

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



**“OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE UNA GALLETA  
ENRIQUECIDA CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA (*Engraulis  
ringens*) APLICANDO METODOLOGIA DE SUPERFICIE DE  
RESPUESTA”**

**Presentada por:**

**SABY INES ZEGARRA SAMAME**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAGISTER SCIENTIAE EN  
TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**Lima – Perú**

**2015**

## **DEDICATORIA**

A mis amados padres, Magda y Juan, por el inmenso amor que siempre me brindan,  
por su valioso ejemplo en todos los aspectos de la vida y su apoyo constante.

A mi amado esposo, Pepe, quien es mi gran compañero, por su confianza y palabras de  
aliento constante.

A mi mayor bendición, mi adorada hija Andrea, por su amor, dulzura y su única forma  
de ser, quien siempre será mi motivo de lucha y superación constante.

A mi querida Amelita por su gran cariño y apoyo.

A mis queridos hermanos Martha, Tula y Juan Carlos.

A mis ángeles Meche y Pepe de los que recibí mucho amor y que siempre vigilan mi  
camino.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesora la Mg. Sc. Jenny Valdez Arana por su dedicación, consejos y enseñanzas.

A la Facultad de Oceanografía Pesquería y Ciencias Alimentarias de la Universidad Nacional Federico Villarreal por brindarme la oportunidad de realizar la parte experimental de esta tesis en sus laboratorios e instalaciones.

A mi profesora y amiga Ing. Gladis Aldave Palacios por su valioso apoyo.

A la Ing. Cynthia Sánchez Huapaya por su amistad y palabras de aliento.

A mi jurado Mg.Sc Gladys Tarazona, MgSc. Gloria Pascual y Mg.Sc. Carlos Elías Peñafiel por su tiempo y recomendaciones brindadas para la mejora de esta investigación.

A mis padres, esposo e hija por su constante apoyo, amor y palabras de aliento para culminar esta investigación.

# ÍNDICE GENERAL

## RESUMEN

## ABSTRAC

<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	3
2.1. Enriquecimiento de productos	3
2.2. Galletas	5
2.2.1. Definición	5
2.2.2. Clasificación	6
2.2.3. Proceso de elaboración	7
a. Mezclado	8
b. Laminado	8
c. Moldeado	9
d. Horneado	9
e. Enfriado	10
2.3. Hidrolizados proteicos	10
2.3.1. Hidrolizados proteicos de origen pesquero	11
2.3.2. Condiciones de la hidrólisis	13
2.3.3. Grado de hidrólisis	13
2.4. Evaluación de la calidad proteica de dietas y mezclas para consumo humano	14
2.5. Evaluación sensorial	14
2.6. Metodología de la superficie de respuesta	17
2.6.1. Optimización de una superficie de respuesta	17
2.6.2. Diseños útiles para optimizar variables de procesos: Box-Behnken	19
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	20
3.1. Lugar de ejecución	20
3.2. Materiales	20
3.2.1. Materia prima e insumos	20

3.2.2. Equipos y materiales para los análisis físico químico, microbiológicos y biológicos	21
3.2.3. Implementos y equipos para el proceso de obtención de la galleta enriquecida y del hidrolizado enzimático	22
3.2.4. Materiales para los análisis	22
3.2.5. Materiales para las pruebas sensoriales	23
3.2.6. Reactivos	24
3.2.7. Materiales para el procesamiento de datos	24
3.3. Métodos de análisis	24
3.3.1. Análisis físico organoléptico para la evaluación de la frescura de la anchoveta	24
3.3.2. Análisis físico-químico al hidrolizado de pescado y a la galleta optimizada	25
3.3.3. Métodos de análisis biológicos	25
3.3.4. Método microbiológicos	26
3.3.5. Métodos de evaluación sensorial	27
a. Planeamiento	27
b. Planificación	27
c. Realización de la prueba	28
d. Análisis de datos	29
3.4. Diseño de la investigación	29
3.4.1. Obtención y caracterización del hidrolizado de anchoveta	29
3.4.2. Elaboración de las galletas con hidrolizado de anchoveta	34
3.4.3. Optimización de la formulación	40
3.4.4. Población y muestra	42
3.4.5. Instrumentos de colecta de datos	42
3.4.6. Procedimiento de análisis de datos	42
3.4.7. Determinación de la aceptabilidad general de la galleta optimizada	43
3.4.8. Caracterización físico química y microbiológica de la galleta optimizada	43
3.5. Diseño experimental	44

<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES</b>	45
4.1. Análisis biométrico y de frescura de la anchoveta utilizada para la obtención del hidrolizado	45
4.2. Caracterización del hidrolizado	45
4.3. Obtención de la formulaciones de galletas enriquecidas con hidrolizado de anchoveta	47
4.4. Efecto del porcentaje de hidrolizado de anchoveta temperatura y tiempo de horneado en la aceptabilidad sensorial de la galleta formulada	48
4.5. Optimización de la fórmula de galleta enriquecida mediante metodología de superficie de respuesta	50
4.6. Optimización de la formulación de la galleta con hidrolizado de anchoveta	58
4.7. Evaluación de la aceptabilidad sensorial de la galleta optimizada	59
4.8. Composición químico proximal de la galleta optimizada por MSR	60
4.9. Resultados de índice de peróxido, acidez titulable y contenido de hierro	64
4.10. Caracterización microbiológica de la galleta optimizada por MSR	64
4.11. Aceptabilidad general de la galleta optimizada	65
4.12. Resultado del valor biológico y de la digestibilidad aparente de la formulación optimizada de la galleta con hidrolizado de anchoveta	66
<b>V. CONCLUSIONES</b>	68
<b>VI. RECOMENDACIONES</b>	69
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	70
<b>VIII. ANEXOS</b>	78

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Diseño de la Investigación	30
Cuadro 2	Formulación base para la obtención de galletas dulces	34
Cuadro 3	Requisitos fisicoquímicos para la formulación de una galleta enriquecida	35
Cuadro 4	Requisitos físico químicos para galletas	35
Cuadro 5	Criterios microbiológicos para galletas	36
Cuadro 6	Formulación de galletas enriquecidas con hidrolizado de Anchoveta ( <i>Engraulis ringens</i> )	36
Cuadro 7	Variables independientes, códigos y valores que se utilizaron en la optimización	41
Cuadro 8	Tratamientos ordenados a elaborar y evaluar obtenidos mediante el Diseño Box-Behnken	41
Cuadro 9	Análisis químico proximal de los hidrolizados de anchoveta obtenidos en la investigación y el reportado por Pandía (2013)	47
Cuadro 10	Resultados de Aceptabilidad general para las quince formulaciones de galletas con hidrolizado de Anchoveta	49
Cuadro 11	Resultados de las Pruebas de Durbin y Comparaciones Múltiples ( $\alpha = 0,05$ )	50
Cuadro 12	Análisis de Varianza de la Optimización de la Formulación de la galleta enriquecida con hidrolizado de pescado mediante Metodología de Superficie de Respuesta	51
Cuadro 13	Resumen del modelo	53
Cuadro 14	Resultados en coeficientes codificados	54
Cuadro 15	Respuesta optimizada de las variables para obtener la máxima aceptabilidad.	61
Cuadro 16	Composición proximal de la galleta optimizada mediante MSR.	61
Cuadro 17	Resultados de Índice de peróxido, acidez titulable y hierro.	64
Cuadro 18	Resultados del análisis microbiológico de la galleta optimizada.	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Diagrama de flujo para la obtención del hidrolizado de Anchoveta	33
<b>Figura 2:</b>	Diagrama de flujo para la obtención de la galleta enriquecida con hidrolizado de Anchoveta	39
<b>Figura 3:</b>	Diseño experimental para la Optimización de la formulación de una galleta enriquecida con hidrolizado de Anchoveta aplicando Metodología de superficie de respuesta.	47
<b>Figura 4:</b>	Gráfica de efectos principales para la aceptabilidad promedio	52
<b>Figura 5:</b>	Gráficas de superficie y de contorno para las variables porcentaje de hidrolizado de Anchoveta y tiempo de horneado	55
<b>Figura 6:</b>	Gráfica de superficie y contorno para las variables temperatura y tiempo de horneado	56
<b>Figura 7:</b>	Gráfica de superficie y contorno para las variables temperatura y tiempo de horneado	57
<b>Figura 8:</b>	Gráfica de superficie y contorno que muestra el punto óptimo de aceptabilidad.	59



## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo1</b>	Insumos y valor calórico de la ración preparada (pruebas biológicas).	78
<b>Anexo2</b>	Control de peso por día y consumo de alimentos - VB	79
<b>Anexo3</b>	Formato de evaluación de la prueba de grado de Aceptabilidad General	80
<b>Anexo 4:</b>	Listado de panelistas y distrito de residencia	81
<b>Anexo 5:</b>	Construcción del diseño de bloques incompletos para la prueba sensorial	84
<b>Anexo 6:</b>	Resultados de la prueba de grado de aceptabilidad general en la evaluación de las formulaciones de las galletas ensayadas	87
<b>Anexo 7</b>	Resultados de la prueba de aceptabilidad general de la galleta Optimizada	90
<b>Anexo 8:</b>	Resultados de la prueba Prueba t- contraste entre óptimo	91
<b>Anexo 9</b>	Fotos de las pruebas de análisis sensorial	92
<b>Anexo 10:</b>	10.Fotos de las galletas obtenidas en la investigación	93
<b>Anexo 11:</b>	Resultados finales Valor Biológico (VB)	94

**OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE UNA GALLETA  
ENRIQUECIDA CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA (*Engraulis ringens*)  
APLICANDO METODOLOGIA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA**

**RESUMEN**

Se obtuvo un hidrolizado de Anchoveta por vía enzimática con el fin de utilizarlo como sustituto de la leche en polvo en la elaboración de una galleta dulce. En las formulaciones de las galletas se sustituyó la leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta en un 80, 90 y 100 por ciento de sustitución; en el proceso de cocción se probaron tres temperaturas: 150, 175 y 200 °C y tres tiempos de horneado: 8, 14 y 20 minutos generándose un total de quince tratamientos con el diseño Box-Behnken empleado en la optimización. Las galletas obtenidas fueron sometidas a la prueba del grado de satisfacción general empleando en su distribución el diseño de bloques incompletos balanceados a través del cual 105 panelistas evaluaron 3 muestras de un total de 15. El tratamiento que obtuvo la mayor aceptabilidad general (6,05) fue la galleta en la que se sustituyó la leche en polvo por un 90 por ciento con hidrolizado de Anchoveta y a una temperatura y tiempo de horneado de 175°C por 14 minutos. La optimización de la galleta realizada a través de la metodología de superficie de respuesta, empleando el programa Statgraphics plus 5.1, seleccionó a la galleta con un 92 por ciento de hidrolizado de Anchoveta y a una temperatura y tiempo de horneado de 180°C y 13 minutos. La aceptabilidad general en la prueba de grado de satisfacción de la galleta optimizada fue de 6,12. La galleta optimizada cumplió con todos los requisitos físico químico y microbiológicos. Además presentó una buena digestibilidad aparente y valor biológico.

