos cárnicos de diversas cadeas comerciais vendidos como carne de vacún (Fresneda, 2013).

En España, o bacallau (Ilustración 1), a merluza e o atún vermello son os produtos que adoitan substituírse por especies de menor valor comercial (Pardo & Jiménez, 2020). Nesta clase de alimentos, canto maior é o grao de transformación na industria alimentaria e máis elaborados se encontran, máis posibilidades existen de que a actividade fraudulenta pase desapercibida.



*Ilustración 1. Filetes de bacallau (Fonte: Leffmann, 2017).*

### 1.2.2. Lexislación aplicable

A finais de 2013, publícase a nova Política Pesqueira Común (PPC), lexislada polo Regulamento (UE) N° 1379/2013 e o Regulamento (UE) N° 1380/2013 do Parlamento Europeo e do Consello nos que se establece unha organización común de mercados para a industria da pesca e da acuicultura (OCM) co obxectivo de contribuír a un mercado eficiente e transparente en favor dos intereses tanto dos consumidores como dos produtores.

Na actualidade, a normativa europea en materia de inspección de produtos da pesca atópase regulada polo Regulamento (UE) N° 2017/625, que derogaba o anterior regulamento sobre controis oficiais e o Regulamento (CE) N° 854/2004, entre outros. Complétase a lexislación co Regulamento de Execución (UE) N° 2019/627, o Regulamento (UE) N° 2019/624 e o Regulamento (UE) N° 2019/628.

O Regulamento de Execución (UE) N° 2019/627, de aplicación directa en tódolos estados membros, determina os labores e procedementos do inspector veterinario respecto ós alimentos de orixe animal, incluíndo os produtos da pesca. Segundo esta normativa, os controis oficiais realizaranse en tódolos buques atracados nos portos autorizados dos Estados membros, aínda que tamén existe a posibilidade da inspección no mar. Serán tamén zonas de controis periódicos as lonxas, os mercados grosistas, os lugares de almacenaxe e os transportes. Durante este labor, o veterinario oficial deberá velar pola saúde pública prestando atención a diversos criterios como a calidade organoléptica, os indicadores de frescura do produto, a posibilidade de contaminación biótica e abiótica ou os peixes venenosos. Aqueles produtos que fagan sospeitar de risco para a saúde deberán ser obxecto de mostraxe para realizar as comprobacións pertinentes. Toda mercadoría que implique risco para a saúde, tanto humana como animal ou por calquera razón xustificada, poderá declararse non apta para consumo.

Por outro lado, o control debe realizarse tamén cos documentos que acompañan a estes produtos. Para evitar a fraude, os produtos pesqueiros sempre deben de acompañarse dos certificados oficiais correspondentes. No Regulamento (UE) N° 2017/625 determínase a capacidade das autoridades competentes para previr e sancionar o uso indebido dos certificados e a súa falsificación. Esta normativa recolle as medidas a adoptar en caso de confirmarse o

incumprimento, xunto cun réxime de sancións eficaces, proporcionadas e disuasorias aplicables a estas situacións, poñendo especial fincapé nas infraccións cometidas baixo accións fraudulentas que atenten contra o dereito nacional. As sancións presentan particularidades dentro de cada comunidade, as autonomías teñen as súas propias leis de pesca nas que se reflicte este réxime sancionador máis específico cá normativa europea.

No referente á rastrexabilidade desta clase de produtos de orixe animal, o artigo 58 do Regulamento (UE) N° 1224/2009 determina a obrigatoriedade directa de que os produtos tanto da pesca como da acuicultura sexan rastrexables en tódalas súas fases da cadea de produción. Para isto especifica a necesidade dun etiquetado completo e correcto no que se deberá incluír de forma imprescindible datos como o nome común e científico da peza, a data de captura ou de produción e a zona xeográfica entre outros. O Regulamento (UE) N° 1379/2013, xa citado anteriormente, completa indicando a información obrigatoria que deberá aparecer no etiquetado cara ó consumidor<sup>2</sup> engadindo, ós datos xa mencionados, se o produto foi conxelado, a data de duración mínima e o método de produción.

É importante ter en conta que a loita contra a fraude alimentaria require, non só a actuación dos inspectores oficiais, senón unha implicación intersectorial que permita abarcar as posibles infraccións que poidan cometerse dentro da cadea alimentaria. A día de hoxe, é obriga dos operadores das empresas alimentarias (tanto produtores primarios, como industrias, como distribuidores) cumprir coa normativa vixente e, polo tanto, non incorrer en fraude. Non obstante, para comprobar ese cumprimento, debe existir unha estreita colaboración entre as autoridades sanitarias, as autoridades fiscais, aduaneiras e policiais, incluíndo tamén as institucións encargadas da persecución de delitos e outras forzas e corpos de seguridade estatais (Secretaría General del Consejo, 2019). O obxectivo é abordar as situacións fraudulentas de maneira coordinada para actuar da forma máis rápida e efectiva posible. A isto é indispensable sumarlle as campañas de sensibilización dos destinatarios finais dos alimentos, os consumidores, favorecendo a ampliación do seu coñecemento sobre o que implica a fraude alimentaria (DG Health and Food Safety, 2020).

Unha das ferramentas clave da UE para garantir a seguridade alimentaria nos estados membros é a RASFF (*Rapid Alert System Feed and Food*). Creada en 1979, permite o intercambio rápido de información relativa a medidas tomadas en resposta a riscos graves, directos ou indirectos, relacionados cos alimentos e pensos entre as autoridades competentes que participan no labor de garantir produtos seguros para os consumidores no mercado (Comisión Europea, 2020b). A nivel

---

<sup>2</sup> Sen prexuízo do Regulamento (UE) N° 1169/2011 sobre a información alimentaria facilitada ó consumidor.

nacional existe tamén unha rede de intercambio de información rápida chamada SCIRI (Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información) que permite e facilita a vixilancia das posibles incidencias alimentarias que poidan repercutir na saúde dos consumidores, entre as que se atopan as actividades fraudulentas en calquera punto da cadea alimentaria. O SCIRI atópase integrado tamén nos sistemas de alerta europeos como a RASFF (Axencia Española de Seguridade Alimentaria e Nutrición [AESAN], 2019).

## 2. Materiais e métodos

A procura bibliográfica realizouse a través das bases de datos Google Scholar, Web of Science, Pubmed e Dialnet, empregando as seguintes palabras chave en inglés: *fishery*, *fraud* e *analytical methods*. O período temporal de busca estivo comprendido entre os anos 1998 e 2021. O principal criterio de inclusión da bibliografía foi a aplicabilidade dos estudos ás especies comerciais presentes nos mercados nacionais.

Revisáronse un total de 57 publicación relacionadas ca fraude alimentaria no sector pesqueiro ca intención de recompilar as principais formas de control analítico empregado na loita contra a fraude por substitución. Para a xestión desta bibliografía utilizouse ProQuest®RefWorks.

## 3. Exposición do tema

Intercambiar sen declarar e de forma intencionada especies pesqueiras nun produto alimentario co propósito de acadar beneficios económicos, é a forma de incorrer na fraude alimentaria por substitución. Esta actividade ilegal provoca o descoñecemento do consumidor sobre o que vai inxerir, o que supón un perigo directo sobre a súa saúde.

Debido a elevada presenza dos produtos da pesca na dieta habitual das familias españolas, é fundamental o uso de ferramentas analíticas nos controis oficiais de cara a incrementar a precisión e a efectividade na detección da fraude por substitución nas mercadorías pesqueiras, co fin de proporcionar alimentos seguros para os consumidores.

Dentro dos métodos analíticos de identificación de especies empregados nos produtos da pesca podemos diferenciar os métodos biolóxicos e os métodos físico-químicos, cada un coas súas características intrínsecas e fundamento analítico. Estes métodos presentan distintas vantaxes e desvantaxes na súa aplicación para o control da fraude por substitución nos produtos da pesca, que serán discutidas a continuación.

### 3.1. Métodos biolóxicos

Aínda que a principal utilidade dos métodos biolóxicos na inspección do peixe sexa a avaliación da presenza de organismos prexudiciais para a saúde dos consumidores, mediante as técnicas microbiolóxicas, tamén posúen mecanismos efectivos para a identificación de especies e, polo

tanto, para empregar na loita contra a fraude nos produtos de orixe pesqueira. Os métodos biolóxicos poden dividirse naqueles que funcionan en base ó estudo das proteínas (Táboa 2) ou en base a análise do ADN presente na mostra (Táboa 3). Globalmente, a utilidade de cada unha destas técnicas vese fortemente marcada polo grao de elaboración e/ou procesamento do produto alimenticio que se pretende analizar.

Táboa 2. Técnicas analíticas baseadas en métodos biolóxicos, mediante análise sensorial e de proteínas, efectivas nos control da fraude (elaboración propia).

Técnicas	Finalidade	Vantaxes	Desvantaxes
Análise sensorial			
Análise sensorial	Recoñecemento dos caracteres morfolóxicos específicos de cada especie	Valoración no momento. Efectiva en puntos de venda de produtos frescos.	Non efectiva cando faltan os caracteres distintivos. Necesita de experiencia do inspector.
Análise de proteínas			
IEF	Identificación de especies de peixes e crustáceos non procesados termicamente	Sinxeleza e baixos custos.	Non poden empregarse en produtos procesados a altas temperaturas.
SDS-PAGE	Identificación de especies de peixes		
2-DE	Identificación de especies. Diferenciación de especies salvaxes e de acuicultura	Maior resolución cas técnicas nunha dimensión. Efectiva en mesturas	Dificultade na identificación de especies moi emparentadas.
RP-HPLC	Identificación de especies en mesturas de produtos frescos ou conxelados	Rapidez. Capacidade de obter perfís específicos de cada especie.	
ELISA	Identificación de especies <i>in situ</i> en produtos non procesados	Rápida, sinxela, barata.	

### 3.1.1. Análise sensorial

Dentro dos métodos biolóxicos pódense engadir as técnicas de recoñecemento sensorial (Fiorino *et al.*, 2018). Esta é a forma máis tradicional de inspección que, mediante os sentidos do propio inspector (sobre todo o sentido da vista) e a súa experiencia e habilidade, permiten a diferenciación entre especies morfoloxicamente semellantes (Xiong *et al.*, 2019). O uso dos sentidos limita a súa efectividade a todos aqueles produtos que conserven os caracteres individuais e recoñecibles da especie. De feito, resultan inservibles na gran maioría dos casos nos que estes produtos pasan a ser procesados na industria. Ademais, a fiabilidade sempre vai a estar suxeita á capacidade de percepción do propio inspector que pode ser variable ou ineficiente e depende de numerosos factores intrínsecos e extrínsecos.

A raíz desta situación limitadora na identificación do peixe aparece a necesidade de atopar novas técnicas que permitan realizar este traballo de maneira efectiva. Polo tanto, nas últimas décadas

comezan a presentarse diversos métodos moleculares, baseados principalmente na detección de proteínas e ADN, que pasan a empregarse no recoñecemento das distintas especies comerciais.

### 3.1.2. Análise de proteínas

#### 3.1.2.1. Isoelectroenfoque nativo (IEF)

Esta ferramenta permite o estudo das proteínas en base ó seu punto isoeléctrico. Nun gradiente de pH no que se aplica un campo eléctrico as proteínas tenden a migrar segundo a súa carga eléctrica cara a un dos polos e, cando estas alcanzan o seu punto isoeléctrico, precipitan (Saubí, 2019). Trátase dunha técnica empregada para a identificación de peixe e crustáceos (Altinelataman *et al.*, 2009), sobre todo de produtos indebidamente etiquetados.

Como as proteínas sometidas a temperaturas elevadas desnaturalízanse facilmente, esta técnica non pode ser usada naquelas elaboracións mediadas por procesos térmicos. O IEF foi empregado recentemente en Alemaña para a detección da fraude por substitución de linguado (*Solea solea*) por especies de menor valor comercial nos restaurantes (Kappel & Schröder, 2016).