Palabras clave: *galletas enriquecidas, hidrolizado de anchoveta, superficie de respuesta, evaluación sensorial.*

**OPTIMIZATION OF THE FORMULATION OF A ENRICHED COOKIE WITH ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) HYDROLYZED USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY**

**ABSTRACT**

It was obtained enzymatically an anchoveta's hydrolyzate to use as a substitute of milk powder in order to make a sweet cookie. In the formulations of the cookies, milk powder was replaced by hydrolyzed of anchoveta (80, 90 and 100 percent replacement) and baked at 150, 175 and 200 ° C and three times tested (8 , 14 and 20 minutes), generating a total of fifteen treatments using Box-Behnken design in the optimization. Cookies were obtained, passed through the test of general satisfaction using in its distribution the design of incomplete blocks balanced, because of that, 105 panelists evaluated 3 samples of 15 treatments. The treatment that obtained the highest acceptability (6.05) was the cookie in which the milk powder was replaced by 90 percent hydrolyzed anchoveta and the baking temperature at 175°C for 14 minutes. The optimization of the cookie using Response Surface Methodology Statgraphics plus 5.1 software, chosed the cookie with a 92 percent Anchoveta hydrolyzed, temperature and baking time of 180 ° C and 13 minutes respectively. The acceptability of the optimized cookie was 6.12. This one fulfilled all physical, chemical and microbiological requirements established. It also showed good digestibility and biological value.

*Key words: fortified cookies, hydrolyzed Anchoveta, response surface, sensory evaluation.*

## I. INTRODUCCIÓN

En el país a pesar del crecimiento económico de los últimos años, la tasa de desnutrición crónica infantil (DCI) es del 18,1 por ciento de acuerdo a los resultados de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar- ENDES- 2012 (MIDIS, 2013), por lo que el Estado Peruano se viene preocupando a través de los diferentes programas de ayuda social de revertir este mal.

Desde la década del 90 del siglo pasado se han implementado programas orientados a disminuir los niveles de desnutrición infantil patrocinados por el gobierno, tal es el caso del Vaso de Leche, FONCODES (Fondo de Cooperación para el Desarrollo Social- Perú), el PRONAA (Programa Nacional de Asistencia Alimentaria) y actualmente el Programa Nacional de Alimentación Escolar *Qali Warma*, a través de la distribución de alimentos enriquecidos, tal es el caso de mezclas fortificadas, lácteos, papillas, galletas y panes enriquecidos, los que generalmente presentan en su formulación una mezcla de cereales y leguminosas, una fuente de proteína animal, principalmente a base de leche de vaca con la adición de vitaminas y minerales.

Las proteínas de origen hidrobiológico, como las procedentes de la Anchoqueta, constituyen una fuente importante a ser empleadas en los diversos alimentos enriquecidos que se vienen distribuyendo en los programas de ayuda social.

Es importante señalar que el Perú cuenta con uno de los mares de mejor productividad en el mundo, pero paradójicamente quienes se benefician con esta proteína de alto valor biológico no son los niños peruanos desnutridos, sino las grandes empresas harineras. La Anchoqueta es una especie hidrobiológica que contiene un alto contenido de proteínas (19,1 por ciento) y ésta se caracteriza por tener un gran valor biológico, pues está compuesta por todos los aminoácidos esenciales, necesarios para el ser humano.

En cuanto al contenido en grasa su valor es de 8,2 por ciento y se caracteriza por ser una grasa poliinsaturada y por contener ácidos grasos omega 3 y omega 6. Por muchos años a partir de ella se produce harina de pescado para elaborar alimentos que consumen los animales en más de 40 países del mundo.

Dada la desnutrición crónica infantil en el Perú y en razón a aprovechar el potencial de otras fuentes de proteína que sustituyan, no solo en calidad sino en costo a la de origen lácteo, se propuso el diseño de una galleta a base de hidrolizado de Anchoveta que pudiera reemplazar a la leche en polvo, pueda brindar grasa saludable procedente de esta especie y que gozará de la aceptación de los consumidores.

Las galletas son productos alimenticios de mayor consumo en niños, muy difundidos en todos los sectores económicos sociales, por lo tanto puede constituirse como vehículo de aporte nutricional para introducirse en especial en los grupos marginales de bajos recursos, a través de una alternativa de alimentos que contribuyan en la reducción de los niveles de desnutrición infantil.

La presente investigación tuvo como objetivo general el optimizar la formulación de una galleta enriquecida con hidrolizado de Anchoveta (*Engraulis ringens*) aplicando la Metodología de superficie de Respuesta y diseño Box-Behnken y como objetivos específicos:

- Establecer la formulación más aceptada mediante pruebas sensoriales afectivas con un panel constituido por niños.
- Realizar la caracterización fisicoquímica y microbiológica de la galleta enriquecida a base de hidrolizado de Anchoveta y
- Evaluar su calidad nutricional a través de la determinación de su valor biológico y digestibilidad aparente.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ENRIQUECIMIENTO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS

El enriquecimiento de productos de panificación con insumos de origen animal es uno de los objetivos de tecnólogos de alimentos y nutricionistas ligados a instituciones públicas y privadas; es por ello que en el Perú y en muchos países de América Latina se han realizado y se vienen ejecutando investigaciones al respecto. A continuación una revisión de las mismas.

En el Perú; a inicios de los años sesenta se suplementaron con derivados de pescado diversos alimentos como sopas, galletas y mazamoras en poblaciones rurales del norte peruano tal como lo indica Ramírez (1974) citado por Rodríguez (2004).

En Lima, Candela (1990) obtuvo un hidrolizado de merluza utilizando la proteasa bromelina del jugo de piña, como producto a ser empleado en la elaboración de alimentos a base de productos hidrobiológicos.

Yáñez *et al.* (1991) estudiaron la actividad proteolítica de enzimas sobre la carne de pescado (*Merluccius gayi*), identificando que el producto presentaba todos los aminoácidos esenciales y que podía ser utilizado como suplemento proteico en formulaciones alimenticias a base de cereales, así mismo Segura (1994) diseñó un pan fortificado con pulpa de Merluza (*Merluccius gayi peruanus*).

Jiménez (2000) realizó la evaluación nutricional de galletas enriquecidas con diferentes niveles de harina de pescado.

López y Dávila (2002) elaboraron galletas con harina de Merluza en la que por motivos sensoriales solo pudieron incorporar un siete por ciento de dicho recurso.

Mejía *et al* (2013) formularon y evaluaron galletas enriquecidas con micronutrientes y proteínas de origen animal y vegetal, utilizando 5 por ciento de harina de pescado y diferentes porcentajes de concentrado proteico foliar de alfalfa y emplearon para las formulaciones la metodología de superficie de respuesta.

En México a inicio de los años cincuenta un programa gubernamental patrocinó investigaciones relacionadas al enriquecimiento de galletas con harina de pescado y en los sesenta la población mexicana se alimentó con pan, galletas, fideos y otras pastas elaboradas con un 15 por ciento de harina de pescado (Jiménez, 2000).

El aprovechamiento del pescado para elaborar productos hidrolizados de consumo humano y animal ha sido demostrado anteriormente, tal como lo refiere Gauthier y Vachon (1986).

En el Ecuador, Goulding (1988) realizó pruebas de aceptabilidad de galletas elaboradas con pescados pelágicos: Sardina, caballa y atún. La investigación la realizó en el Ecuador con niños de 7 a 14 años. Las galletas que tuvieron mayor aceptación fueron las elaboradas con Sardina.

Wood y Montañó (1988) realizaron una investigación patrocinada por el Instituto Nacional de Pesca del Ecuador la que consistió en producir galletas enriquecidas con pescados pelágicos, antes en 1985 probaron la adición de carne molida y cocinada de tiburón y harina de soya a una formulación de galletas poco modificada.

En Venezuela, Cabello *et al.* (1994) realizaron una investigación que consistió en emplear el recurso pesquero en la elaboración de diferentes productos, incluidas las galletas con el fin de introducirlo a la dieta del poblador Venezolano.

En Chile; Calfa *et al.* (2000) elaboraron galletas dulces enriquecidas con surimi de Sardina para incrementar su valor proteico, para lo cual ensayaron la adicción de 30, 40 y 50 por ciento de surimi en reemplazo de la harina de trigo, obteniendo una galleta con mayor valor de proteínas que una común y con una aceptabilidad del 80 por ciento.

Delgado *et al.* (2013) elaboraron galletas enriquecidas con Barrilete Negro (*Euthynnus lineatus*, ellos emplearon la técnica del perfil Flash para obtener los resultados sensoriales y el espacio sensorial fue construido mediante el análisis generalizado procrusteno.

Por otro lado en cuanto a la optimización de factores en el diseño de un producto, la metodología de superficie de respuesta (MRS), es una estrategia experimental y de modelación que permite encontrar condiciones – de operación óptima de un proceso para mejorar la calidad- de un producto. La MRS consiste en tres palabras claves: diseño, modelo y optimización (Gutiérrez y De la Vara, 2008).

La MRS tiene la ventaja de reducir el número de ensayos experimentales y de evaluar efectos de las variables en forma conjunta. Investigadores como Pérez (2006) y Elías *et al.* (2006) utilizaron dicha metodología para optimizar el proceso de secado de oca y la elaboración de productos cárnicos, respectivamente.

Chau (2010) utilizó la MSR para optimizar la aceptabilidad general de una bebida a base de una mezcla seca de polvo de cacao.

Aredo *et al.* (2014) empleó el Método de Superficie de Respuesta y el Modelamiento Difuso en el desarrollo de una galleta con semillas de chía (*Salvia hispánica L.*) herramienta estadística a ser empleada en la presente investigación.

## **2.2. GALLETAS**

### **2.2.1. DEFINICIÓN**

Las galletas son productos de consistencia más o menos dura y crocante, de forma variada, obtenidas por el cocimiento de masas preparadas con harinas, con o sin leudantes, leche, fécula, huevos, agua potable, sal, azúcar, mantequilla, grasas comestibles, saborizantes, colorantes, conservadores, colorantes y otros ingredientes permitidos debidamente autorizados (INDECOPI, 1981).



Estos productos han formado parte de la dieta peruana durante más de 200 años, son muy bien aceptados por la población, tanto infantil como adulta, siendo, consumidos preferentemente entre las comidas, pero muchas veces también reemplazando la comida habitual de media tarde (Pascual, 1997).

La calificación nutricional de las galletas ha sufrido cambios significativos en décadas pasadas fueron consideradas productos de lujo con un valor nutricional bajo. Sin embargo, hoy en día representan un complemento alimenticio importante en los programas de alimentación en los colegios, en algunos casos considerados como el primer alimento sólido para los niños. Por su composición química constituirían una buena fuente calórica para el hombre y en especial para el niño (Zucarelli *et al.*, 1984).

### 2.2.2. CLASIFICACIÓN

La Norma Técnica Peruana. NTP 206.001.1981 (INDECOPI, 1981) clasifica a las galletas:

- **Por su sabor:**

Saladas, dulces y de sabores especiales.

- **Por su presentación:**

- **Simples:** cuando el producto se presenta sin ningún agregado posterior luego de cocido.
- **Rellenas:** cuando entre dos galletas se coloca un relleno apropiado.
- **Revestidas:** cuando exteriormente presentan un revestimiento o baño apropiado. Pueden ser simples y rellenas.

- **Por su forma de comercialización:**

- **Galletas envasadas:** son las que se comercializan en paquetes sellados de pequeña cantidad.
- **Galleta a granel:** son las que se comercializan generalmente en cajas de cartón, hojalata o tecnopor.

Asimismo, INDECOPI (1981) especifica los siguientes requisitos a considerar en la fabricación de galletas:

a. Deberán fabricarse a partir de materias sanas y limpias, exentas de impurezas de toda especie y en perfecto estado de conservación.

b. Será permitido el uso de colorantes naturales y artificiales, conforme a la NTP 209.111 Aditivos Alimentarios (INDECOPI, 2009)

c. **Requisitos fisicoquímicos:** deberá presentar los siguientes valores, los que se indican como **cantidades máximas permisibles:**

Humedad	:	12%
Cenizas totales	:	3%
Índice de peróxido	:	5 mg/kg
Acidez (expresado en ácido láctico)	:	0,10%

**d. Requisitos microbiológicos:**

Las galletas deben cumplir con el plan de muestreo microbiológico establecido por el MINSA (2008) el que se presenta a continuación:

Microorganismo	:	Mohos.
Categoría	:	2.
Clase	:	3.
n	:	5.
C	:	2.
Límite por g para m	:	$10^2$ .
Límite por g para M	:	$10^3$ .

### 2.2.3. PROCESO DE ELABORACIÓN

#### a. Mezclado

En la elaboración de galletas, existen tres métodos básicos empleados: cremado, mezclado “todo en uno” y amasado (Manley, 1989).

#### -El Cremado (Creaming Up)

Los ingredientes son mezclados con la grasa a fin de obtener una crema, prosiguiéndose con la adición de harina, pudiendo realizarse esta en dos o tres etapas. El de dos etapas consiste en mezclar todos los ingredientes incluyendo el agua (a menudo como agente emulsificante) con excepción de la harina y el agente químico durante 4 a 10 minutos de acuerdo al tipo y velocidad del mezclador; posteriormente se añade el bicarbonato de sodio y harina continuando con el mezclado hasta adquirir una consistencia deseada. En el caso de tres etapas, se mezcla la grasa, azúcar, jarabe, líquido (leche o agua), cocoa, etc. hasta obtener una crema suave, agregándose el emulsificador y mayor cantidad de agua. Posteriormente se añade la sal, saborizante, colorante, el resto de agua mezclándose seguidamente con el propósito de mantener la crema y finalmente la harina, los agentes químicos y los otros ingredientes (Manley, 1989).

#### **-Mezclado “Todo en uno”**

Todos los ingredientes son mezclados en una sola etapa incluyendo el agua; parte del agua se utiliza para disolver los agentes químicos, saborizantes, colorantes, prosiguiéndose con el mezclado hasta obtener una masa satisfactoria (Manley, 1989).

#### **- El Método del Amasado**

Consiste en que primero, la grasa, azúcar, jarabes, harinas y ácidos son mezclados hasta obtener una masa corta; luego se añade agua (y/o leche) conteniendo los agentes alcalinos, sal, y otros ingredientes mezclándose hasta alcanzar una masa homogénea. En la primera etapa, la harina es cubierta con la crema para actuar como una barrera contra el agua, formando el gluten con la proteína. El tiempo final de amasado puede definirse cuando la temperatura de la masa alcanza un punto determinado en el cual el gluten se ha desarrollado convenientemente y la masa ha alcanzado las cualidades particulares de elasticidad, resistencia y moldeabilidad requerida, que constituye lo que se llama consistencia (Manley, 1989).

#### **b.Laminado**

La laminación de la masa consiste en la formación de una película continua y homogénea con la superficie lisa.

Como recomienda León (2000) la masa preparada para poder ser laminada no debe enfriarse y debe usarse sin demora. La masa de recortes debe mezclarse íntimamente con el resto de la masa en la laminadora, o incorporarse de forma dosificada por la parte inferior de la lámina. La mala técnica de incorporación de la masa de recorte, especialmente si está fría, estropeará la lámina nueva.

### **c.Moldeado**

Existen dos formas para realizar el moldeado, una es mediante el corte de una masa laminada en trozos de tamaño y de forma adecuada y la otra es utilizando moldes.

En el moldeado de la galleta, como la elaborada en la presente investigación, el peso y tensiones de la masa son parámetros que afectan las características finales de este producto por lo que es una operación en la que el productor debe prestar mucha atención (León, 2000).

### **d.Horneado**

Es el proceso de cocción de la galleta durante el cual se elimina casi toda el agua llegando a tener 2,5 a 3,0 por ciento, el proceso de cocción para galletas es corto, puede durar hasta 15 minutos dependiendo del tipo de galleta. La temperatura del horno puede variar entre 160 °C, 180 °C hasta 200 °C.

Según Manley (1989), durante la cocción se producen tres variaciones diferentes:

- La gran disminución de la densidad del producto, unida al desarrollo de una textura abierta y porosa.
- Disminución del nivel de humedad hasta 1 a 5 por ciento.
- Cambio de color en la superficie.

Otros cambios que ocurren son: el derretimiento de la grasa y la formación del gas que ocasiona la expansión de las galletas, aumentando su tamaño; la gelatinización del almidón, la coagulación de las proteínas entre otros (Manley, 1989).

### **e.Enfriado**

Es conveniente dejar que las galletas se enfríen completamente antes de empaquetarlas.

### **2.3.HIDROLIZADOS PROTEICOS**

La hidrólisis de la proteína consiste básicamente en una acción de las enzimas proteolíticas (endopeptidasas o exopeptidasas) sobre enlaces peptídicos de la proteína, dando lugar a péptidos de menor peso molecular que el de la proteína inicial. Como consecuencia de esta hidrólisis hay un incremento en el número de grupos amino y carboxilo libres, correspondiente a los aminoácidos constituyentes de los péptidos formados. A medida que la reacción procede, el tamaño de los péptidos cada vez se hace menor. Además, en esta modificación que sufre la proteína en su constitución se alteran radicalmente sus propiedades funcionales: hay un drástico aumento de la solubilidad y se producen cambios en el sabor (Candela, 1990).

Fernández (2001) afirma que para efectuar la hidrólisis de las proteínas se han empleado ácidos, enzimas proteolíticas provenientes de diferentes fuentes. Así, por ejemplo, se pueden citar la papaína, ficina, y bromelina extraídas de plantas; la pepsina, renina y quimiotripsina obtenidos de origen animal y, finalmente, las enzimas de origen microbiano ya sea a partir de hongos o bacterias.

Battista y Paoletti, citados por Rodríguez (2004) afirman que los hidrolizados proteicos son importantes por sus propiedades funcionales, particularmente por su solubilidad y valor nutricional.

Así mismo, Martínez (1998) señala que es posible utilizar residuos generados en el proceso industrial del pescado o especies de escaso valor comercial en la obtención de péptidos de menor tamaño y aminoácidos libres que pueden ser recuperados para su posterior utilización en el área de la tecnología alimentaria y de la nutrición. Pueden para ello utilizarse enzimas endógenas o bien preparaciones comerciales a base de proteasas de origen animal, vegetal o microbiano.

Baca (1991) evaluó la actividad proteolítica de tres enzimas proteásicas de origen bacteriano (*Bacillus subtilis*). Utilizaron vísceras de pescado (*Mugil cephalus*) como sustrato a

diferentes concentraciones de las enzimas de 0 a 1 por ciento. Al final del proceso pudieron observar el incremento de nitrógeno soluble.

El interés y los estudios sobre hidrólisis enzimática de pescado y sus residuos se han incrementado desde la década pasada dado a que la biomasa de origen marino provee proteínas con buenas propiedades nutricionales y un buen perfil de aminoácidos esenciales (Diniz & Martin, 1997). Por ello se viene sugiriendo el uso de estos hidrolizados proteicos líquidos o en polvo en la inclusión de diversas formulaciones alimenticias, en productos tradicionales, tales como productos de panadería, enlatados, alimentos preparados o salsas (Ravallec - Ple, 2001).

Con la hidrólisis muchas de las propiedades funcionales de las proteínas se ven afectadas de manera positiva con un aumento en la solubilidad. La solubilidad de las proteínas miofibrilares se incrementa con la hidrólisis enzimática, ya que conduce a péptidos más pequeños y grupos amino y carboxilos expuestos permitiendo una mayor interacción con el agua, estos incrementos en solubilidad y su aplicación en un rango de pH, entre 4 - 8, permite la aplicación de los hidrolizados en una mayor variedad de alimentos. Tanto la solubilidad en un amplio rango de pH, como el valor nutritivo de los hidrolizados de proteína de pescado, los convierte en una opción para producir sustitutos de leche (lacto reemplazadores) y como ingrediente de las formulas nutritivas como bebidas, siempre y cuando no se vea afectado el sabor (Ovissipour *et al.*, 2010).

### **2.3.1.HIDROLIZADOS PROTEICOS DE ORIGEN PESQUERO**

En la industria anchovetera, la captura es destinada en gran parte para la elaboración de harina de pescado, no obstante, el procesamiento para enlatados ha registrado un incremento sostenido (PRODUCE, 2013) siendo el rendimiento en corte cabeza y cola (HG) aproximadamente 60 por ciento.

La industria de procesamiento de este recurso genera una serie de residuos que pueden ser utilizados pues se constituyen como fuente rica en proteínas. Uno de los métodos de recuperación de proteínas es la hidrólisis enzimática, que implica el uso de enzimas

comerciales las cuales rompen los enlaces peptídicos en el interior de las cadenas polipeptídicas. Método que se puede emplear a fin de obtener hidrolizados a base de pescado de alto valor proteico (Pandía, 2013).

Según Benítez (2008), el proceso de obtención de un hidrolizado proteico se puede realizar por vía química o enzimática. La hidrólisis enzimática suele ser un proceso leve que resulta en productos de alta funcionalidad, buenas propiedades organolépticas y un buen valor nutritivo sin la formación de subproductos tóxicos.

Para Pandía (2013) el proceso general de una hidrólisis proteica por vía enzimática incluye las siguientes fases:

- 1° Inactivación de enzimas endógenas
- 2° Hidrólisis enzimática en un reactor.
- 3° Inactivación de la enzima.
- 4° Separación de la fase sólida y líquida.
- 5° Aislamiento del hidrolizado proteico de la fase líquida.

En la primera fase la materia prima a hidrolizar (anchoveta) es molida y cocinada entre 75 y 80°C durante 15 a 20 minutos con la finalidad de inactivar enzimas endógenas a fin de tener un control total de la reacción enzimática.

En la segunda fase la mezcla debe ser transportada al tanque de hidrólisis y agregársele agua (agua: sustrato de 1:1), allí se le adicionará la enzima controlando que la temperatura este entre 50 a 60 °C por un tiempo de 30 a 60 minutos.

En la tercera fase se inactiva la enzima a 90 °C por 20 minutos.

La cuarta fase podría consistir en la separación de la la fracción soluble y el posterior secado por atomización (utilizando maltodextrina) o la liofilización (Pandía, 2013).

Benítez (2008) afirma que la hidrólisis proteica se realiza normalmente en un reactor, con control de agitación, pH, temperatura y tiempo del proceso. El sustrato se disuelve o se suspende en agua hasta que el pH y la temperatura se estabilizan; a continuación se agrega la proteasa dando inicio a la hidrólisis. A medida que ésta progresa se produce una disminución del pH debido a la rotura de los enlaces peptídicos. En los casos de hidrólisis enzimática el pH debe ser mantenido en el óptimo de la enzima mediante la adición de base diluida. Para finalizar la hidrólisis proteica la enzima puede ser inactivada con calor, mediante una disminución del pH o con una combinación de ambos, o también puede ser retirada del medio mediante filtración y la proteína finalmente precipitada.