#### 3.1.2.2. Electroforese en xeles de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE)

Na técnica de electroforese en xel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE), a separación das proteínas prodúcese en función da súa masa molecular. Migran sobre a superficie dun xel de poliacrilamida no que se debe incluír, previamente, un patrón de pesos moleculares coñecidos. A diferenza da IEF, este tipo de electroforese permite analizar mostras de produtos procesados termicamente. Non obstante, ó tratarse dunha técnica electroforética dunha soa dimensión, non se pode distinguir especies dunha mestura xa que non teñen capacidade para resolver máis dun centenar de compoñentes proteicos diferentes nun mesmo xel (Sánchez, 2012). Esta técnica é barata e sinxela e foi empregada con éxito, por exemplo, para a identificación de sete das especies da familia Tetraodontidae, comunmente denominadas peixes globo: *Lagocephalus wheeleri*, *L. gloveri*, *L. lunaris*, *L. inermis*, *Takifugu oblongus*, *T. xanthopterus* e *Sphoeroides pachygaster* (Chen & Hwang, 2002).

#### 3.1.2.3. Electroforese bidimensional (2-DE)

O método da electroforese bidimensional (2-DE) combina ámbalas dúas técnicas anteriores, conseguindo unha primeira dimensión de estudo en base ó IEF e unha segunda dimensión mediante á SDS-PAGE (Sánchez, 2012). A técnica resulta efectiva na correcta identificación do peixe sen as limitacións propias das técnicas dunha dimensión, como evidencia un estudo de diferenciación entre as catro principais especies que se engloban dentro do termo “perca”: perca europea (*Perca fluviatilis*), perca do Nilo (*Lates niloticus*), lucioperca europea (*Stizostedion lucioperca*) e lubina soleada (*Morone chrysops x saxatilis*) (Berrini *et al.*, 2006).

Tamén pode combinarse, a maiores, con outra electroforese monodimensional. Esta asociación presentou bos resultados na distinción analítica entre filetes de bacallau salvaxe (*Gadus morhua*) dos criados en piscifactoría (Martinez *et al.*, 2007).

#### 3.1.2.4. Cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC)

Unha alternativa á lentitude dos métodos electroforéticos no estudo das proteínas poden ser as técnicas cromatográficas como a cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC), xa que posibilita a separación de proteínas e péptidos para a súa análise. Segundo a polaridade que mostran estas moléculas poden ser representadas nun cromatograma, xerando un perfil específico para cada especie analizada. Pode ser aplicada con éxito en mesturas de produtos frescos e/ou conxelados. Con todo, carece de utilidade nos produtos procesados termicamente e mostra dificultade para diferenciar especies relacionadas filoxeneticamente (Knuutinen & Harjula, 1998).

A parte da súa utilidade na identificación de especies, a cromatografía líquida de alta resolución tamén pode ser aplicada na detección de aditivos usados na elaboración dos alimentos, servindo así como método analítico de elección para detectar aditivos non declarados ou aqueles de uso prohibidos como poden ser, por exemplo, os sulfitos no peixe fresco (Lim *et al.*, 2014).

#### 3.1.2.5. Ensaio por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA)

A meirande parte das técnicas xenéticas de principios de século destacan pola necesidade de posuír equipos custosos, elevada experiencia dos técnicos e por longos períodos de tempo para obter unha conclusión en base ás análises (Asensio *et al.*, 2008). En consecuencia, desenvólvense novas aplicacións para técnicas inmunolóxicas como o ensaio por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). As grandes vantaxes que presenta son a rapidez e a sinxeleza. O ELISA postúlase como unha ferramenta barata e eficaz para empregar de maneira habitual na inspección de numerosos produtos pesqueiros non procesados.

A base do seu funcionamento radica no uso de anticorpos con marcadores que se unen a receptores específicos presentes na mostra da especie a identificar, de esta maneira a reacción prodúcese unicamente naquelas mostras que conteñan o peixe que se quere detectar (Asensio *et al.*, 2008). A simplicidade deste método abriu a porta á chegada de *kits* comerciais rápidos para aplicar na identificación diaria *in situ* e favorecer a rastrexabilidade dos produtos e, polo tanto, implementar a actuación na loita contra a fraude (Asensio *et al.*, 2008).

### 3.1.3. Análise do ADN

#### 3.1.3.1. Código de barras do ADN (DNA *Barcoding*)

As técnicas máis empregadas para a identificación de produtos pesqueiros fundaméntanse na detección do ADN (Táboa 3) das especies comercializadas (Xiong *et al.*, 2019), principalmente

mediante a codificación do ADN mitocondrial por medio do DNA *barcoding*, tamén chamado, código de barras de ADN (Pardo & Jiménez, 2020).

Táboa 3. Técnicas analíticas baseadas en métodos biolóxicos, mediante análises do ADN, efectivas nos control da fraude (elaboración propia).

Técnicas	Finalidade	Vantaxes	Desvantaxes
Análise de ADN			
Código de barras do ADN	Identificación de especies. Detección de produtos mal etiquetados.	Diferencia tódalas especies comerciais. Creación dunha base de datos xenéticos.	Falta de harmonización de criterios para as bases de datos e os métodos de avaliación.
PCR-RFLP, PCR-SSCP, RAPD, AFLP	Identificación e diferenciación de especies emparentadas filoxeneticamente de cefalópodos e peixes	Alta sensibilidade e especificidade Efectivas en alimentos procesados e mesturas	Dificultade para distinguir especies emparentadas Necesidade de coñecer patróns de referencia da especie (agás RAPD)
RT-PCR	Identificación rápida de produtos pesqueiros frescos, conxelados ou procesados	Redución de tempo e custos cas demais PCR. Resultados en tempo real.	Non obter toda a información dos nucleótidos complica a diferenciación das especies emparentadas
SA-HRMA	Identificación e distinción de especies emparentadas		
FINS, Pirosecuenciación	Identificación de peixe e produtos da pesca frescos e procesados	Efectivas en mostras co ADN parcialmente degradado.	Dificultade na identificación de produtos mesturados

Aínda que o ADN poida chegar a desnaturalizarse a causa dalgúns procedementos industriais dos alimentos, trátase de moléculas máis estables cas proteínas (sobre todo o ADNmt) de aí que a súa empregabilidade abrangha tanto materias primas como alimentos procesados (Fiorino *et al.*, 2018).

A codificación de ADN detectando o fragmento 650 bp do xene mitocondrial citocromo C oxidasa I (COI) utilízase para a diferenciación da gran maioría das especies do reino animal. Polo tanto, pódese usar de maneira efectiva na identificación de especies de tódolos produtos comerciais de orixe pesqueira (De Battisti *et al.*, 2014). Dito fragmento curto da cadea de ADN pode ser secuenciado e estandarizado de maneira sinxela para cada unha das especies, de tal forma que esta caracterización ten a posibilidade ser gardada nun banco de datos xenéticos como *GenBank* ou *EMBL-BANK*. Esta técnica susténtase no sinxelo illamento e detección dese fragmento xenético na especie a analizar para despois seren comparado ca base de datos taxonómica xa coñecida (Saubí, 2019). Con todo, aínda existen deficiencias na harmonización dos métodos empregados para xerar as distintas bases de datos, isto pode dificultar a interpretación dos resultados cando os procedementos de estudo e os das bases non se corresponden (Clark, 2015). Caracterízase pola simpleza do proceso, o que lle outorga rapidez e baixo custo a unha técnica

altamente efectiva para a identificación de especies e detección de produtos erroneamente etiquetados.

Os avances nesta técnica durante a última década foron encamiñados ó desenvolvemento do deseño de iniciadores universais. Isto permiten aumentar a capacidade de obter, dun pequeno fragmento xenético, unha rexión amplificada con valor filoxenético suficiente para diferenciar especies mediante unha simple secuenciación de cebadores universais baseada no fragmento 16s ARNr (Horreo *et al.*, 2013).

### 3.1.3.2. Reacción en Cadea da Polimerase (PCR)

A técnica de bioloxía molecular denominada Reacción en Cadea da Polimerase (PCR), desenvolta a finais do século pasado, obtivo grande importancia como método de identificación de produtos alimentarios. A PCR funciona replicando fragmentos de ADN orixinal presente nas mostras a analizar. Os produtos obtidos son amplificacións de información xenética que poderán ser avaliados posteriormente. Para isto, o procedemento consta da repetición de varios ciclos a diferentes temperaturas, altas e baixas, que permiten a desnaturalización da molécula de ADN. A continuación, mediante cebadores, delimitase a rexión que vai ser amplificada para que a enzima polimerase poida actuar duplicando as febras do ADN. Desta forma aumenta a lonxitude da cadea de nucleótidos e facilítase así o seu estudo (Burbano *et al.*, 2017).

Os fragmentos resultantes adoitan ser separados por electroforese dando lugar a patróns específicos (Ilustración 2) que posibilitan a identificación das distintas especies. A maior limitación que presenta a PCR relaciónase ca dificultade de distinguir entre especies moi emparentadas posto que os patróns dos fragmentos poden ser moi semellantes nestes casos (Saubí, 2019).

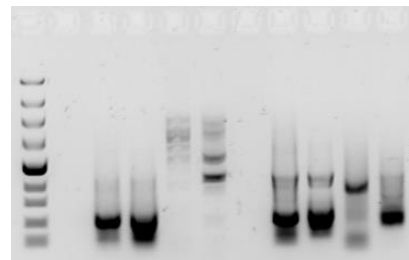


Ilustración 2. Electroforese de produtos inespecíficos amplificados mediante PCR (Fonte: Retama, 2008).

A súa efectividade para as actividades de identificación fana unha ferramenta idónea para actuar na detección da fraude e a supervisión da rastrexabilidade dos produtos da pesca. Ademais, a súa utilidade pode abarcar dende as materias primas ata os alimentos procesados e mesturas de distintas especies. Porén, a medida que a tecnoloxía avanza, aparecen variacións da técnica orixinal que perfeccionan máis o seu uso na inspección de alimentos.

#### 3.1.3.2.1. Reacción en cadea da polimerase xunto co polimorfismo de lonxitude de fragmentos de restrición (PCR-RFLP)

A PCR-RFLP é un método baseado na amplificación de fragmentos restrinxidos de ADN que permite xerar gran cantidade de marcadores xenéticos favorecendo a detección de distintas especies debido as súas diferencias de masa molecular. O procedemento consta da amplificación dunha rexión previamente seleccionada que posteriormente é sometida a unha electroforese co

obxectivo de separar os fragmentos a analizar e obter o patrón específico de cada especie (Saubi, 2019).

Xa que esta técnica por si mesma presenta limitacións á hora de identificar especies altamente emparentadas, no ano 2019, Pappalardo e colaboradores presentaron un estudo no que empregaban a combinación da PCR-RFLP e o código de barras do fragmento 650 bp do xene COI (mencionado anteriormente) co fin de distinguir entre as 5 principais especies de esturións e as especies máis empregadas na fraude por substitución do caviar: *Acipenser transmontanus*, *A. gueldenstaedtii*, *A. stellatus*, *A. baerii*, *Mallotus villosus*, *Huso huso*, *Cyclopterus lumpus* e *Eumicrotremus orbis*. O resultado determina que esta nova estratexia molecular, a COI<sub>bar</sub>-RFLP, é unha ferramenta rápida (proceso que dura ó redor de 7 horas) que posúe capacidade para discernir entre especies taxonomicamente achegadas e que podería ser usada como método de *screening* na rutina de identificación de especies.

#### 3.1.3.2.2. Reacción en cadea da polimerase do polimorfismo de conformación de cadea simple (PCR-SSCP)

A PCR-SSCP é unha técnica sinxela e rápida que permite identificar e caracterizar polimorfismos xenéticos. O seu fundamento radica en que a secuencia primaria e a lonxitude dun fragmento de ADN determinan a súa estrutura secundaria cando migra nun xel de poliacrilamida (Han & Robinson, 2003). Esta migración pode provocar variacións na secuencia de nucleótidos, dando lugar a cambios tamén no patrón electroforético (Sánchez, 2012), cambios que poden ser detectados mediante a lectura dos nucleótidos radioactivos engadidos ó ADN durante a PCR previa.

Como condición indispensable para a interpretación correcta dos resultados, é necesario o coñecemento previo da migración de patróns das especies de referencia ó mesmo tempo que a mostra problema está a seren analizada, xa que a alteración das condicións electroforéticas poden xerar certas variacións nos patróns de bandas (Sánchez, 2012).

#### 3.1.3.2.3. Amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD)

Esta variación da PCR usa cebadores simples, universais e inespecíficos co obxectivo de amplificar fragmentos aleatorios dunha mostra de ADN. Desta forma obtense un vasto espectro de amplificación mediante os numerosos produtos resultantes da PCR que, migrados nun xel de agarosa, dan lugar a un patrón específico da cada especie (Senthil & Gurusubramanian, 2011). Débese obter, tamén, o patrón da especie de referencia, empregando os mesmos cebadores, para a posterior comparación e confirmación dos resultados. Trátase dunha técnica sinxela e de baixo custo que non precisa do coñecemento previo do xenoma das especies a estudar (Asensio *et al.*, 2002).

Por outra lado, con esta técnica resulta imposible distinguir entre fragmentos de tamaños semellantes que pertencen a distintas rexións do ADN e, ademais, cando o ADN está degradado adoitan producirse alteracións nos patróns de bandas (Sánchez, 2012). Aínda que a RAPD non sufriu moito uso na identificación de especies pesqueiras, nalgúns casos empregouse con resultados positivos para a detección de substitución de especies como o mero (*Epinephelus marginatus*) co o peixe náufrago do Atlántico (*Polyprion americanus*) e ca perca do Nilo (*L. niloticus*) (Asensio *et al.*, 2002).

#### 3.1.3.2.4. Polimorfismos na lonxitude de fragmentos amplificados (AFLP)

Este método combina as dúas técnicas anteriormente comentadas: RFLP e RAPD. O procedemento comeza cunha primeira dixestión do ADN a analizar mediante enzimas de restrición. Engadindo ós extremos dos fragmentos uns adaptadores nucleotídicos, estes poden ser amplificados mediante PCR usando cebadores complementarios. Os produtos resultantes estúdanse nun xel de agarosa ou de poliacrilamida (Sánchez, 2012). Para a interpretación dos resultados é necesario ter unha base de datos de referencia coa que comparalos e determinar a especie correcta.

Debido a súa elevada sensibilidade, aínda que menor ca outras técnicas baseadas na PCR, trátase dunha técnica eficaz para analizar os produtos que non poden selo de maneira tradicional co fin de identificar as especies pesqueiras (Maldini *et al.*, 2006). Non obstante, o seu emprego diminúe cada vez máis pola aparición de novas técnicas máis eficientes como a PCR a tempo real ou a FINS.

#### 3.1.3.2.5. Reacción en cadea da polimerase en tempo real (RT-PCR)

A maior parte dos métodos xenéticos empregados adoitan ser complexos e consomen moito tempo antes de obter os resultados. Por este motivo, nos últimos anos están a desenvolverse técnicas máis simples e de rápido funcionamento para poder seren aplicadas no mesmo sitio da inspección polas autoridades. Unha desas novas técnicas é a PCR en tempo real (RT-PCR), un método cunha efectividade superior a 90 % (Velasco *et al.*, 2020), que permitiría reducir custos e promover a loita contra a fraude en primeira liña de inspección. Este procedemento, cunha duración aproximada de 3-4 horas, pode detectar e cuantificar pequenas cantidades de ADN mediante un único paso (Velasco *et al.*, 2020), presentando elevada especificidade e sensibilidade en produtos da pesca frescos, conxelados e mesmo cociñados, incluídos produtos elaborados a partir de mesturas de varias especies distintas.

Na RT-PCR a amplificación do fragmento xenético prodúcese durante a propia reacción, non ó final como no caso dunha PCR convencional, de maneira que a fluorescencia xerada neste proceso é detectada a medida que se vai producindo (Saubi, 2019).

#### 3.1.3.2.6. Análise de Fusión de Alta Resolución (SA-HRMA)

Seguindo na liña da RT-PCR, recentemente desenvolvéronse métodos rápidos de identificación baseados na técnica de SA-HRMA. Unha técnica que consiste na lectura a tempo real das variacións de fluorescencia xeradas pola amplificación mediante PCR da mostra de ADN (momento de maior fluorescencia) e durante o quecemento, que é cando se separan as febras e cando a fluorescencia vai diminuindo (Jiménez, 2017). Este método foi probado con éxito na diferenciación da especie de bacallau atlántico (*Gadus morhua* L.) das principais especies de menor valor comercial coas que se comete fraude por substitución deste peixe: *G. chalcogrammus* e *G. macrocephalus* (Fiorino *et al.*, 2018). A ferramenta pode aplicarse en mostras procesadas onde o ADN presente certo grao de degradación. O baixo custo e a escasa duración do procedemento, menor a unha hora, definen esta técnica como un eficiente mecanismo de campo contra a substitución de especies (Tomás *et al.*, 2017).

#### 3.1.3.2.7. Secuenciación de nucleótidos con información forense (FINS)

Na última década, a secuenciación de nucleótidos con información forense (FINS) foi empregada en numerosos traballos para a identificación de peixes e demais produtos da pesca (Fiorino *et al.*, 2018). A técnica baséase na secuenciación dun fragmento de ADN, previamente amplificado mediante PCR, seguido dunha análise e comparación das secuencias de nucleótidos para concretar a especie. Precísase, polo tanto, acceso a unha base de datos ampla e completa con secuencias de referencia das especies a identificar. Ademais, é de elevada importancia escoller un correcto marcador molecular que permita discernir correctamente entre especies altamente emparentadas (Sánchez, 2012).

A ferramenta pode ser usada en produtos procesados, pero non nos alimentos elaborados a partir de mesturas, xa que implica a necesidade dunha clonación previa, o que significa un aumento de tempo e custo do procedemento (Sánchez, 2012).

#### 3.1.3.2.8. Análise de pirosecuenciación

Esta técnica permite secuenciar de maneira efectiva fragmentos pequenos de nucleótidos mediante a detección do pirofosfato liberado durante a síntese do ADN. A reacción, que comeza ca polimerización dun ácido nucleico, xera estímulos luminosos que poden ser detectados con rapidez e facilidade (Ronaghi, 2001). A pirosecuenciación ten a capacidade de analizar varios produtos diferentes de maneira simultánea obtidos a partir dunha PCR.

No ano 2013, De Battisti e colaboradores desenvolveron un protocolo baseado nesta técnica que permite a identificación de especies comerciais mediterráneas dos xéneros *Clupeidae* e *Pleuronectidae* coas que se adoita cometer fraude. Esta ferramenta resulta útil en produtos elaborados que presenten o ADN parcialmente degradado e posibilita a detección e secuenciación

de pequenas cadeas de ADN (520 bp) nun tempo relativamente curto, podendo identificar a especie nun período de entre 3,5 e 7 horas (De Battisti *et al.*, 2014).

Noutro estudo posterior, elabórase outro método fundamentado na pirosecuenciación eficaz para identificar as especies das principais familias comerciais mediterráneas de moluscos bivalvos (Pectinidae, Mytilidae, Donacidae, Ostreidae, Pharidae e Veneridae) ante a posible fraude alimentaria por substitución de especies de alto valor comercial por outras máis baratas (Abbadí *et al.*, 2017).

## 3.2. Métodos físico-químicos

A parte das técnicas moleculares ou biolóxicas, existen tamén ferramentas baseadas en métodos químicos e físico-químicos (Táboa 4), como son a espectroscopía e a espectrometría de masas, que permiten verificar a identidade dos produtos pesqueiros facilitando a autenticación de especies e valorando as posibles procedencias xeográficas e de produción destas mercadorías (Fiorino *et al.*, 2018).

### 3.2.1. Espectrometría de masas (MS)

A espectrometría de masas (MS) é unha ferramenta analítica que posibilita a separación, identificación e cuantificación das moléculas dunha mostra en función da súa relación masa/carga ( $m/z$ ) despois dun proceso previo de ionización (Chace & Kalas, 2005).

As vantaxes que aporta a espectrometría de masa son a rapidez das análises das mostras, a alta sensibilidade que presenta e a abundante información que permite obter a partir dunha pequena cantidade de mostra (Kinter & Sherman, 2005). Con todo, debido a complexidade na interpretación desta técnica, en moitas ocasións precísanse perfís previamente recollidos nunha base de datos para un correcto contraste dos resultados (Sánchez, 2012).

Nos últimos 30 anos desenvolvéronse diversas variantes da espectrometría de masas con aplicacións na inspección dos produtos pesqueiros, que se discutirán a continuación.

#### 3.2.1.1. Espectrometría de masas en tándem (MS/MS)

A espectrometría de masas en tándem proporciona un medio para fragmentar ións precursores seleccionados dunha mostra. Os produtos obtidos son medidos en función da súa relación  $m/z$  permitindo a análise da estrutura molecular dos seus ións precursores e, polo tanto, da estrutura da mostra. Os resultados xerados pola lectura destas interaccións agrúpanse nun rexistro en forma de espectro de masas que pode actuar como pegada dixital dunha especie (Kinter & Sherman, 2005).

A MS/MS adoita combinarse coa técnica da cromatografía líquida (LC-MS/MS) permitindo a autenticación de especies mediante a monitorización dos seus biomarcadores peptídicos específicos (Carrera *et al.*, 2013). Esta combinación tamén demostrou ser útil para detectar

aditivos, como os sulfitos, en mostras complexas de produtos da pesca cos que se comete fraude por adulteración (Carlos, Treblin, & de Jager, 2019).

Táboa 4. Técnicas analíticas baseadas en métodos físico-químicos efectivas nos control da fraude (elaboración propia).

Técnicas	Finalidade	Vantaxes	Desvantaxes
MS/MS	Identificación das principais especies pesqueiras comerciais	Elevada sensibilidade. Alta reproducibilidade.	Equipamento custoso. Interpretación complexa, necesidade dunha base de datos de referencia.
MALDIT-OF MS	Identificación de especies e de biomarcadores para a súa autenticación. Avaliación do grao de frescura	Abundante información a partir dunha pequena mostra.	
IRMS	Detección da orixe xeográfica dos produtos pesqueiros	Alta capacidade de precisión. Mostras pequenas.	Elevado coste do equipamento. As condicións nas que se realiza poden determinar resultados dispares.
REIMS	Autenticación de especies. Distinción entre produtos de acuicultura e pesca. Determinación da orixe xeográfica	Sinxeleza e rapidez, non necesaria a preparación da mostra.	Custos elevados. Tecnoloxía presente en poucos laboratorios comúns.
NIRS	Autenticación de produtos de alto valor comercial. Identificación da orixe xeográfica e avaliación do grao de frescura	Rapidez, non invasiva.	Variabilidade dos resultados en función das condicións ambientais nas que se realiza.
Espectroscopia de impedancia	Distinción entre os produtos frescos, conxelados e desconxelados	Relativamente simple. Facilitade de automatización.	
Trace Element Fingerprint	Determinar a orixe xeográfica dos produtos	Baixos custos, simplicidade e rapidez.	Perda de empregabilidade en produtos procesados

A diferenza dos métodos baseados na análise do ADN, na MS/MS non é necesario o coñecemento previo da información xenómica da especie a analizar. A súa capacidade analítica esténdese dende as materias primas ata os produtos mesturados, incluíndo os procesados/contaminados/adulterados, sendo nestes últimos onde mostra vantaxe fronte os métodos biolóxicos (Nessen *et al.*, 2016). O fundamento é xerar ou ter una base de datos previa, unha libraría espectral, de especies coñecidas para despois comparar cos resultados das mostras analizadas e, mediante correlación, poder autenticar a especie problema. Trátase dun método versátil e simple que resulta facilmente reproducible en distintos espectrómetros de masas.

Certos estudos mostran unha elevada sensibilidade (>96 %) para detectar familias e xéneros como, por exemplo, as familias Gadidae ou Salmonidae (Wulff *et al.*, 2013). A sensibilidade diminúe lixeiramente cando se emprega para a identificación de especies como no estudo de Nessen e colaboradores do 2016, onde distinguen entre especies emparentadas en proximidade da orde dos Pleuronectiformes (Nessen *et al.*, 2016).