### **2.3.2. CONDICIONES DE LA HIDRÓLISIS**

Debe establecerse la relación [proteína] / [proteasa] una vez que se ha efectuado un posible pretratamiento de la proteína si es necesario. A continuación deben ser definidas las condiciones de la reacción del proceso de hidrólisis. Las principales variables que determinan el resultado de la reacción son temperatura, pH, relación enzima-sustrato y el tiempo de reacción. Los primeros tres factores determinan la velocidad de reacción y pueden influir en la especificidad de la enzima. El tiempo de reacción solamente determina el grado final de hidrólisis (Adler - Nissen, 1986). Los efectos interactivos entre los parámetros de la hidrólisis también influyen en la composición del hidrolizado. Si el proceso de hidrólisis no se controla, el pH de la solución cambiará después del inicio de la hidrólisis debido a la formación de grupos aminos nuevos, los cuales son capaces de liberar o aceptar protones, dependiendo del pH de la hidrólisis. A un pH bajo todos los grupos amino están protonados y solamente parte de los grupos carboxilo están desprotonados, resultando en una captación neta de protones por cada enlace peptídico roto, causando un incremento del pH. A pH neutro y alcalino la hidrólisis resulta en una disminución de pH, pues todos los carboxilos están desprotonados y solamente parte de los grupos amino están protonados (QI, 2006).

### **2.3.3. GRADO DE HIDRÓLISIS**

De acuerdo Bhaskar (2008) el grado de hidrólisis (DH) es el parámetro clave para el seguimiento y control de las reacciones de hidrólisis de proteínas. Representa la proporción de enlaces peptídicos hidrolizados sobre el número total de enlaces.



El DH se calcula de acuerdo con la Ecuación 1, donde h es el número de enlaces peptídicos hidrolizados y htot el número total de enlaces peptídicos presentes en la proteína nativa. Ambos h y htot son expresados en meq/g.

**Ecuación 1: grado de hidrólisis**

$$DH = (h/h_{tot}) \cdot 100\%$$

Los métodos para medir el DH se basan en la determinación de los grupos  $\alpha$ -amino libres, la determinación de nitrógeno soluble tras precipitar la proteína con ácido tricloroacético y la valoración del protón liberado tras la ruptura de un enlace peptídico a determinados valores de pH (Benítez, 2008).

#### **2.4.EVALUACIÓN DE LA CALIDAD PROTEICA DE DIETAS Y MEZCLAS PARA CONSUMO HUMANO**

La evaluación de proteína de un alimento normalmente se lleva a cabo partiendo de lo más simple a lo más complejo. La evaluación comienza con el análisis de nitrógeno y de aminoácidos, le sigue una serie de determinaciones químicas específicas, y termina con las pruebas biológicas (Carhuallanquis, 2004).

Los ensayos biológicos se basan en la determinación del crecimiento o la retención de nitrógeno en animales experimentales como la rata, en función del consumo de proteína. Para obtener datos de una precisión fiable y significativa, deben utilizarse varios animales en cada ensayo y analizar estadísticamente los resultados; es preciso, además estandarizar las condiciones de ensayo. Los métodos convencionales para calcular la calidad nutricional de las proteínas, son valor biológico y digestibilidad (AOAC, 2000).

#### **2.5.EVALUACIÓN SENSORIAL**

La evaluación sensorial de los alimentos se constituye en la actualidad como una de las más importantes herramientas para el logro del mejor desenvolvimiento de las actividades de la industria alimentaria. Así, su aplicación en el control de calidad y de procesos, en el diseño

y desarrollo de nuevos productos y en la estrategia del lanzamiento de los mismos al comercio, la hace, sin duda alguna, copartícipe del desarrollo y avance mundial de la alimentación (Ureña *et al.*, 1999).

Esta disciplina de la ciencia de los alimentos comprende una serie de técnicas para medir de manera exacta y precisa la respuesta del consumidor hacia los alimentos y minimizar cualquier tipo de información que pueda influir en su percepción. Es un método científico que se utiliza para provocar, medir, analizar e interpretar reacciones que producen las características de un producto o alimento tal y como se perciben por los sentidos de la vista, olfato, tacto, gusto y oído (Milacatl, 2003).

Está constituida por dos procesos definidos según su función: el análisis sensorial y el análisis estadístico. Mediante el primero se obtienen las apreciaciones de los jueces o panelistas a manera de datos que serán posteriormente transformados y valorados por el segundo, dándoles con ellos la objetividad deseada (Ureña *et al.*, 1999).

El análisis sensorial puede ser definido como el método experimental mediante el cual los panelistas perciben y califican, caracterizando y/o midiendo, las propiedades sensoriales de muestras adecuadamente presentadas, bajo condiciones ambientales preestablecidas y bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico (Anzaldúa – Morales, 1994).

Por otro lado el análisis estadístico está dado por la formulación de supuestos teóricos (hipótesis), con los que se podrá hacer inferencias o conclusiones sobre una población de alimentos o personas, y que serán comprobados a partir de los resultados del tratamiento estadístico de los datos obtenidos del análisis sensorial de la muestra que la represente; tratamiento aplicado en base a un adecuado diseño experimental que asegure la confiabilidad de los datos y sus resultados (Ureña *et al.*, 1999).

Así pues, los diseños experimentales están referidos solo a la secuencia particular en la cual un conjunto de muestras es presentado a una población específica de panelistas, mientras que el análisis estadístico lo está a las operaciones matemáticas específicas aplicadas a los datos obtenidos del análisis sensorial (Ureña *et al.*, 1999).

Según el IFT (2009) las aplicaciones más importantes de la evaluación sensorial en alimentos son:

- Desarrollo de nuevos productos.
- Imitación de productos.
- Mejora de un producto.
- Cambios en el proceso.
- Reducción de costos y/o selección de una nueva materia prima.
- Control de calidad.
- Estabilidad durante el almacenamiento.
- Clasificación o graduación de productos.
- Aceptación del consumidor y sondeo de opinión.
- Preferencia del consumidor.
- Selección y entrenamiento de jueces.
- Correlación de características sensoriales con medidas físicas y químicas.

Las pruebas sensoriales han sido descritas y clasificadas de diferentes formas. Los especialistas en pruebas sensoriales y los científicos de alimentos clasifican las pruebas en afectivas (orientadas al consumidor) y analíticas (orientadas al producto). Las pruebas orientadas al consumidor comprenden: pruebas de preferencia, de aceptabilidad y hedónicas. Las pruebas orientadas a los productos comprenden: pruebas de diferencia, de ordenamiento para evaluar intensidad, de evaluación de intensidad con escalas y pruebas descriptivas (Anzaldúa – Morales, 1994).

De acuerdo a lo recomendado por Anzaldúa - Morales (1994), en la evaluación de productos de panificación se pueden realizar las evaluaciones orientadas al consumidor y a los productos. Las pruebas afectivas o pruebas orientadas al consumidor incluyen las pruebas de preferencia, pruebas de aceptabilidad y pruebas hedónicas (grado en que gusta un producto). Estas pruebas se consideran pruebas del consumidor, ya que se llevan a cabo con paneles de consumidores no entrenados (Watts *et al.*, 1992).

## **2.6.METODOLOGÍA DE LA SUPERFICIE DE RESPUESTA**

La metodología de superficie de respuesta (MSR) es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas útiles para modelar y analizar problemas en los cuales una respuesta de interés es influenciada por varias variables, siendo el objetivo optimizar esta respuesta (Montgomery 1991).

-El método de superficie de respuesta permite formular y desarrollar productos, habiendo demostrado ser una excelente herramienta para simplificar diseños experimentales, permitiendo trabajar simultáneamente con varias variables (Villarreal, citado por Benavente 2003).

La MSR permite seleccionar previamente un número discreto de factores que se saben que son los que más influyen en una función objetivo, que para el caso de la industria alimentaria pueden ser en el producto y en su aceptación global. A partir de la variación de estos factores y siguiendo diseños experimentales adecuados, se obtienen datos cuantitativos de la variable respuesta (aceptación) que, ajustados a un modelo matemático, proporcionan una ecuación multivariante que resume los resultados del estudio y permite predecir las respuestas para valores que no fueron determinados en el experimento (González *et al.*, 2000).

Según Elías (2006) la optimización mediante superficies de respuesta le permite al tecnólogo de alimentos minimizar los costos, maximizar las ganancias, reducir el empleo de ingredientes o preservantes costosos, incrementar las características deseables del alimento sin comprometer su inocuidad durante el desarrollo de un nuevo producto o para el mejoramiento de uno existente, tal como fue empleada en la presente investigación.

### **2.6.1. OPTIMIZACIÓN DE UNA SUPERFICIE DE RESPUESTA**

En la fase inicial del estudio de una superficie de respuesta se trata de identificar la región de respuesta óptima y para ello se utilizan experimentos factoriales completos  $2^k$  (número de niveles por cada factor) o fraccionarios  $2^{k-p}$ , con el fin de estimar las respuestas medias para un modelo lineal o de primer orden. Se recomienda generalmente agregar dos o más

observaciones en el nivel medio de cada uno de los factores para estimar el error experimental y tener un mecanismo de evaluación con el fin de establecer si el modelo lineal es apropiado (Montgomery, 1991).

Ya identificada la región de respuesta óptima, los diseños factoriales completos o fraccionarios a dos niveles no son suficientes, pues se requieren al menos tres niveles para cada factor y el diseño debe de tener  $1+2k+k(k-1)/2$  puntos distintos para estimar los parámetros de un modelo de regresión cuadrática. Sin embargo utilizar factoriales  $3^k$  requiere un número de combinaciones de tratamientos poco práctico, pues si se tienen  $k=2$ , factores se necesitarían 9 combinaciones de tratamientos y agregar un factor más, esto es, tener un diseño factorial  $3^3$  requiere 27 combinaciones de tratamientos (Montgomery, 1991).

Existen varias clases de diseños desarrollados para la aproximación a una superficie de segundo orden, que no requieren tantas combinaciones de tratamientos como los diseños factoriales  $3^k$  y donde cada uno de ellos posee ciertas características y propiedades. Entre estos están los diseños centrales compuestos propuestos por Box y Wilson, citado por Montgomery (1991), que no crecen tanto como los diseños factoriales  $3^k$ , y los diseños Box-Behnken.

El MSR y el Análisis de Componentes Principales (ACP) se han utilizado en conjunto con el objetivo de identificar los niveles de ingredientes y/o las condiciones de procesamiento que mejor concuerdan con el perfil sensorial de un producto meta (Rossi, 2001). El ACP es una técnica de reducción o simplificación para transformar las variables originales en una combinación lineal de pocas variables que explican la mayor cantidad de la varianza total (Stone y Bleibaum, 2009). El Análisis de Componentes Principales es una de las técnicas de análisis de datos multivariados comúnmente usada en el análisis de datos de panel sensorial entrenados y que en los últimos años se viene aplicando a la evaluación de consumidores generales (Gamboa, 2010).