### 3.2.1.2. Desorción/ionización láser asistida por unha matriz con detección de masas por tempo de voo (MALDI-TOF-MS)

A principal aplicación desta técnica é a identificación de gran variedade de microorganismos. Non obstante, a ferramenta evolucionou dando lugar a diferentes protocolos de aplicación directa no control dos produtos da pesca para a identificación de especies, a detección de biomarcadores específicos para a autenticación do peixe e mesmo, para valorar o grao de frescura dos produtos (Fiorino *et al.*, 2018). Aínda que o equipamento sexa custoso, o procedemento é rápido e barato, sendo un bo método para detectar prácticas fraudulentas no comercio do peixe (Spielmann *et al.*, 2018).

Esta técnica funciona analizando as proteínas extraídas dunha mostra de tecido muscular do peixe. Para isto, despois dunha sinxela preparación, introdúcese a mostra no espectrómetro onde é irradiada cun raio de luz UV sobre unha matriz formada por unha solución saturada dun composto orgánico de pouca masa. A interacción desta exposición da mostra ós fotóns provoca que esta se ionice desencadeando a separación das proteínas, que serán recollidas polo detector de masas dando lugar ó espectro de masas específico (Ilustración 3) de cada xénero e especie (Maldonado *et al.*, 2017).

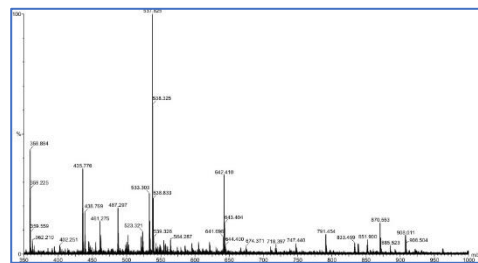


Ilustración 3. Espectro de masas dunha mestura de péptidos (Fonte: Mkolt, 2005).

### 3.2.1.3. Espectrometría de masas de relacións isotópicas (IRMS)

A espectrometría de masas de relacións isotópicas (IRMS) basea o seu funcionamento no estudo e comparación da distribución dos isótopos estables dos produtos, tanto de materias primas como de alimentos procesados. Estes isótopos poden ser lixeiros (95 %–99,99 %) ou, en menor medida, pesados (<5 %) e é, precisamente, a diferenza entre estes o que permite identificar unha pegada nos alimentos que perdura ata o produto final (Kelly *et al.*, 2018). Isto débese a influencia que teñen diversos factores externos na distribución destes isótopos: a climatoloxía, as temperaturas ou a profundidade, entre outros. Os principais isótopos estables que se teñen en conta para o estudo produtos pesqueiros son o Osíxeno-18 ( $^{18}\text{O}$ ), o Carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ) e o Nitróxeno-15 ( $^{15}\text{N}$ ).

Seguindo estes principios, a IRMS converteuse nunha das técnicas de elección para determinar a orixe xeográfica do peixe (Fiorino *et al.*, 2018). No 2014, o estudo de Rossier e colaboradores

permittedo determinar con efectividade se a orixe do produto estaba correctamente indicada mediante a comparación da distribución isotópica do Osíxeno-18 presente na auga extraída do peixe e o Osíxeno-18 da auga da zona de suposta procedencia (Rossier *et al.*, 2014). Outras aplicacións observadas con éxito foron a autenticación do bacallau do Atlántico, cun 99,7 % de precisión (Oliveira *et al.*, 2011), e mesmo a distinción entre salmón (*Salmo salar*) salvaxe e salmón criado en cativerio cun éxito do 100 % (Aursand *et al.*, 2000).

As vantaxes que presenta esta técnica son a súa simplicidade, a súa alta precisión e a súa eficiencia a partir de mostras pequenas. Isto último aínda máis implementado ca aparición do EA-IRMS que permite mellores resultados e maior información con menor cantidade de mostra (Kelly *et al.* 2018). Pola contra, o equipamento que se precisa ten un custo elevado e, ademais, resulta unha tarefa ardua realizar unha correcta base de datos de perfís específicos en función das especies, xa que os factores que condicionan a distribución dos isótopos son moi cambiantes. Incluso distintos procedementos de extracción dunha mesma mostra poden desencadear resultados dispares (Rossier *et al.*, 2014).

#### 3.2.1.4. Espectrometría de masas de ionización por evaporación rápida (REIMS)

Entre as últimas técnicas desenvoltas destaca a espectrometría de masas de ionización por evaporación rápida (REIMS), unha ferramenta recente que aínda non conta cunha presenza destacable nos laboratorios analíticos comúns. Trátase dun proceso de espectrometría de masas en condicións ambientais (AMS) na que non hai que realizar preparación algunha da mostra. Simplemente realizando cortes mediante un electrobisturí, ou instrumental semellante, xéranse os aerosois que serán analizados polo espectrofotómetro de masas. Os resultados obtéñense en escasos 2 ou 3 segundos.

Mediante os datos recollidos e un software que os representa nunha gráfica 3D pódense diferenciar os distintos perfís exclusivo de cada especie analizada. Algúns estudos obtiveron taxas de clasificación correcta en torno ó 98,99 % (Black *et al.*, 2017). A REIMS é unha ferramenta que demostrou ter utilidade para coñecer a orixe xeográfica do peixe, discernir entre produtos de captura e de acuicultura e, incluso, na distinción de especies emparentadas (Fiorino *et al.*, 2018).

#### 3.2.2. Espectroscopia de reflectancia no infravermello próximo (NIRS)

A aplicación directa dun feixe de luz nunha mostra biolóxica provoca unha interacción que deriva nunha radiación magnética cunha lonxitude de onda próxima ó espectro infravermello. A lonxitude desta onda varía en función dos fenómenos de absorción e reflexión que presenten os tecidos ante o estímulo luminoso, de tal maneira que, a lectura desa interacción permite coñecer varios parámetros da mostra analizada, entre eles, a súa composición (Ramírez *et al.*, 2012). A NIRS permite coñecer de maneira rápida e non invasiva a composición química de numerosas especies. En distintos estudos, esta técnica empregouse para a identificación da orixe do peixe,

por exemplo, da lubina europea (*D. labrax*) no estudo de Xiccato *et al.* (2004). Tamén é útil para avaliar a frescura dos produtos (Nilsen *et al.*, 2002) e para autenticar especies pesqueiras de alto valor comercial como o salmón (*S. salar*) ou o bacallau (*G. morhua*) (Brien *et al.*, 2013).

### 3.2.3. Espectroscopia de impedancia

A espectroscopía de impedancia é unha técnica que permite analizar a estrutura celular dun produto observando a súa resposta ante a aplicación directa dunha corrente a través dun par de eléctrodos situados na mostra problema. Os datos recollidos a partir da resposta obtida aportan información sobre as súas propiedades celulares (Saubi, 2019). A súa principal aplicación nos produtos da pesca é a distinción entre os produtos frescos, conxelados e desconxelados, diferenciándoos grazas o cambio de impedancia nos tecidos ó pasaren por estes procesos. O estudo de Fuentes e colaboradores, do 2013, empregouna para discernir entre o besugo (*Pagellus bogaraveo*) fresco e desconxelado.

Esta técnica require de equipamento relativamente simple e o procedemento pode ser automatizado con facilidade, polo que os custos do procedemento son reducidos. Por outro lado, a variabilidade nas respostas obtidas ante a estimulación en función das condicións ambientais nas que se realice o estudo son un inconveniente, posto que non é factible presentar un circuíto ideal de propiedades constantes (Macdonald & Johnson, 2018).

### 3.2.4. Impresión dixital de oligoelementos (TEF)

Existe outra técnicas eficaz que se emprega para coñecer a localización de orixe dos produtos pesqueiros. A *Trace Element Fingerprinting* (TEF), que destaca polo baixo coste, a simplicidade e a rapidez, estuda os perfís minerais presentes en estruturas como as cunchas ou os otolitos presentes nos peixes e demais produtos da pesca (Leal *et al.*, 2015). A análise destes elementos permite discernir entre especies de distintas poboacións xeográficas. Porén, esta ferramenta é válida unicamente en produtos frescos, xa que os procesados tenden a perder estas estruturas ou, aínda que as manteñan, perden relevancia á hora de seren analizadas.

Por outra banda, o estudo dos lípidos, principalmente dos ácidos graxos (AG), preséntase como outro método útil para este mesmo obxectivo (Fiorino *et al.*, 2018). Neste caso, as limitacións atópanse tamén na falta de capacidade para analizar os produtos procesados debido a perda da integridade dos AG, non sen esquecer a oxidación que pode producirse nos lípidos e que inutilizaría esta ferramenta. Hai que engadir dentro das súas aplicacións a capacidade de diferenciar entre materias procedentes da acuicultura e da pesca. A base atópase dentro da diferente composición dos xa mencionados AG segundo o tipo de dieta que seguiu o animal (Leal *et al.*, 2015).

### 3.3. Perspectivas no control da fraude e da rastrexabilidade do peixe

Aínda que moitos dos avances van destinados a mellorar e perfeccionar as técnicas analíticas xa existentes, a tecnoloxía tamén ofrece novas ferramentas innovadoras que poden adaptarse ó comercio para loitar contra a fraude alimentaria dende unha nova perspectiva. Un destes mecanismos que se están a implementar co obxectivo de mellorar a rastrexabilidade dos produtos da pesca e, polo tanto, blindar o comercio fronte a fraude alimentaria é o *Blockchain* (cuxa tradución corresponderíase con “cadea de bloques”).

A cadea de bloques pode definirse como un sistema de almacenaxe aberto de datos sobre transaccións, xestionado de maneira descentralizada. As bases do seu funcionamento céntranse na transformación de calquera activo, material ou inmaterial, nun código dixitalizado que queda rexistrado nas bases dunha “cadea de datos” dada (Francisco, 2018). O obxectivo da introdución deste sistema dentro do comercio alimentario é aproveitar a súa capacidade para xerar e rexistrar transaccións transparentes que faciliten a rastrexabilidade dun produto dende a orixe ata a chegada ó consumidor.

Esta tecnoloxía xa foi probada con resultados prometedores no ano 2016 por The Provenance, unha empresa británica cun proxecto piloto que permitiu almacenar todos os datos do atún listado (*Katsuwonus pelamis*) nos caladoiros do sueste asiático, dende as capturas ata a chegada dos produtos finais ós consumidores, os cales podían obter mediante un *smartphone* toda a información (produtores, tipo de pesca, procesos na industria alimentaria, etc.) sobre o que ían mercar (The Provenance, 2016). Na actualidade, o desenvolvemento do *Blockchain* céntrase principalmente nas especies de atún, merluza e camarón. As súas numerosas aplicacións poden ser de utilidade para garantir a inocuidade dos alimentos, o ecoetiquetado dentro da legalidade e, tamén, para combater a fraude alimentaria (FAO, 2020).

### 3.4. Estado actual do control analítico da fraude pesqueira en España

A día de hoxe, moitas das técnicas que se empregan para analizar e identificar os produtos da pesca resultan complexas de aplicar fora do laboratorio, sexa por falta de tempo, por elevados custos de preparación e/ou do instrumental necesario ou por capacidade insuficiente do método para obter un resultado concluínte. De aí a necesidade de desenvolvemento de ferramentas efectivas para o emprego rutineiro por parte das autoridades competentes.

Unha técnica analítica ideal sería aquela que, sendo barata, permitiría un resultado analítico válido mediante unha técnica sinxela, rápida e sen problemas loxísticos a causa do equipamento (Leal *et al.*, 2015). Non obstante, ningunha técnica actual é capaz de cumprir con todas estas características. Por esta razón, o uso das ferramentas analíticas encóntrase limitado en función de produto que se pretende analizar. Por exemplo, as mercadorías frescas ou non procesadas mediante tratamentos tecnolóxicos que permiten aumentar a súa vida útil, non deberían ser

sometidas a procedementos duradeiros que impliquen perda de tempo de utilidade destes produtos sen estar no mercado, feito que desencadea perdas económicas para a empresa alimentaria.