### **2.6.2 DISEÑOS ÚTILES PARA OPTIMIZAR VARIABLES DE PROCESOS: BOX-BEHNKEN**

Dentro de los diseños que deben ser empleados en la tecnología y control de procesos para optimizar variables de procesos se encuentran: a) diferentes variantes de los diseños compuestos centrales: centrados en las caras, circunscritos e inscritos, b) los diseños factoriales completos a 3 niveles y c) los planes experimentales de Box-Behnken.

Estos diseños deben ser empleados en la fase final de una secuencia de experimentos, o de lo contrario si el conocimiento del sistema por parte del investigador es excelente puede atreverse a realizarlo desde un principio (Fernández, 2008).

Bok y Behnken en 1960 propusieron una clase de diseños de tres niveles para estimar la superficie de respuesta de segundo orden. Estos diseños se forman combinando factoriales  $2k$  con diseños de bloques incompletos.

Según Montgomery (1991) los diseños resultantes suelen ser más eficientes en términos del número de corridas requerido. Además, son rotables o casi rotables y hace la estimación de los coeficientes de primer y segundo orden más eficientes. El fin es reducir de 27 tratamientos a solo 15, lo que se ha realizado en la presente investigación.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.LUGAR DE EJECUCIÓN**

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Tecnología de los Alimentos, Química y Panadería de la Facultad de Oceanografía Pesquería y Ciencias Alimentarias de la Universidad Nacional Federico Villarreal (FOPCA- UNFV) y en el Laboratorio de Evaluación Biológica de Alimentos de la Facultad de Zootecnia, Departamento Académico de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

#### **3.2. MATERIALES**

##### **3.2.1. MATERIA PRIMA E INSUMOS**

Para la elaboración del hidrolizado se empleó Anchoveta (*Engraulis ringens*) fresca, la misma que se adquirió del terminal pesquero de Villa María del Triunfo, de la ciudad de Lima.

La enzima proteasa que se empleó para la obtención del hidrolizado fue de origen microbiano, siendo una proteasa activa: Delvolase, Lote A # 2599 F, la que fue adquirida de Deltagen del Perú S.A.

Los demás insumos para la elaboración de galletas fueron de marcas conocidas:

- Harina de trigo fortificada con hierro, marca Blanca flor.
- Manteca vegetal, marca Tropical. Industria del Espino S.A.

- Leche en polvo entera, marca Gloria.
- Sal yodada de cocina marca EMSAC.
- Azúcar blanca, marca Costeño S.A.C
- Bicarbonato de sodio: MONTANA S.A
- Saborizante naranja: 74016-71 PAL HARMONY PERU S.A.C.

### **3.2.2. EQUIPOS Y MATERIALES PARA LOS ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y BIOLÓGICOS**

- Autoclave eléctrica horizontal, marca Tempra, modelo 3870-P.
- Balanza de precisión triple barra, marca OHAUS. Capacidad 2kg. Precisión  $\pm 1g$ .
- Balanza analítica, marca OHAUS. Capacidad 1 kg, precisión  $\pm 0,1mg$ .
- Centrífuga, marca Hettich, modelo D-78522, velocidad de rotación de 4000 RPM.
- Estufa de cultivo marca Binder, modelo BD 53.
- Cuenta colonias marca Bentex modelo 900<sup>a</sup>.
- Equipo de baño maría, marca Memmert, Modelo Kord.
- Equipo soxhlet, marca Gerhardt, capacidad para cuatro balones.
- Equipo semi micro Kjeldahl.
- Espectrofotómetro marca JENWDV 6505 UV/VIS.
- Estufa eléctrica marca MEMMERT. Precisión de 0°C a 250°C.
- Hornilla eléctrica.
- Jaulas metabólicas individuales de acero inoxidable.
- Comedores y bebedores individuales.
- Mufla eléctrica, marca GALLEKAMP. Precisión de 0° a 700°C.
- Potenciómetro marca Altronix. MTPA –III.
- Refractómetro marca TYPE- D. Rango de 0-85 °Brix.



### **3.2.3. IMPLEMENTOS Y EQUIPOS PARA EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE LA GALLETA ENRIQUECIDA Y DEL HIDROLIZADO ENZIMÁTICO**

- Balanza de precisión, marca Ohaus, modelo ARP110, capacidad 5 kg, precisión  $\pm 1,0$  g.
- Bandejas de acero inoxidable.
- Batidora marca Nova. Cinco velocidades.
- Bowls de acero inoxidable.
- Coche porta bandeja.
- Congeladora marca MORAVECO. 0°C- -40°C.
- Envases de polipropileno biorientado (BOPP).
- Espátulas.
- Horno eléctrico marca Nova. T° de 0 a 300° C.
- Licuadora semi industrial marca TECHNO FOOD. Capacidad 20 kg.
- Mesas de acero inoxidable.
- Mezcladora y amasadora- Nova.
- Moldes para galletas.
- Molino de carne marca CORONA. Capacidad 10 kg.
- Selladora de bolsas semi automática marca ARST.
- Tamiz cilíndrico de acero inoxidable, marca Tyler # 20.

### **3.2.4. MATERIALES PARA LOS ANÁLISIS**

- Agitador magnético, marca Mermert, modelo J5.
- Aro metálico.
- Balanza analítica, marca OHAUS. Precisión  $\pm 0,1$ mg.
- Balones de: Destilación simple, Soxhlet y de digestión Kjeldahl.
- Beackers de 50 y 100 mL.
- Buretas.
- Cápsulas.
- Crisoles.
- Desecadores.

- Erlenmeyers de 100 y 250 mL.
- Equipo de destilación Kjeldahl.
- Equipo de titulación.
- Fiolas de 50, 100, 500 ml.
- Gradillas con tubos de ensayo.
- Lunas de reloj.
- Malla de asbesto.
- Mechero Fisher.
- Placas Petri.
- Papel filtro.
- Perlas de vidrio.
- Pesa filtro.
- Pipetas.
- Pinzas para cápsulas, crisoles y balones.
- Probetas.
- Refrigerantes: recto, de bolas.
- Rejilla de asbesto.
- Soporte universal.
- Termómetro de mercurio de 0 -150 °C.
- Trípode.
- Vasos de precipitado.
- Ratas Holtzamn, machos de 24 días de nacidos.

### **3.2.5. MATERIALES PARA LAS PRUEBAS SENSORIALES**

- Agua de mesa marca Cielo.
- Bandejas de plástico
- Formatos para la prueba sensorial.
- Muestras del producto a evaluar.
- Platos descartables.
- Plumones marcadores.
- Vasos de plástico.
- Servilletas.

- Agua de mesa sin gas, marca Cielo.

### **3.2.6. REACTIVOS**

- Ácido sulfúrico al 98%, libre de nitrógeno.
- Agua destilada.
- Catalizador  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O} : \text{K}_2\text{SO}_4 : 1:300$ .
- Carbonato de sodio.
- Etanol al 78, 80 y 95%.
- Dietas proteicas para evaluación biológica.
- Indicadores: Fenolftaleina, rojo de metilo.
- Hidróxido de sodio: 40% p/v , 0,1N.
- Ptalato ácido de potasio.
- Hexano.
- Medios de cultivo para el análisis micro biológico.

### **3.2.7. MATERIALES PARA EL PROCESAMIENTO DE DATOS**

- Computadora marca HP.
- Hardware: Pentium IV.
- Software: Microsoft Office 98.
- Programa *Statgraphics* plus 5.1.

## **3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS**

### **3.3.1. ANÁLISIS FÍSICO ORGANOLÉPTICO PARA LA EVALUACIÓN DE LA FRESCURA DE LA ANCHOVETA**

Se utilizaron las directrices del Codex para la evaluación sensorial de pescado y mariscos en el laboratorio, CAC/RCP 52- 2003. Rev.2 (Codex, 2005) Determinación del pH siguiendo el método 981.12 (AOAC, 2005).

### **3.3.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO AL HIDROLIZADO DE PESCADO Y A LA GALLETA OPTIMIZADA**

- Sólidos solubles mediante el método refractométrico (AOAC, 2000).
- Humedad mediante los métodos 952.08 A y 950.46 (AOAC, 2005).
- Proteína mediante los métodos 940.25 y 984.1 (AOAC, 2005).
- Grasa mediante los métodos 948.15 y 2003.05 (AOAC, 2005).
- Cenizas mediante los métodos 935.08 y 942.05 (AOAC, 2005).
- Carbohidratos y energía total obtenidos por diferencia.
- Fibra cruda de acuerdo a la NTP 205.003 (INDECOPI, 2011) y el método 962.09 (AOAC, 2005).
- Grado de hidrólisis por el método espectrofotométrico (DUMAY et al., 2004).
- Acidez titulable de acuerdo a la NTP 206.008 (INDECOPI, 2011).
- Índice de peróxido de acuerdo a la NTP 206.016 (INDECOPI, 2011).
- Cuantificación de Hierro mediante el método 985.35 (AOAC, 1999).

### **3.3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS BIOLÓGICOS**

La evaluación de digestibilidad y valor biológico aparente de la galleta optimizada se realizó de la siguiente manera.

#### **a. Digestibilidad aparente:**

Para esta prueba se utilizaron 6 ratas machos Holtzman de 24 días de edad, distribuyéndose en 6 jaulas metabólicas de acero inoxidable, cada jaula contó con bebederos de vidrio y comederos de 15 g de capacidad, con una guillotina graduables para no desperdiciar los alimentos; teniendo asimismo, un sistema especial que permite coleccionar las heces y la orina por separado. A estos animales se les ofreció la “dieta problema” que aparece en el Anexo 1.

La prueba duró 06 días. Se registró el peso y el consumo de alimento diario y en forma individual, así como la excreción de heces y orina (Anexo 2), que se coleccionaron en frascos

de vidrio y se guardaron bajo refrigeración hasta terminar todo el ensayo; luego de homogenizar cada resto, se determinó la cantidad de nitrógeno, por el método 984.13 AOAC (2005), para después utilizar la siguiente fórmula:

$$Dap = \frac{(Ni - Nf)}{Ni} \times 100$$

Dónde:

Ni = Nitrógeno ingerido (g)

Nf = Nitrógeno fecal (g)

#### **b. Valor Biológico:**

Para determinar el valor biológico de la ración se utilizaron los mismos registros tomados de la digestibilidad aparente y además el contenido urinario, para posteriormente aplicar la fórmula siguiente:

$$VB = \frac{Ni - (Nf - Nu)}{Ni - Nf} \times 100$$

Dónde:

Ni = Nitrógeno ingerido en g

Nf = Nitrógeno fecal en g

Nu = Nitrógeno urinario en g

### **3.3.4.MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS**

Se realizaron los siguientes ensayos microbiológicos, en función a los microorganismos establecidos por el MINSA (2008):

Número de Aerobios mesófilos NMP/g, Coliformes UFC/g, Mohos UFC/g, de acuerdo a los métodos establecidos por el ICMSF (1983).

### 3.3.5. MÉTODOS DE EVALUACIÓN SENSORIAL

De acuerdo a lo establecido por Costell y Duran (1981a y 1981b) se ejecutó la siguiente metodología:

#### a. Planteamiento

Incluyó objetivos, parámetros a medir y muestras.

##### - **Objetivo**

Fue determinar la aceptabilidad general de las diferentes muestras de galletas en base al porcentaje de sustitución de leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta (*Engraulis ringens*).

##### - **Parámetros a medir**

Fue la aceptabilidad general de la galleta con hidrolizado de Anchoveta (*Engraulis ringens*).

##### - **Muestras a evaluar**

Las muestras a evaluar fueron las galletas. El número por panelista fue de dos unidades por muestra y seis para un total de tres muestras a evaluar presentados en platitos descartables codificados.

#### b. Planificación

Incluyó la selección de la prueba adecuada, la elección del grupo representativo y el diseño más apropiado para analizar los datos.

##### - **Selección de la prueba**

Se empleó la prueba del grado de aceptabilidad general empleando una escala hedónica de categoría de 7 niveles (Watts *et al.*, 1992). (Ver formato Anexo 3)

- **Panelistas**

Se emplearon jueces o consumidores que no requirieron entrenamiento. La selección de dichos jueces tuvo como requisito que fueran consumidores del tipo de producto.

De acuerdo a lo recomendado por Zook y Wessmann (1977) y Cross *et al.* (1978), se empleó una encuesta de preselección, a partir de ella se conformó un grupo de 105 niños de ambos sexos que tenían edades entre 9 y 13 años de edad, procedentes de diferentes distritos de Lima (Anexo 4).

- **Diseño estadístico**

El diseño estadístico empleado en la distribución de las muestras a los jueces, fue el de bloques incompletos equilibrados, esto a razón que cada panelista no podría evaluar el total de los tratamientos en una sesión, debido a que la fatiga por probar muchas muestras incrementaría el error experimental. Siguiendo lo establecido por (Meilgaard *et al.*, 1991).

**c. Realización de la prueba**

Se tomó en cuenta lo recomendado por Costell y Durán (1982), los aspectos considerados fueron:

- **Aspectos informativos**

Se proporcionó información a los jueces para facilitar la evaluación y evitar confusiones en la realización de las pruebas sensoriales.

- **Aspectos ambientales**

Se consideró que el ambiente cumpla con los requisitos de iluminación, ventilación y sobre todo confort lo que permitió un nivel de concentración adecuado para la ejecución de la prueba.

- **Aspectos prácticos**

Se tomó en cuenta la presentación de las muestras, su orden y homogeneidad, los utensilios a utilizar y la forma de codificar las muestras para su correcta identificación.

**d. Análisis de datos**

Se realizó un análisis estadístico con los datos que obtuvimos de la prueba de aceptabilidad general. Se empleó la prueba de Durbin, de acuerdo a lo establecido por Meilgaard *et al.* (1991) y por Costell y Durán (1982).

**3.4. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

El diseño de la investigación comprendió las etapas que se muestran en el Cuadro 1.

**3.4.1. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL HIDROLIZADO DE ANCHOVETA**

Se utilizó el método propuesto y optimizado por Windsor y Barlow (1984) tomando ciertas consideraciones dadas por Pandia (2013) a escala laboratorio, el mismo que se muestra en la Figura 1. La descripción de las operaciones se presenta a continuación:



N °	ETAPA	RESUMEN DE ACTIVIDADES
I	Obtención y caracterización del hidrolizado de Anchoveta	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Obtención del hidrolizado siguiendo lo descrito en la Figura 2.</li> <li>- Análisis proximal: (Porcentajes de Humedad, grasa, proteína y carbohidratos).</li> <li>- pH.</li> <li>- Sólidos solubles.</li> <li>- Grado de hidrólisis.</li> </ul>
II	Elaboración de las galletas con el hidrolizado de Anchoveta.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aplicación del diseño Box Behnken para obtener 15 tratamientos (ver Tabla 7).</li> <li>- Elaboración de las galletas siguiendo el diagrama de flujo (Figura 3.).</li> <li>- Evaluación sensorial: Aceptación general de la galleta (Watts et al., 1992). Practicado a 105 panelistas no utilizados utilizando el Formato 1.</li> <li>- Evaluación de los resultados de la aceptabilidad general de las galletas mediante la prueba de Durbin y comparación múltiples.</li> </ul>
III	Optimización de la fórmula de la galleta enriquecida	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aplicación de la Metodología de Superficie de Respuesta para obtener la formulación optimizada de la galleta.</li> <li>- Evaluación sensorial de la aceptación general de la galleta optimizada.</li> <li>- Prueba t contraste.</li> </ul>

Cuadro 1. Diseño de la investigación

- **Recepción de la anchoveta**

La anchoveta fue adquirida del terminal pesquero de villa maría del triunfo y transportada en cajas térmicas, en las que se encontraban las unidades separadas por hielo en escamas, hacia el laboratorio de Tecnología de los alimentos de la Facultad de Oceanografía, Pesquería y Ciencias Alimentarias de la Universidad Federico Villarreal.

- **Selección y Clasificación**

Las unidades se colocaron sobre mesas de acero inoxidable en las que se

seleccionaron aquellas unidades que mostraban un estado fresco (por medio de la evaluación física organoléptica (CAC/GL31-1999). Además se realizó la evaluación de peso, talla y se verificó que la temperatura no superara los 4°C así como que el pH estuviera en un valor de 6.

- **Descamado y Eviscerado:**

Con un cuchillo se procedió a retirar la pocas escamas adheridas a la piel de la anchoveta para luego hacer un corte transversal y extraer las vísceras, las mismas que fueron desechadas.

- **Lavado**

Se procedió a lavar con agua helada (1°C) con la finalidad de eliminar la sangre (sanguaza) y restos de escamas.

- **Triturado Y Homogenizado**

Las unidades se trituraron utilizando un molino de carne, la mezcla se colocó en una licuadora semi industrial, en la que se completó la homogenización.

- **Cocción**

La mezcla homogenizada se colocó en una olla para proceder a la cocción que se llevó a cabo a 75 °C por espacio de 20 minutos, con la finalidad de inactivar enzimas endógenas.

- **Digestión**

La mezcla anterior fue transportada a la bandeja de acero inoxidable en la que se adicionó agua (relación agua: sustrato 1:1) y se agregó la Proteasa activa (DELVOLASE) al 1,7 por ciento, luego se llevó a una estufa a temperatura controlada de 60° C por espacio de 1 hora.

- **Filtrado**

Transcurrido el tiempo se procedió a separar la parte sólida de la líquida, para ello se utilizó un tamiz cilíndrico de acero inoxidable (Tyler # 20).

- **Inactivación Enzimática**

La parte líquida (hidrolizado), se sometió a un tratamiento térmico de inactivación enzimática a la temperatura de 90°C por 15 minutos, con la finalidad de inactivar a la enzima.

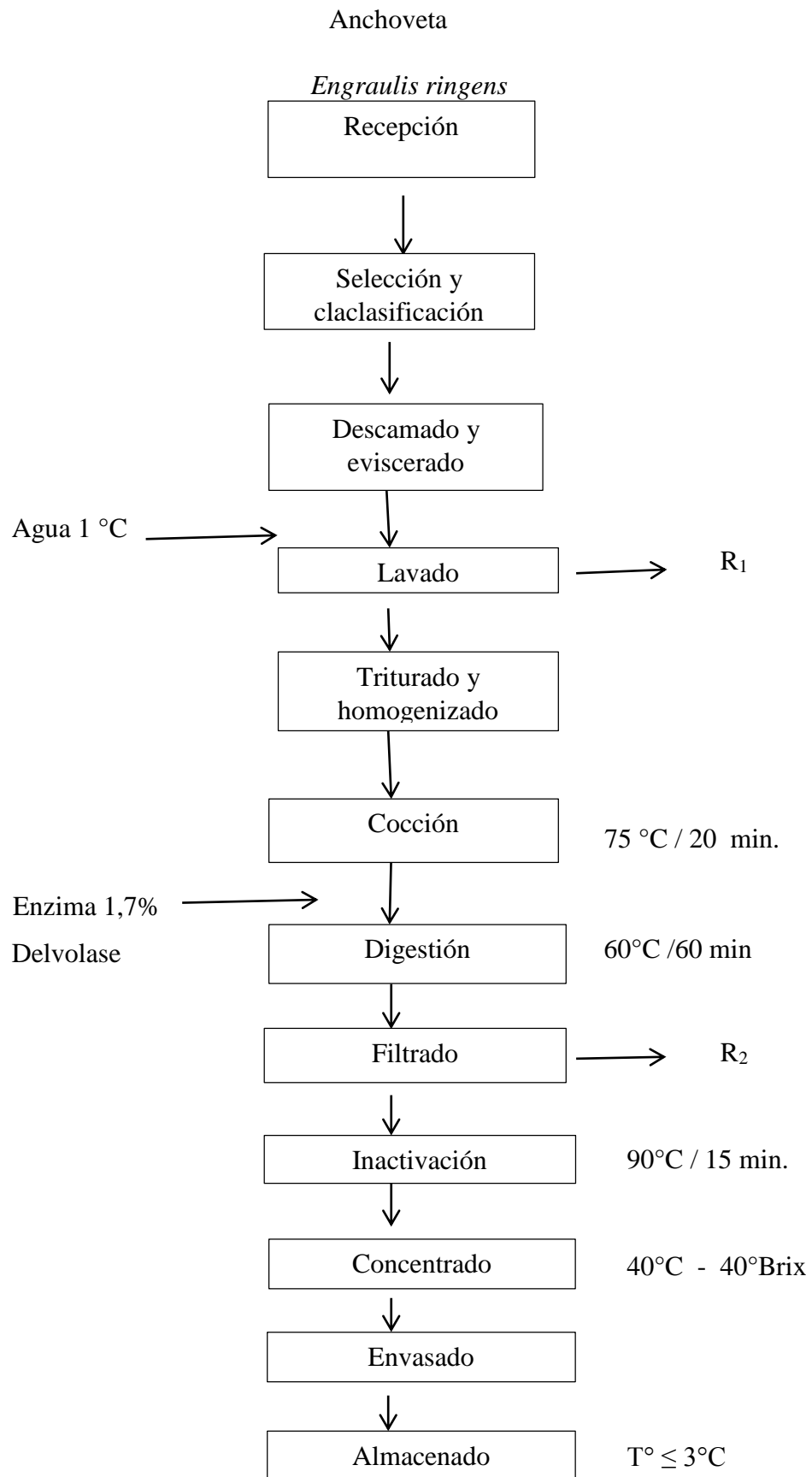


Figura 1. Diagrama de flujo para la obtención del hidrolizado de Anchoveta

- **Concentrado**

Luego se procedió a concentrar en baño maría a la temperatura de 40 °C hasta que la fracción soluble alcanzó 40 sólidos solubles.

- **Envasado**

El hidrolizado que se obtuvo se envasó en botellas de vidrio con tapa rosca, oscuras y de capacidad de 1L.

- **Almacenado**

Se almacenó a temperatura de  $\leq 3^{\circ}\text{C}$  hasta su uso y caracterización.

### 3.4.2. ELABORACIÓN DE LAS GALLETAS CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA

Para la formulación del producto se tomó en cuenta la formulación base para galletas dulces, dada por la American Association of Cereal Chemist (A.A.C.C., 1997), como se muestra en el Cuadro 2.

**Cuadro 2. Formulación base para la obtención de Galletas Dulces**

<b>Ingredientes</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Harina de trigo	47
Manteca	13
Azúcar	27
Agua	6,4
Leche en polvo	5,4
Bicarbonato de sodio	0,5
Sal	0,4
Esencia de naranja	0,3

FUENTE: a.a.c.c (1997).

Con el fin de obtener la galleta en estudio se tomó como requisitos físico - químicos los establecidos por el (PRONAA, 2009) para galletas enriquecidas y /o fortificadas, las que comprenden y se presentan en el Cuadro 3.