En base a isto, o uso das técnicas actuais para detectar a fraude na cadea alimentaria dos produtos da pesca restrínxese a sospeitas e posibles situacións de risco para o consumidor. No entanto, existen uns controis oficiais mínimos obrigatorios que se deben realizar nas empresas alimentarias co obxectivo de combater a fraude, recollidos dentro dos Plans Nacionais de Control Oficial da Cadea Alimentaria (PNCOCA). O último PNCOCA (2021-2025) presenta nos seus obxectivos, como novidade con respecto o Plan Nacional anterior, un énfase específico sobre a loita contra a fraude alimentaria. Nos vindeiros 5 anos, as autoridades competentes autonómicas deberán inspeccionar anualmente un 15-20 % das empresas de alimentos localizadas no territorio na procura deste delito (Subdirección General de Control de la Calidad Alimentaria y Laboratorios Agroalimentarios, 2020). Non obstante, os controis oficiais poden realizarse tamén, entre outros motivos, en función de sospeitas sobre un produto ou unha empresa por unha demanda dos consumidores, por altos valores comerciais en certas mercadorías que incitan os axentes da cadea alimentaria a cometer fraude e, incluso, nas empresas alimentarias que xa incorreron en fraude con anterioridade. Hai que lembrar que estes controis poden seren realizados en calquera momento aínda que non haxa sospeita de incumprimento se o inspector considérao adecuado (MAPA, 2021).

A autoridade competente encargada da coordinación destas estratexias enfocadas a asegurar a calidade alimentaria e a loitar contra a fraude é a Secretaria Xeral de Agricultura e Alimentación do Ministerio de Agricultura, Pesca e Alimentación. Con todo, son as propias comunidades autónomas as encargadas de pautar e executar os plans de control oficiais marcados polo Ministerio.

A toma de mostras dun alimento poderá realizarse sempre que o inspector o precise. Esta recollida de mostras deberá seguir a normativa vixente estipulada polo Real Decreto 1945/83. Neste decreto márcase tamén a obrigabilidade da execución das análises en laboratorios oficiais ou nos laboratorios privados acreditados (recollidos no PNCOCA), mediante métodos aprobados oficialmente ou, en caso de non existiren, mediante procedementos recomendados recoñecidos nacional e internacionalmente (RD 1945/1983, de 22 de xuño). En España, as ferramentas analíticas para o emprego na industria alimentaria son acreditadas pola Entidade Nacional de Acreditación (ENAC) en base a normativa UNE-EN ISO/IEC 17025:2017 que recolle os requisitos xerais das competencias dos laboratorios oficiais de ensaio e calibración (ENAC, 2020).

Ante a presenza de resultados que mostren algunha deficiencia que evidencie prácticas fraudulentas nos alimentos, iniciaranse os trámites necesarios para expedientar ós axentes implicados e impoñer sancións eficaces que favorezan a disuasión e a corrección deste delito.

### 3.4.1. Mecanismos documentais contra a fraude

Aínda que este traballo trata dos métodos analíticos, a principal medida de control da seguridade alimentaria no referente á fraude son os documentos que recollen os datos sobre os produtos que van a ser comercializados. Recollen todos aqueles datos relevantes que permitan trazar con precisión todo o camiño que seguen ditos alimentos durante a totalidade da cadea alimentaria.

A información que posibilita unha rastrexabilidade eficiente recóllese na normativa correspondente mencionada con anterioridade no traballo. O Regulamento de execución (UE) N° 93/2011 e o Regulamento (UE) N° 1224/2009 determinan os requisitos e a información que deberá acompañar os alimentos de orixe animal en todo momento para permitir a súa rastrexabilidade, tendo en conta as facturas, os albarás, os números de rexistro das empresas participantes ou as etiquetas dos produtos (Ilustración 4). Información que, como xa foi tratado en apartados anteriores, vese completada co indicado no Regulamento (UE) N° 1379/2013 sobre a información que debe de aparecer no etiquetado no caso dos produtos da pesca.



Ilustración 4. Etiqueta dun lote de palometa á venda na Lonxa de Vigo (autoría propia).

No entanto, existen tamén bases de datos e rexistros documentais que complementan a información relativa ós produtos alimentarios. Neste caso pódense poñer como exemplo os sistemas documentais de capturas, que son un instrumento útil para impedir a entrada de peixe fraudulento no comercio interior, asegurando a legalidade dos produtos mariños no punto de entrada. Outros exemplos son tamén os sistema de identificación automática (SIA) ou de localización de buques vía satélite (SLB) (FAO, 2020).

A presenza de sistemas públicos, como as bases de datos, poden facilitar o coñecemento sobre as distintas especies pesqueiras comercializadas. Son ferramentas funcionais para todos os operadores, inspectores e demais intermediarios e participantes na cadea alimentaria. Un bo exemplo é o sistema de información sobre as ciencias acuáticas e a pesca (ASFIS), trátase dunha lista de referencia normalizada recollida pola FAO na que se atopa a base de datos xeral sobre a clasificación, nomes científicos e códigos correspondentes para cada un dos elementos de especie. O obxectivo desta plataforma é a difusión da información relacionada ca industria pesqueira e as ciencias acuáticas para velar por un comercio veraz.

Cabe destacar o interese por implementar esta clase de recursos co fin de seguir facilitando o control sobre os produtos. Entre as novas tecnoloxías que están a xurdir destacan as imaxes por satélite en alta resolución, as cámaras e sensores *in situ*, as bases de ADN e perfís xenéticos máis

completas, as cadeas de bloques (*blockchain*), a Internet das cousas (IoT), a intelixencia artificial (IA) e o aprendizaxe automático (FAO, 2020).

### 3.4.2. Exemplo de protocolo de actuación ante sospeita de fraude alimentaria

O *Thunnus thynnus*, comercialmente denominado atún vermello (“atún rojo” en castelán), é unha das principais especies comercializadas dos túnidos no mercado mundial. Trátase do atún máis valioso kilo por kilo (The Pew Charitable Trusts, 2017).

O seu elevado valor comercial e a tendencia de vendelo elaborado e transformado a un consumidor final sen coñecemento suficiente para distinguilo doutras especies, fan do atún vermello un produto ideal para a aparición de perigosas prácticas fraudulentas no seu comercio. No ano 2017 xurdiu un escándalo a nivel europeo por producírense máis de 150 intoxicacións alimentarias por histamina, orixinadas a partir de atún vermello adulterado procedente de España. As malas prácticas consistiron no emprego fraudulento de colorantes vexetais que tinguían de vermello o produto para aparentar maior frescura da que en realidade tiña (Agencia EFE, 2017).

Outro tipo de fraude moi frecuente nos produtos do *T. thynnus* (Ilustración 5) son as substitucións de especies. Investigadores españois do Departamento de Ecoloxía Mariña do Centro de Estudos Avanzados de Blanes, pertencentes ó CSIC (Consello Superior de Investigacións Científicas), realizaron un estudo recadando mostras de produtos clasificados como atún vermello en Merca-Madrid, Merca-Málaga e Merca-Barna, ademais de en peixarías e restaurantes diversos da zona de Cataluña. Concluiron que no 75 % dos casos, nos puntos de venda, non se identificaba correctamente a especie e no 83 % de mostras dos restaurantes non se especificaba a especie que se estaba a comercializar. No 40 %



Ilustración 5. Corpo de atún fresco no mercado pesqueiro de Marsella (Fonte: Ratki, 2014).

dos casos tratábase de fraude por substitución (porcentaxe que aumentaba ata un 62 % nos puntos de venda ó consumidor final), principalmente por especies de menor valor comercial, sobre todo polo *Thunnus obesus*, denominado comercialmente como patudo (Gordoa *et al.*, 2017).

Por outra banda, pode existir tamén a fraude no sentido contrario, é dicir, vender atún vermello como outro de menor valor para impedir que se coñeza a orixe ilexítima do devandito produto (Olmedo *et al.*, 2019). Isto faise porque o control actual da orixe das pezas de atún vermello é moi exhaustivo por parte das administracións públicas. Un exemplo disto é a Comisión Internacional para a Conservación do Atún Atlántico (ICCAT), que obriga a presentar un rexistro dos buques dedicados á pesca do atún vermello e un documento de captura individual para cada peza abreviado como BCD (ICCAT, 2018).

Partindo destas premisas, preséntase a continuación un caso hipotético de fraude por substitución nun lote de produtos identificados incorrectamente como atún vermello, e proponse un posible protocolo de actuación dunha inspectora veterinaria baseado nas técnicas analíticas abordadas neste traballo.

O caso consiste nunha empresa de transformación de alimentos que dedica parte do seu labor á produción de filetes conxelados etiquetados como atún vermello, que posteriormente venden ós restaurantes, os cales presentarán o produto ó consumidor final no seu maior estado de elaboración. Debido a sospeitas procedentes de denuncias de consumidores que teñen experiencia suficiente como para dubidar da autenticidade do produto comercializado como *T. thynnus*, as autoridades competentes deciden tomar medidas e realizar unha inspección sobre ese produto na empresa alimentaria.

Sen necesidade de programar ou avisar do día da inspección, a inspectora veterinaria preséntase na empresa. O operador ou a operadora desta empresa deberá facilitar calquera información ou procedemento que requira a autoridade sanitaria (Regulamento (UE) nº 2017/625 do Parlamento europeo e do Consello, de 15 de marzo de 2017). Como o obxectivo é verificar se o produto que comercializan baixo o nome de atún vermello é realmente esa especie, o primeiro que se debe revisar é a documentación de orixe do produto: as facturas, os albarás, as etiquetas, etc., comprobando toda a información obrigatoria que debería acompañar ó produto a súa chegada á empresa. Nestes documentos, os datos aportados deben permitir á inspectora determinar a orixe da mercancía dende a súa captura no buque.

A documentación aportada pola empresa, sexa por falta de información ou porque esta sexa incorrecta, non permite esclarecer a procedencia do produto e, polo tanto, non se pode coñecer con exactitude a especie coa que están a traballar. Ante esta situación xustifícase a recollida de mostras para proceder, mediante técnicas analíticas, coa identificación da especie que están empregando para elaborar eses produtos.

Non se trata dunha recollida de mostras programada polo PNCOCA, polo tanto, deberase realizar unha mostraxe de tipo regulamentaria en base ó Real Decreto 1945/83. A inspectora recollerá tres exemplares homoxéneos da mostra do produto: un para a análise oficial a cargo da Administración, outro para a análise contraditoria gardada polo operador da empresa e outro para a dirimite, tamén en mans da Administración. Estas mostras deberán acondicionarse, precintarse e etiquetarse correctamente garantindo a identidade do seu contido durante o tempo de conservación. As análises, como xa se mencionou anteriormente, en base á lexislación, deberán realizarse en laboratorios acreditados e mediante procedementos oficiais ou recoñecidos.

Existen varios estudos que demostran a aplicación das ferramentas analíticas na identificación das oito especies do xénero *Thunnus*, sobre todo na autenticación do atún vermello e

diferenciación das especies máis emparentadas. O primeiro destes métodos baséase nas técnicas moleculares de secuenciación do ADN. O código de barras do ADN, que emprega a rexión mitocondrial COI, demostra ter rapidez e efectividade para este labor, non obstante, presenta unha gran desvantaxe sendo incapaz de distinguir entre as especies de atún vermello (*T. thynnus*), atún de aleta azul do Pacífico (*T. orientalis*) e o bonito do norte (*T. alalunga*) debido ás similitudes que mostran no devandito marcador (Viñas & Tudela, 2009). Porén, existen outros marcadores que teñen maior eficiencia para o recoñecemento individual destas especies, sendo a rexión de control do ADN mitocondrial (ADNmt CR) a que maior relevancia presenta. Cabe destacar que existe a posibilidade, entre o atún vermello e o bonito do norte, de que aínda empregando o ADNmt CR as especies non se distinguen correctamente a causa da introgresión xenética que presentan. Por iso, no ano 2009, Viñas e Tudela presentan un procedemento de validación máis efectivo usando o método FINS para secuenciar o espazador transcrito interno de ADNr (ITS1) como segundo marcador, permitindo así a distinción completa entre as oito especies de túnidos (Viñas & Tudela, 2009).