Así mismo se tuvo en cuenta también los requisitos físicos químicos para las galletas establecidos por el Decreto Supremo 034-2008 (MINSA\_2008) (Cuadros 4 y 5) y los criterios microbiológicos establecidos por el PRONAA (2009) que concuerdan con los establecidos por el MINSA (2008)

**Cuadro 3. Requisitos Físicoquímicos para la formulación de una galleta Enriquecida.**

<b>Características</b>	<b>Requisitos</b>
Peso de la ración	70 g
Energía por ración, mínimo	300 Kcal
Proteína, mínimo	7 % de la energía total
Grasa, mínimo	25 -35 % de la energía total
Carbohidratos	La diferencia
Humedad, máximo	6 %
Acidez, máximo	0,40 % expresado en ácido sulfúrico
Hierro, mínimo	5 mg
Índice de peróxido, máximo	5meq/kg

FUENTE: PRONAA (2009).

**Cuadro 4. Requisitos físico químicos para galletas**

<b>Parámetro</b>	<b>Límite máximo permisible</b>
Humedad	12 %
Cenizas totales	3%
Índice de Peróxido	5mg/kg
Acidez (expresado en ácido láctico)	0,10%

FUENTE: MINSA (2008).

Por otro lado con respecto a la sustitución de la fuente de proteína animal (leche en polvo) de la formulación base por hidrolizado de Anchoveta (*Engraulis ringens*) y cumplir con los requisitos establecidos por el PRONAA (2009) se evaluaron niveles de sustitución del 80, 90 y 100 por ciento, cuyas formulaciones elaboradas se presentan en el Cuadro 6.

**Cuadro 5. Criterios microbiológicos para galletas**

Agente microbiano	Límite por g			
	N	C	M	M
Mohos UFC/g	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Número de aerobios mesófilos UFC/g	5	1	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Coliformes NMP/g	5	1	10	10 <sup>2</sup>

FUENTE: PRONAA (2009) y MINSA (2008).

**Cuadro 6. Formulación de galletas enriquecidas con hidrolizado de Anchoveta (*Engraulis ringens*).**

Ingredientes	Fórmula 1 %	Fórmula 2 %	Fórmula 3 %
Harina de trigo	47,0	47,0	47,0
Manteca	13,0	13,0	13,0
Azúcar	27,0	27,0	27,0
Agua	0,63	0,63	0,63
Leche en polvo	1,08	0,54	0
Hidrolizado de Anchoveta	10,09	10,63	11,7
Bicarbonato de sodio	0,5	0,5	0,5
Sal	0,4	0,4	0,4
Esencia de Naranja	0,3	0,3	0,3

### **3.4.2.1 METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LA GALLETA ENRIQUECIDA**

El procedimiento que se siguió en la elaboración de las formulaciones de las galletas enriquecidas se presenta en la Figura 2, el mismo que se detalla a continuación:

- **Recepción de Ingredientes**

Los ingredientes se recibieron en la panadería de la FOPCA-UNFV, las cuales fueron de marcas reconocidas.

- **Pesado de Ingredientes**

Utilizando la balanza analítica marca OHAUS  $\pm 1$ mg, se procedió a dosificar la harina, aditivos e hidrolizado de acuerdo a la formulación (Cuadro 6.).

- **Cremado**

En la batidora - amasadora se incorporó el azúcar y la manteca, hasta que los gránulos de azúcar desaparecieron por completo, luego se adicionó el bicarbonato de sodio.

- **Mezclado 1**

A la mezcla anterior se le incorporó la leche y el hidrolizado de Anchoveta, harina y sal y se procedió a batir en velocidad 1 por espacio de 5 minutos.

- **Mezclado 2**

Consistió en mezclar por 4 minutos en velocidad 1 y en velocidad 2 por 5 minutos, en esta etapa se adicionó la esencia de naranja. Se dejó reposar la masa por unos 5 minutos en la batidora



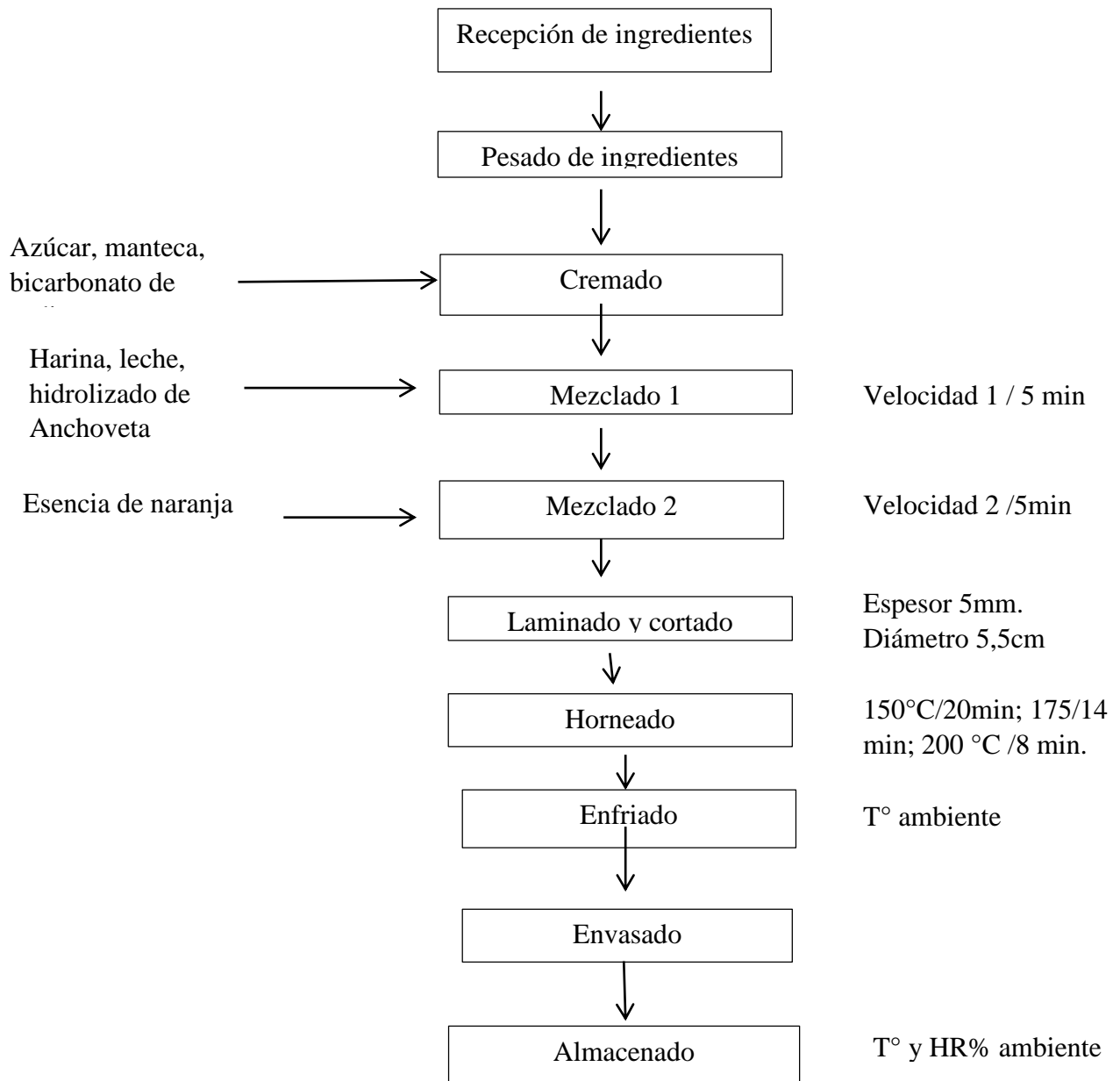
- **Laminado y cortado**

De la masa reposada se tomaron pequeñas porciones y se hicieron bollos. Posteriormente se estiró la masa sobre la mesa de amasado (espesor de 5mm.) y se cortaron círculos de 5,5 cm de diámetro aproximadamente.

- **Horneado**

Cada una de las formulaciones de galletas enriquecidas fueron sometidas a tres tratamientos térmicos a las condiciones de:

$T_1 = 200\text{ °C} \times 8\text{ minutos}$ ,  $T_2 = 175\text{ °C} \times 14\text{ minutos}$  y  $T_3 = 150\text{ °C} \times 20\text{ minutos}$ . Por lo que se obtuvieron un total de nueve muestras de galletas.



**Figura 2. Diagrama de flujo para la obtención de la galleta enriquecida con hidrolizado de Anchoveta**

- **Enfriado**

Las galletas horneadas se dejaron enfriar, en la misma bandeja, a temperatura ambiente.

- **Envasado**

Las galletas obtenidas se colocaron en envases de polipropileno biorientado (BOPP), con un peso neto de 70g (Cuatro unidades por paquete), las bolsas se sellaron utilizando la selladora semi automática, ARST.

- **Almacenado**

Los paquetes de galletas fueron almacenados en un ambiente seco y protegidos de la luz, en anaqueles del laboratorio de Tecnología y Biotecnología de alimentos hasta que fueron utilizadas en las pruebas sensoriales.

### **3.4.3. OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN**

Con el fin de optimizar la sustitución de leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta así como la temperatura y tiempo de horneado para la obtención de la galleta enriquecida, se utilizó un diseño Box-Behnken a través de la Metodología de Superficie de Respuesta con el fin de maximizar la aceptabilidad general de la galleta. Se consideró tres niveles en cada factor, los niveles mínimos y máximos propuestos en la formulación, así como sus valores intermedios, como se indica en el Cuadro 7. A partir de la combinación de factores y de acuerdo al Diseño Box – Behnken se obtuvo 15 tratamientos los cuales fueron desarrollados en forma aleatorizada, pero que se han ordenado para su presentación en el Cuadro 8.

**Cuadro 7. Variables independientes, códigos y valores que se utilizaron en la optimización**

VARIABLE INDEPENDIENTE	UNIDADES	SIMBOLO	CÓDIGO DE NIVELES		
			-1	0	1
Sustitución de leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta	%	X <sub>1</sub>	80	90	100
Temperatura de horneado	°C	X <sub>2</sub>	150	175	200
Tiempo de horneado	Minutos	X <sub>3</sub>	8	14	20

**Cuadro 8. Tratamientos ordenados a elaborar y evaluar obtenidos mediante el Diseño Box-Behnken**

Tratamiento	Hidrolizado %	Temperatura de horneado ° C	Tiempo de horneado minutos	Variable Respuesta Aceptabilidad
T1	-1 (80)	-1 (150)	0 (14)	
T2	-1 (80)	0 (175)	-1 (8)	
T3	-1 (80)	0 (175)	1 (20)	
T4	-1 (80)	1 (200)	0 (14)	
T5	0 (90)	-1 (150)	-1 (8)	
T6	0 (90)	-1 (150)	1 (20)	
T7	0 (90)	0 (175)	0(14)	
T8	0 (90)	0 (175)	0(14)	
T9	0(90)	0 (175)	0 (14)	
T10	0 (90)	1 (200)	-1 (8)	
T11	0 (90)	1(200)	1(20)	
T12	1 (100)	-1 (150)	0(14)	
T13	1 (100)	0(175)	-1(8)	
T14	1 (100)	0(175)	1 (20)	
T15	1 (100)	1(200)	0(14)	

#### **3.4.4. POBLACIÓN Y MUESTRA**

Las muestras fueron las galletas elaboradas en las que se sustituyó la leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta, las que se envasaron en bolsas de polipropileno biorientado (BOPP), con un peso de 70g (cuatro unidades por paquete).