Un ano despois dese estudo, Terio e colaboradores demostraron a posibilidade de utilizar a técnica da PCR a tempo real (RT-PCR) para diferenciar entre as principais especies catalogadas como atún na venda de produtos enlatados (*T. thynnus*, *T. alalunga* e *T. albacares*), técnica aplicable tamén nos produtos conxelados. Baseándose na PCR e dirixindo os ensaios cara á discriminación do xene mitocondrial citocromo b (*Cyt b*), desenvolveron ligantes de oco menor altamente específicos (evitando así posibles reaccións cruzadas) que permiten recoñecer con rapidez calquera das tres especies de atún citadas. Este protocolo de alta sensibilidade e especificidade pode ser empregado con éxito en alimentos mesturados, pero pode verse dificultado naqueles produtos que conteñen certos aditivos que poden inhibir a PCR (Terio *et al.*, 2010).

Ás dúas técnicas analíticas anteriores, debemos engadir tamén o estudo do *Cyt b* mediante o método da PCR-RFLP, o cal mostra efectividade tamén para discernir entre as principais especies de túnidos e outros peixes comunmente empregados para cometer fraude por substitución. Utilizando 5 enzimas de restrición diferentes para dixerir o *Cyt b*, esta ferramenta preséntase como un procedemento rápido e simple para identificar os produtos do atún cru erroneamente etiquetado (Yao *et al.*, 2020).

Por último, estudos moi recentes presentan a REIMS (Song *et al.*, 2020), cunha precisión superior ó 93 %, como unha ferramenta útil para diferenciar, en poucos segundos, entre as catro principais especies de túnidos: *T. thynnus*, *T. alalunga*, *T. albacares* e *T. obesus*. Este método químico fundamenta a súa efectividade na diferenza estatisticamente significativa dos perfís de ácidos graxos e fosfolípidos que presenta cada unha destas especies.

Tratándose de produtos conxelados, é dicir, de produtos que poden conservarse un tempo considerable sen que exista a necesidade de vendelos rapidamente, o ideal é realizar as análises mediante a técnica que maior efectividade presente, sen ter en tanta consideración a velocidade do procedemento. Neste caso, o código de barras de ADN sería a técnica de elección, empregando dous marcadores para evitar a introgresión xenética entre as especies máis emparentadas, pódense obter resultados concluíntes que determinen con precisión a especie que está usando a empresa nos seus produtos.

Os resultados destes estudos permitirán determinar se a empresa alimentaria está acometendo unha irregularidade comercializando como atún vermello outra especie diferente. En función dos resultados obtidos, da consideración da inspectora e das administracións públicas, determinarase as medidas a tomar e, seguindo o réxime sancionador adecuado en función da comunidade autónoma, determinarase o tipo de infracción e de sancións que deberá afrontar esta empresa alimentaria.

## 4. Conclusións

Os avances no control da fraude da industria alimentaria dos produtos da pesca a nivel europeo e estatal son evidentes na última década. Os esforzos por unha maior vixilancia destes alimentos dende a súa orixe ata a súa chegada ó consumidor final van en aumento. Non obstante, tamén avanza os mecanismos tecnolóxicos e a habilidade daqueles intermediarios que queren obter maiores beneficios empregando a fraude alimentaria como forma ilícita de lucro. Acompañando na loita contra a fraude ós mecanismos documentais, á concienciación e educación de consumidores e produtores e á organización das autoridades competentes xunto cos seus aliados públicos, atópanse as técnicas analíticas como métodos de alta precisión que facilitan este labor.

Na actualidade, as ferramenta máis empregadas para detectar a fraude por substitución de especies de peixe son aquelas baseadas no estudo do ADN, debido á súa versatilidade, principalmente a técnica denominada código de barras do ADN, que permite identificar practicamente a totalidade das especies comercializadas en España. Con todo, a realización desta técnica supón a presenza obrigada dun técnico con experiencia, a posibilidade de introgresión xenética en especies moi emparentadas e un gasto de tempo considerable que colle moita importancia nos casos de produtos frescos. Por iso, a tendencia dos avances nos métodos analítico encamiñase cara a procedementos máis rápidos, baratos e sinxelos que manteñan un índice de precisión elevado. Neste contexto preséntanse técnicas como a RT-PCR, a REIMS ou a SA-HRMA, as cales mostran excelentes resultados na identificación do peixe mediante procedementos de escasa duración.

Sendo a fraude alimentaria nesta clase de produtos un problema en aumento, sería aconsellable seguir implementando estas tecnoloxías na rutina dos controis oficiais, obtendo como beneficio evidente unha maior precisión e efectividade á hora de atallar a substitución fraudulenta de especies en calquera das fases da cadea alimentaria. Estas ferramentas analíticas teñen a capacidade de supoñer un salto cualitativo na seguridade alimentaria dos produtos de orixe pesqueira, mellorando así a calidade destes produtos e a confianza dos propios consumidores no sector da pesca.

## 5. Bibliografía

- Abbadì, M., Marciano, S., Tosi, F., Battisti, C. D., Panzarin, V., Arcangeli, G., & Cattoli, G. (2017). Species identification of bivalve molluscs by pyrosequencing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(2), 512-519. doi:10.1002/jsfa.7754
- AESAN (2019). *Memoria del sistema coordinado de intercambio rápido de información (SCIRI)*. Recuperado o 12 de xuño de 2021, de [https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/subseccion/SCIRI.htm](https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/subseccion/SCIRI.htm)
- Agencia EFE (27 de septiembre de 2017). Sanidad confirma 154 intoxicados por atún adulterado en España. *La Voz de Galicia*. Recuperado o 15 de maio de 2021, de <https://www.lavozdeg Galicia.es/noticia/sociedad/2017/09/27/sanidad-confirma-154-intoxicados-atun-adulterado-espana/00031506517451988729954.htm>
- Altinelataman, C., Kündiger, R., Cakli, S., & Rehbein, H. (2009). Comparison of IEF patterns of sarcoplasmic proteins of fish from north atlantic and aegean sea. *Food Control*, 20(11), 980-985. doi:10.1016/j.foodcont.2008.11.007
- Angel Pardo, M., & Jimenez, E. (2020). DNA barcoding revealing seafood mislabeling in food services from Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 91(103521) doi:10.1016/j.jfca.2020.103521
- Argenta, D. F., Martelli, S. M., & Caon, T. (2019). Chapter 10 - dendrimer as a platform for drug delivery in the skin. In A. Holban, & A. M. Grumezescu (Eds.), *Materials for Biomedical Engineering* (pp. 331-367). Bucharest: Elsevier. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128184332000108>
- Asensio, L., González, I., Fernández, A., Rodríguez, M. A., Lobo, E., Hernández, P. E., García, T., & Martín, R. (2002). Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for identification of grouper (*Epinephelus guaza*), wreck fish (*Polyprion americanus*), and nile perch (*Lates niloticus*) filets. *Journal of Food Protection*, 65(2), 432-435. doi:10.4315/0362-028X-65.2.432
- Asensio, L., Samaniego, L., Pavón, M. A., González, I., García, T., & Martín, R. (2008). Detection of grouper mislabelling in the fish market by an immunostick colorimetric ELISA assay. *Food and Agricultural Immunology*, 19(2), 141-147. doi:10.1080/09540100802100202
- Aursand, M., Mabon, F., & Martin, G. (2000). Characterization of farmed and wild salmon (*Salmo salar*) by a combined use of compositional and isotopic analyses. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(6), 659-666. doi:10.1007/s11746-000-0106-5

- Berrini, A., Tepedino, V., Borromeo, V., & Secchi, C. (2006). Identification of freshwater fish commercially labelled “perch” by isoelectric focusing and two-dimensional electrophoresis. *Food Chemistry*, *96*(1), 163-168. doi:10.1016/j.foodchem.2005.04.007
- Black, C., Chevallier, O., Haughey, S., Balog, J., Stead, S., Pringle, S. D., Riina, M. V., Martucci, F., Acutis, P. L., Morris, M., Nikolopoulos, D. S., Takats, Z., & Elliott, C. (2017). A real time metabolomic profiling approach to detecting fish fraud using rapid evaporative ionisation mass spectrometry. *Metabolomics*, *13*(12), 1-13. doi:10.1007/s11306-017-1291-y
- Brien, N., Hulse, C. A., Pfeifer, F., & Siesler, H. W. (2013). Near infrared spectroscopic authentication of seafood. *Journal of Near Infrared Spectroscopy (United Kingdom)*, *21*(4), 299-305. doi:10.1255/jnirs.1063
- Burbano Rosero, E. M., Caetano de Almeida, B., Otero Ramírez, I. D., & Lorena Álvarez, S. (2017). *Manual de biología molecular: Procedimientos básicos*. Universidad de Nariño: Editorial Universitaria. Recuperado o 12 de xuño de 2021, de [https://www.researchgate.net/profile/Edith-Burbano-Rosero/publication/326905291\\_Manual\\_de\\_Biologia\\_Molecular-Procedimientos\\_Basicos/links/5b7de35292851c1e12291a22/Manual-de-Biologia-Molecular-Procedimientos-Basicos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Edith-Burbano-Rosero/publication/326905291_Manual_de_Biologia_Molecular-Procedimientos_Basicos/links/5b7de35292851c1e12291a22/Manual-de-Biologia-Molecular-Procedimientos-Basicos.pdf)
- Carlos, K. S., Treblin, M., & de Jager, L. S. (2019). Comparison and optimization of three commercial methods with an LC–MS/MS method for the determination of sulfites in food and beverages. *Food Chemistry*, *286*, 537-540. doi:10.1016/j.foodchem.2019.02.042
- Carrera M., Cañas B., & Gallardo J.M. (2013) Fish Authentication. In: Toldrá F., Nolle L. (eds) *Proteomics in Foods. Food Microbiology and Food Safety, vol 2* (pp. 205-222). Springer, Boston: MA. doi.org/10.1007/978-1-4614-5626-1\_12
- Chace, D. H., & Kalas, T. A. (2005). A biochemical perspective on the use of tandem mass spectrometry for newborn screening and clinical testing. *Clinical Biochemistry*, *38*(4), 296-309. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.01.017
- Chen, T.-Y., & Hwang, D.-F. (2002). Electrophoretic identification of muscle proteins in 7 puffer species. *Journal of Food Science*, *67*(3), 936-942. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb09431.x
- Clark, L. F. (2015). The current status of DNA barcoding technology for species identification in fish value chains. *Food Policy*, *54*, 85-94. doi:10.1016/j.foodpol.2015.05.005
- Comisión de Medio Ambiente, Salud Pública y Seguridad Alimentaria (2013). *INFORME sobre la crisis alimentaria, los fraudes en la cadena alimentaria y el control al respecto (2013/2091(INI))* (Documento de sesión). Bruselas. Recuperado o 23 de maio de 2021, de [https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-7-2013-0434\\_ES.html](https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-7-2013-0434_ES.html)

- Comisión Europea (2015). *Commission recommendation of 12.3.2015 on a coordinated control plan with a view to establishing the prevalence of fraudulent practices in the marketing of certain foods*. Brussels. Recuperado de [https://ec.europa.eu/food/food/agri-food-fraud/eu-coordinated-actions/coordinated-control-plans/fish-substitution-2015\\_en#](https://ec.europa.eu/food/food/agri-food-fraud/eu-coordinated-actions/coordinated-control-plans/fish-substitution-2015_en#)
- Comisión Europea (2020a). *2019 Annual Report: The EU Food Fraud Network and the Administrative Assistance and Cooperation System*. Luxembourg: Publications Office of the European Union. Recuperado de [https://ec.europa.eu/food/food/agri-food-fraud/administrative-assistance-and-cooperation-system\\_en](https://ec.europa.eu/food/food/agri-food-fraud/administrative-assistance-and-cooperation-system_en)
- Comisión Europea (2020b). *RASFF — the Rapid Alert System for Food and Feed — Annual Report 2019*. Luxembourg: Publications Office of the European Union. doi:10.2875/993888
- De Battisti, C., Marciano, S., Magnabosco, C., Busato, S., Arcangeli, G., & Cattoli, G. (2014). Pyrosequencing as a tool for rapid fish species identification and commercial fraud detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), 198-205. doi:10.1021/jf403545m
- DG d'Alimentació, Qualitat i Indústries Agroalimentàries (2015). *Pla general d'inspecció any 2015: Lluita contra el frau en els productes agroalimentaris*. Generalitat de Catalunya. Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca. Alimentació i Medi Natural. Recuperado o 14 de xuño de 2021, de <http://agricultura.gencat.cat/web/.content/04-alimentacio/lluita-frau-alimentari/enllacos-documents/fixers-binaris/pla-general-inspeccio-lluita-frau-productes-agroalimentaris-2015.pdf>
- DG Health and Food Safety (2020). *Agri-food fraud*. Food Safety. Recuperado o 3 de abril de 2021, de [https://ec.europa.eu/food/food/agri-food-fraud\\_en](https://ec.europa.eu/food/food/agri-food-fraud_en)
- Domingo, J. L., Bocio, A., Falcó, G., & Llobet, J. M. (2007). Benefits and risks of fish consumption: Part I. A quantitative analysis of the intake of omega-3 fatty acids and chemical contaminants. *Toxicology*, 230(2), 219-226. doi:10.1016/j.tox.2006.11.054
- ENAC (2020). *Acreditación n°178/LE 397: Anexo técnico rev. 44 (Ensayo)*. Madrid. Recuperado o 12 de xuño de 2021, de <https://www.enac.es/documents/7020/8a0f5a13-a3b6-41a4-8919-ceb9c671aad0>
- Everstine, K., Spink, J., & Kennedy, S. (2013). Economically motivated adulteration (EMA) of food: Common characteristics of EMA incidents. *Journal of Food Protection*, 76(4), 723-735. doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-399
- FAO (1985). Norma general para el etiquetado de los alimentos preenvasados (Rev. 2010). *Etiquetado de los alimentos preenvasados (CODEX STAN 1-1985)*. Recuperado de <http://www.fao.org/ag/humannutrition/33239-0829bef0c2a9a649363d0b0a2472ca4fc.pdf>

- FAO (2008). Manual de inspección de los alimentos basada en el riesgo. *Estudio FAO: Alimentación Y Nutrición*, 89. Roma: FAO. Recuperado de <http://www.fao.org/3/i0096s/i0096s00.htm>
- FAO (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción*. Roma: FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.
- Fera (2015). Introduction to the Food Integrity Project. *FoodIntegrity*. Recuperado de <https://secure.fera.defra.gov.uk/foodintegrity/index.cfm?sectionid=21>
- Fiorino, G. M., Garino, C., Arlorio, M., Logrieco, A. F., Losito, I., & Monaci, L. (2018). Overview on untargeted methods to combat food frauds: A focus on fishery products. *Journal of Food Quality*, 2018(1581746), 1-13. doi:10.1155/2018/1581746
- Fox, M., Mitchell, M., Dean, M., Elliott, C., & Campbell, K. (2018). The seafood supply chain from a fraudulent perspective. *Food Security*, 10(4), 939-963. doi:10.1007/s12571-018-0826-z
- Francisco, K. (2018). *The supply chain has no clothes: Technology adoption of blockchain for supply chain transparency*. Basel: MDPI AG. doi:10.3390/logistics2010002
- Fresneda, C. (12 de febrero de 2013). El escándalo de la carne de caballo se extiende por la cadena alimentaria europea. *El mundo*. Recuperado o 15 de xuño de 2021, de <https://www.elmundo.es/elmundo/2013/02/12/economia/1360666390.html>
- Fuentes, A., Masot, R., Fernández-Segovia, I., Ruiz-Rico, M., Alcañiz, M., & Barat, J. M. (2013). Differentiation between fresh and frozen-thawed sea bream (*sparus aurata*) using impedance spectroscopy techniques. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 210-217. doi:10.1016/j.ifset.2013.05.001
- Galicia. Lei 11/2008, de 3 de decembro, de pesca de Galicia. Diario Oficial de Galicia, 16 de decembro de 2008, núm. 243, pp. 22275-22316.
- Gordoa, A., Carreras, G., Sanz, N., & Viñas, J. (2017). Tuna species substitution in the spanish commercial chain: A knock-on effect. *Plos One*, 12(1), 1-15. doi:10.1371/journal.pone.0170809
- Griffiths, A. M., Sotelo, C. G., Mendes, R., Pérez-Martín, R. I., Schröder, U., Shorten, M., Silva, H. A., Verrez-Bagnis, V., & Mariani, S. (2014). Current methods for seafood authenticity testing in europe: Is there a need for harmonisation? *Food Control*, 45, 95-100. doi:10.1016/j.foodcont.2014.04.020
- Han M., & Robinson M.A. (2003) PCR-SSCP Analysis of Polymorphism. In: Bartlett J.M.S., Stirling D. (eds) *PCR Protocols. Methods in Molecular Biology*<sup>TM</sup>, vol. 226. Humana Press. doi:10.1385/1-59259-384-4:327

- Helgoe, J., Oswald, K. J., & Quattro, J. M. (2020). A comprehensive analysis of the mislabeling of atlantic cod (*Gadus morhua*) products in Spain. *Fisheries Research*, 222(105400) doi:10.1016/j.fishres.2019.105400
- Horreo, J. L., Ardura, A., Pola, I. G., Martinez, J. L., & Garcia-Vazquez, E. (2013). Universal primers for species authentication of animal foodstuff in a single polymerase chain reaction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 354-361. doi:10.1002/jsfa.5766
- ICCAT (2018). *Recomendación de ICCAT para reemplazar la recomendación 11-20 sobre el programa ICCAT de documentación de capturas de atún rojo*. Madrid: Comisión Internacional para la Conservación del Atún Atlántico. Recuperado o 21 de maio de 2021, de <https://www.iccat.int/Documents/Recs/compendiopdf-s/2018-13-s.pdf>
- INE (2020). Cantidad total y cantidades medias consumidas de alimentos, bebidas, tabaco, combustibles y otras fuentes de energía [Tabla]. *Encuesta de Presupuestos Familiares (EPA)*. Madrid: Instituto Nacional de Estadística. Recuperado de <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?t=25168>
- Jiménez Rojas, A. A. (2017). *Diseño de un marcador molecular para discriminar el color del pelaje en ovejas pelibuey* (Trabajo final de máster). Recuperado de <http://www.itconkal.edu.mx/index.php/13-posgrado/273-repositorio-de-tesis-maestria-en-produccion-pecuaria>
- Kamilaris, A., Fonts, A., & Prenafeta-Boldó, F. X. (2019). The rise of blockchain technology in agriculture and food supply chains. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 640-652. doi:10.1016/j.tifs.2019.07.034
- Kappel, K., & Schröder, U. (2016). Substitution of high-priced fish with low-priced species: Adulteration of common sole in german restaurants. *Food Control*, 59, 478-486. doi:10.1016/j.foodcont.2015.06.024
- Kelly, S., Brodie, C., & Hilker, A. (2018). Chapter 11 - isotopic-spectroscopic technique: Stable isotope-ratio mass spectrometry (IRMS). In D. Sun (Ed.), *Modern Techniques for Food Authentication (second edition)* (pp. 349-413) Academic Press. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128142646000116>
- Kinter, M., & Sherman, N. E. (2005). *Protein sequencing and identification using tandem mass spectrometry*. Hoboken: WILEY. Recuperado de <http://portal.igpublish.com/iglibrary/search/WILEYB0010367.html>
- Knuutinen, J., & Harjula, P. (1998). Identification of fish species by reversed-phase high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 705(1), 11-21. doi:10.1016/S0378-4347(97)00505-7

- Leal, M. C., Pimentel, T., Ricardo, F., Rosa, R., & Calado, R. (2015). Seafood traceability: Current needs, available tools, and biotechnological challenges for origin certification. *Trends in Biotechnology*, 33(6), 331-336. doi:10.1016/j.tibtech.2015.03.003
- Leffmann, J. (2017). Torskfiléer, torsken fiskad söder om Ystad 13 dec 2017 [Fotografía]. Wikimedia Commons. Recuperado de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Torskfil%C3%A9\\_\(Gadus\\_morhua\)\\_-\\_Ystad-2017.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Torskfil%C3%A9_(Gadus_morhua)_-_Ystad-2017.jpg)
- Lim, H., Park, S., Kim, S., Song, S., Jang, S., & Kim, M. (2014). Comparison of four different methods for the determination of sulfites in foods marketed in south korea. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 31(2), 187-196. doi:10.1080/19440049.2013.857048
- Macdonald, J. R., & Johnson, W. B. (2018). Fundamentals of impedance spectroscopy. In E. Barsoukov, & J. R. Macdonald (Eds.), *Impedance spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications, third edition* (pp. 1-20) John Wiley & Sons, Ltd. Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119381860.ch1>
- Maldini, M., Nonnis Marzano, F., Fortes, G. G., Papa, R., & Gandolfi, G. (2006). Fish and seafood traceability based on AFLP markers: Elaboration of a species database. *Aquaculture*, 261(2), 487-494. doi:10.1016/j.aquaculture.2006.07.010
- Maldonado, N., Robledo, C., & Robledo, J. (2017). La espectrometría de masas MALDI-TOF en el laboratorio de microbiología clínica. *Infectio*, 22(1), 35-45. doi:10.22354/in.v0i0.703
- MAPA (2020). *Informe del consumo de alimentación en España 2019*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado de [https://www.mapa.gob.es/images/es/informe2019\\_v2\\_tcm30-540250.pdf](https://www.mapa.gob.es/images/es/informe2019_v2_tcm30-540250.pdf)
- MAPA (2021). Objetivo de alto nivel 3. *Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria (2021-2025)*, pp. 55-82. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado de: <https://www.mapa.gob.es/en/ministerio/planes-estrategias/plan-nacional-de-control-de-la-cadena-alimentaria/documentos-objetivo-alto-nivel-3.aspx>
- MAPA, AESAN, & CsC (2020). *Plan nacional de control oficial de la cadena alimentaria 2021-2025. Parte general*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Recuperado de [https://www.mapa.gob.es/en/ministerio/planes-estrategias/plan-nacional-de-control-de-la-cadena-alimentaria/pncoca20212025partegeneral\\_tcm38-558141.pdf](https://www.mapa.gob.es/en/ministerio/planes-estrategias/plan-nacional-de-control-de-la-cadena-alimentaria/pncoca20212025partegeneral_tcm38-558141.pdf)
- Martinez, I., Šližytė, R., & Daukšas, E. (2007). High resolution two-dimensional electrophoresis as a tool to differentiate wild from farmed cod (*Gadus morhua*) and to assess the protein composition of klipfish. *Food Chemistry*, 102(2), 504-510. doi:10.1016/j.foodchem.2006.03.037

- Mkolt (2005). Mass spectrum of peptide mixture obtained by ESI-Q-TOF mass spectrometer. [Gráfico]. Wikimedia Commons. Recuperado de <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:WidmoMS.gif>
- Muñoz Machado, S. (2017). *Diccionario panhispánico del español jurídico*. Madrid: Santillana Educación, S.L. Recuperado de <https://dpej.rae.es/lema/delito-de-fraude-alimentario#:~:text=Delito%20que%20consiste%20en%20adulterar,la%20salud%20de%20las%20personas.>
- Nessen, M. A., van der Zwaan, Dennis J., Grevers, S., Dalebout, H., Staats, M., Kok, E., & Palmblad, M. (2016). Authentication of closely related fish and derived fish products using tandem mass spectrometry and spectral library matching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(18), 3669-3677. doi:10.1021/acs.jafc.5b05322
- Nilsen, H., Esaiassen, M., Heia, K., & Sigernes, F. (2002). Visible/near-infrared spectroscopy: A new tool for the evaluation of fish freshness? *Journal of Food Science*, 67(5), 1821-1826. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb08729.x
- Nutrition Division (2012). Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros (2ª edición). *Codex Alimentarius - Joint FAO/WHO Food Standards Programme*. Roma: FAO/WHO. Recuperado de <http://www.fao.org/publications/card/es/c/555bdc85-154f-5f08-b4c9-0886258f0050/>
- Oliveira, E.J.V.M., Sant'Ana, L.S., Ducatti, C., Denadai, J. C., & De Souza, C. R. (2011). The use of stable isotopes for authentication of gadoid fish species. *European Food Research and Technology*, 232(1), 97-101. doi:10.1007/s00217-010-1367-7
- Olmedo, M. P., Martín, M. A. S., Hernández, Á S. M., Barbero, E. R., Martín, R. P., & Julián, J. P. (2019). El fraude del atún rojo. *Gaceta Médica de Bilbao: Revista Oficial de la Academia de Ciencias Médicas de Bilbao*, 116(1), 16-21. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6886461>
- Palmer, M., Pons, G. X., & Linde, M. (2004). Discriminating between geographical groups of a mediterranean commercial clam (*Chamelea gallina* (L.): Veneridae) by shape analysis. *Fisheries Research*, 67(1), 93-98. doi:10.1016/j.fishres.2003.07.006
- Pappalardo, A. M., Petraccioli, A., Capriglione, T., & Ferrito, V. (2019). From fish eggs to fish name: Caviar species discrimination by COI-Bar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(13), 2468. doi:10.3390/molecules24132468
- Pardo, M. Á, & Jiménez, E. (2020). DNA barcoding revealing seafood mislabeling in food services from Spain. *Journal of Food Composition and Analysis*, 91, 103521. doi:10.1016/j.jfca.2020.103521

- Parrondo, M., Lopez, S., Aparicio-Valencia, A., Fueyo, A., Quintanilla-Garcia, P., Arias, A., & Borrell, Y. J. (2021). Almost never you get what you pay for: Widespread mislabeling of commercial "zamburiñas" in northern Spain. *Food Control*, *120*, 107541. doi:10.1016/j.foodcont.2020.107541
- PremiumLab (2018). *Guía para la prevención del fraude en la industria agroalimentaria*. Barcelona, España: Premiumlab, S.L. Recuperado de <http://agricultura.gencat.cat/web/.content/04-alimentacio/lluïta-frau-alimentari/enllacos-documents/fitxers-binariis/guia-prevencion-fraude-industria-agroalimentaria.pdf>
- Ramírez García, S., Carranza Castro, P. H., Gutiérrez Salinas, J., García Ortiz, L., & Hernández Rodríguez, S. (2012). Aplicación en medicina de la espectroscopia de infrarrojo cercano. *Medicina Interna de México*, *28*(4), 365-370. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2012/mim124k.pdf>
- Ratki (26 de octubre de 2014). Body of a fresh tuna on Marseille fish market [Fotografía]. Wikimedia Commons. Recuperado de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tuna\\_on\\_Marseille\\_fish\\_market.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tuna_on_Marseille_fish_market.jpg)
- Real decreto 1945/1983, de 22 de junio, por el que se regulan las infracciones y sanciones en materia de defensa del consumidor y de la producción agro-alimentaria. Boletín Oficial del Estado, 15 de julio 1983, núm. 168, pp. 19830-19835.
- Retama (14 de marzo de 2008). [Several PCR products unspecifically amplified. 1% agarose gel ethidium bromide-stained.]. Wikimedia Commons. Recuperado de [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Unspecific\\_pcr.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Unspecific_pcr.jpg)
- Ricardo, F., Pimentel, T., Maciel, E., Moreira, A. S. P., Rosario Domingues, M., & Calado, R. (2017). Fatty acid dynamics of the adductor muscle of live cockles (*Cerastoderma edule*) during their shelf-life and its relevance for traceability of geographic origin. *Food Control*, *77*, 192-198. doi:10.1016/j.foodcont.2017.01.012
- Ronaghi, M. (2001). Pyrosequencing sheds light on DNA sequencing. *Genome Research*, *11*(1), 3-11. doi:10.1101/gr.11.1.3
- Rossier, J. S., Maury, V., de Voogd, B., & Pfammatter, E. (2014). Use of isotope ratio mass spectrometry (IRMS) determination (<sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O) to assess the local origin of fish and asparagus in western switzerland. *CHIMIA International Journal for Chemistry*, *68*(10), 696-700. doi:10.2533/chimia.2014.696
- Sánchez, A. C. (2012). *Identificación y cuantificación de especies del género Merluccius mediante la utilización de PCR a tiempo real* (Tesis doctoral). Universidad de Vigo. Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología. Vigo, España. Recuperado de <http://hdl.handle.net/10261/54512>

- Saubí Oriol, M. (2019). *Situación del fraude en pescado a nivel mundial* (Trabajo final de máster). Universitat Autònoma de Barcelona. Máster Oficial en Calidad de Alimentos de Origen Animal. Barcelona, España. Recuperado de <https://recercat.cat/handle/2072/365418>
- Secretaría General del Consejo (2019). *Ulteriores medidas para combatir y desalentar más eficazmente las prácticas fraudulentas en la cadena agroalimentarias en la cadena agroalimentaria* (Conclusiones del Consejo, anexo). Bruselas: Consejo de la Unión Europea. Recuperado de <https://data.consilium.europa.eu/doc/document/ST-15154-2019-INIT/es/pdf>
- Senthil Kumar, N., & Gurusubramanian, G. (2011). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Science Vision*, 11(3), 116-124. Recuperado de [https://www.researchgate.net/publication/267860691\\_Random\\_amplified\\_polymorphic\\_DNA\\_RAPD\\_markers\\_and\\_its\\_applications](https://www.researchgate.net/publication/267860691_Random_amplified_polymorphic_DNA_RAPD_markers_and_its_applications)
- Song, G., Chen, K., Wang, H., Zhang, M., Yu, X., Wang, J., & Shen, Q. (2020). In situ and real-time authentication of thunnus species by iKnife rapid evaporative ionization mass spectrometry based lipidomics without sample pretreatment. *Food Chemistry*, 318, 1-9. doi:10.1016/j.foodchem.2020.126504
- Sotelo, C. G., Velasco, A., Perez-Martin, R. I., Kappel, K., Schröder, U., Verrez-Bagnis, V., Jérôme, M., Mendes, R., Silva, H., Mariani, S., & Griffiths, A. (2018). Tuna labels matter in europe: Mislabelling rates in different tuna products. *PLoS One*, 13(5), 1-12. doi:10.1371/journal.pone.0196641
- Spielmann, G., Spielmann, G., Huber, I., Huber, I., Maggipinto, M., Maggipinto, M., & Pavlovic, M. (2018). Comparison of five preparatory protocols for fish species identification using MALDI-TOF MS. *European Food Research and Technology*, 244(4), 685-694. doi:10.1007/s00217-017-2983-2
- Subdirecció General de la Inspecció i Control Agroalimentari (2015). *Vigilància i control oficial de la qualitat agroalimentària i lluita contra el frau agroalimentari (exercici 2014)*. Direcció General d'Alimentació, Qualitat i Indústries Agroalimentàries. Recuperado o 25 de maio de 2021, de <http://agricultura.gencat.cat/es/ambits/alimentacio/lluita-frau-alimentari/control-oficial/>
- Subdirección General de Control de la Calidad Alimentaria y Laboratorios Agroalimentarios (2020). Programa Nacional de Control Oficial de la Calidad Alimentaria. *Plan Nacional de Control Oficial de la Cadena Alimentaria 2016-2020. Actualización 2020*. Recuperado o 25 de maio de 2021, de <https://www.mapa.gob.es/es/ministerio/planes-estrategias/plan-nacional-de-control-de-la-cadena-alimentaria/plan-nacional-control-oficial-cadena-alimentaria-2016-2020.aspx>

- Terio V, Di Pinto P, Decaro N, Parisi A, Desario C, Martella V, Buonavoglia C, & Tantillo M.G. (2010). Identification of tuna species in commercial cans by minor groove binder probe real-time polymerase chain reaction analysis of mitochondrial DNA sequences. *Molecular and Cellular Probes*, 24(6), 352-356. doi:10.1016/j.mcp.2010.07.006
- The Pew Charitable Trusts (2017). La historia del atún rojo del atlántico. Recuperado de <https://www.pewtrusts.org/es/research-and-analysis/issue-briefs/2017/10/the-story-of-atlantic-bluefin>
- The Provenance (2016). Tracking tuna from catch to customer. Recuperado de <https://www.provenance.org/news/technology/tracking-tuna-catch-customer>
- Tomás, C., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Faria, M. A. (2017). Codfish authentication by a fast short amplicon high resolution melting analysis (SA-HRMA) method. *Food Control*, 71, 255-263. doi:10.1016/j.foodcont.2016.07.004
- UNE 195004:2013. *Guía de trazabilidad de los productos de la pesca y de la acuicultura* (Norma UNE 195004). Madrid: AENOR. Recuperado o 25 de xuño de 2021, de <https://www.mapa.gob.es/es/pesca/temas/calidad-seguridad-alimentaria/guiatrazabilidad.aspx>
- Unión Europea. Reglamento (CE) nº 1224/2009 del Consejo de 20 de noviembre de 2009 por el que se establece un régimen comunitario de control para garantizar el cumplimiento de las normas de la política pesquera común. Diario Oficial de la Unión Europea L 343, 22 de diciembre de 2009, pp. 1-50.
- Unión Europea. Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. Diario Oficial de la Unión Europea L 139, 30 de abril de 2004, pp. 55-206.
- Unión Europea. Reglamento (UE) nº 1379/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 11 de diciembre de 2013 por el que se establece la organización común de mercados en el sector de los productos de la pesca y de la acuicultura. Diario Oficial de la Unión Europea L 354, 28 de diciembre de 2013, pp. 1-21.
- Unión Europea. Reglamento (UE) nº 1380/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo de 11 de diciembre de 2013 sobre la política pesquera común. Diario Oficial de la Unión Europea L 354, 28 de diciembre de 2013, pp. 22-62.
- Unión Europea. Reglamento (UE) nº 2017/625 del Parlamento europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios. Diario Oficial de la Unión Europea L 95, 7 de abril de 2017, pp. 1-142.

- Unión Europea. Reglamento de ejecución (UE) 2019/627 de la Comisión por el que se establecen disposiciones prácticas uniformes para la realización de controles oficiales de los productos de origen animal destinados al consumo humano, de conformidad con el Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo. Diario Oficial de la Unión Europea L 131, 17 de mayo de 2019, pp. 51-100.
- Unión Europea. Reglamento de ejecución (UE) n ° 931/2011 de la Comisión, de 19 de septiembre de 2011, relativo a los requisitos en materia de trazabilidad establecidos por el Reglamento (CE) n ° 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo para los alimentos de origen animal. Diario Oficial de la Unión Europea L 242, 20 de septiembre de 2011, pp. 2-3.
- Velasco, A., Ramilo-Fernández, G., & Sotelo, C. G. (2020). A real-time PCR method for the authentication of common cuttlefish (*Sepia officinalis*) in food products. *Foods*, 9(3), 286. doi:10.3390/foods9030286
- Viñas, J., & Tudela, S. (2009). A validated methodology for genetic identification of tuna species (*Genus thunnus*). *Plos One*, 4(10), 1-10. doi:10.1371/journal.pone.0007606
- Wulff, T., Nielsen, M. E., Deelder, A. M., Jessen, F., & Palmblad, M. (2013). Authentication of fish products by large-scale comparison of tandem mass spectra. *Journal of Proteome Research*, 12(11), 5253-5259. doi:10.1021/pr4006525
- Xiccato, G., Trocino, A., Tulli, F., & Tibaldi, E. (2004). Prediction of chemical composition and origin identification of european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Food Chemistry*, 86(2), 275-281. doi:10.1016/j.foodchem.2003.09.026
- Xiong, X., Huang, M., Yuan, F., Lu, L., & Xiong, X. (2019). Development and validation of a fast DNA extraction protocol for fish products. *Food Analytical Methods*, 12(9), 1998-2008. doi:10.1007/s12161-019-01554-z
- Yao, L., Lu, J., Qu, M., Jiang, Y., Li, F., Guo, Y., Wang, L., & Zhai, Y. (2020). Methodology and application of PCR-RFLP for species identification in tuna sashimi. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3138-3146. doi:10.1002/fsn3.1552