Dichas galletas fueron presentadas a una población de ciento cinco niños, con lo que determinamos el grado de aceptabilidad general, de acuerdo a la metodología descrita en el 3.3.5 .

#### **3.4.5. INSTRUMENTOS DE COLECTA DE DATOS**

Se utilizó la metodología de superficie de respuesta con el fin optimizar las variables porcentaje de hidrolizado de Anchoveta, temperatura de horneado y tiempo de horneado para que la aceptabilidad general por parte de los consumidores sea la máxima.

Utilizando un software estadístico *Statgraphics Plus 5.1* se procedió a ajustar la variable de aceptación del producto en función de las variables independientes.

Y : Variable dependiente (Aceptabilidad general).

X<sub>1</sub>: Variable Independiente: Sustitución de leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta (porcentaje).

X<sub>2</sub>: Variable Independiente: Temperatura de horneado (°C).

X<sub>3</sub>: Variable Independiente: Tiempo de horneado (minutos).

#### **3.4.6. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE DATOS**

Con el Programa *Statgraphics Plus 5.1* se evaluó las respuestas sensoriales a través del análisis de Varianza (ANVA), se obtuvo la gráficas de efectos principales de los coeficientes y se propuso una ecuación que correlaciona las variables. Asimismo, se obtuvo

la gráfica de la superficie de respuesta de las interacciones bidimensionales de las variables, mostrando el punto en que se halla la respuesta óptima. Finalmente se realizaron cálculos para establecer cuáles son los valores de las variables de la máxima respuesta, permitiendo optimizar el proceso en su conjunto.

#### **3.4.7. DETERMINACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD GENERAL DE LA GALLETA OPTIMIZADA**

La galleta optimizada fue sometida a un análisis sensorial con 105 panelistas para determinar su aceptabilidad general.

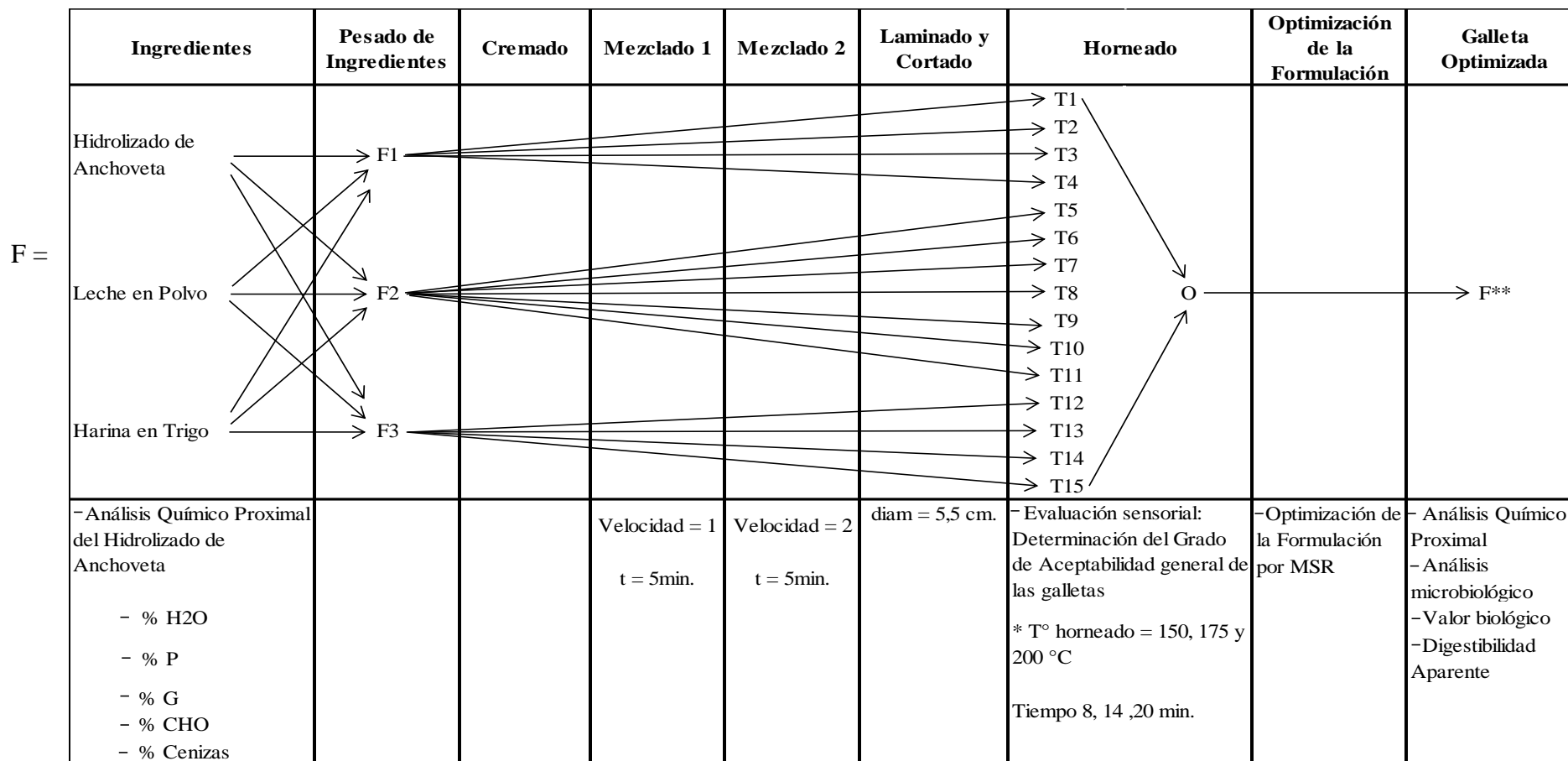
#### **3.4.8. CARACTERIZACIÓN FÍSICO QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA GALLETA OPTIMIZADA**

A la formulación óptima se le hicieron los análisis Físicoquímicos, evaluación biológica y microbiológica (descritos en los puntos 3.3.2, 3.3.3 y 3.3.4, respectivamente).

### 3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la Figura 3 se presenta el Diseño experimental seguido en la investigación:

Figura 3. Diseño experimental para la Optimización de la formulación de una galleta enriquecida con hidrolizado de Anchoveta aplicando Metodología de superficie de respuesta.



Formulaciones propuestas :T = Tratamientos obtenidos por diseño Box Behnken,F \*\* = Formulación Optimizada de la galleta,\*T° horneado = 150° C, 175 °200°C., t horneado = 8 min., 14 min., 20min.

## **IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. ANÁLISIS BIOMÉTRICO Y FÍSICO ORGANOLÉPTICO DE LA ANCHOVETA UTILIZADA PARA LA OBTENCIÓN DEL HIDROLIZADO**

La anchoveta utilizada en la presente investigación tuvo un peso promedio de 22,0 g, una longitud promedio total de  $13,0 \pm 0,5$  cm, con calificación sensorial aceptable y un pH de 6,0. Valores esperados para esta especie de acuerdo a lo reportado por el ITP (1996) y Pandia (2013).

### **4.2. CARACTERIZACIÓN DEL HIDROLIZADO**

El hidrolizado se obtuvo mediante el método de Windsor y Barlow (1984) para lo cual se empleó una proteasa alcalina; Delvolase, ya que las endopeptidasas son las proteasas más utilizadas en la industria alimentaria debido a la hidrólisis extensiva que producen (Benítez, 2008).

La elección adecuada de la proteasa para una hidrólisis en particular requiere de una investigación sistemática, donde deben ser estudiadas las condiciones óptimas de acción de la proteasa sobre el sustrato. Por ejemplo, el tejido muscular del pescado se caracteriza por ser rico en compuestos nitrogenados, reflejado en un pH *post mortem* mayor de 5.5 (Frazier y Westhoff, 1993), provocado por la transformación del glucógeno muscular en ácido láctico. Por lo tanto, sería deseable llevar la hidrólisis sin ajustes drásticos de pH, esto se logra con proteasas cuya actividad proteolítica se dé en condiciones neutras ligeramente alcalinas, característica que cumplió la Proteasa empleada en la presente investigación.



Antes de llevar a cabo la hidrólisis se realizó la cocción de la Anchoveta a 75°C por espacio de 20 minutos a fin de tener un control total de la reacción enzimática.

Los parámetros que se emplearon fueron: relación agua: sustrato de 1:1, la concentración de la enzima fue de 1,7 por ciento, el proceso se llevó a una temperatura constante de 60°C por espacio de 60 minutos. Durante el proceso se controló el pH manteniéndose en 6. Luego la enzima se inactivó a temperatura de 90 °C por un espacio de 15 minutos. Cabe mencionar que investigaciones similares como la de Pandia (2013), recomiendan la misma relación agua sustrato, pero una mayor concentración de enzima (2 por ciento) siendo la temperatura en el proceso, inferior, 53 °C, pero empleando el mismo tiempo 60 minutos.

Benítez (2008) señala la importancia de encontrar la relación óptima enzima: sustrato, así como definir el pH y temperatura, pues dichos parámetros determinan el grado de hidrólisis, el cual en muchos casos define el uso que se le puede dar.

En la investigación, siguiendo el método de Bhaskar (2008), se determinó que el grado de hidrólisis (DH) fue del 10 por ciento mientras que el valor reportado por Pandia (2013), fue del 16 por ciento, debido al uso de una concentración superior de enzima de 2 por ciento y un tiempo de 60 minutos.

El hidrolizado de Anchoveta fue concentrado por evaporación en baño maría hasta obtener 40 por ciento de sólidos solubles. Cabe mencionar que el hidrolizado obtenido fue concentrado mas no deshidratado, con la finalidad de abaratar costos y además éste sustituyó al agua en la elaboración de la galleta.

Las características sensoriales del hidrolizado de Anchoveta que se obtuvo en la presente investigación fue: Consistencia: líquido – viscosa, de color beige, olor ligeramente marino y sabor neutro.

En el Cuadro 9, se puede apreciar una comparación entre la composición proximal del hidrolizado de anchoveta obtenido en la investigación y el reportado por Pandia (2013).

**Cuadro 9. Análisis químico proximal de los hidrolizados de anchoveta obtenidos en la investigación y el reportado por Pandia (2013)**

Componente	Hidrolizado de Anchoveta obtenido en la investigación	Hidrolizado de Anchoveta obtenido por Pandia (2013)
Humedad (g /100 g)	53,54	5,30
Proteína (N X6,25) (g/100 g)	35,32	45,15
Grasa (g/100 g)	5,85	2,97
Cenizas (g/100 g)	2,93	6,75
Carbohidratos (g/100 g)	2,56	39,83 (Maltodextrina)
Energía total (Kcal/ 100 g)	204,17	367,21

El sólo concentrar al hidrolizado de Anchoveta y no necesariamente atomizarlo resultó ser también una buena opción para incorporarlo en la formulación de productos alimenticios (objetivo de la presente investigación) ya que a pesar del alto contenido de humedad que éste presentó, el valor de la proteína y grasa siguieron siendo significativos y útiles para su incorporación en la elaboración de alimentos.

En cuanto al contenido de carbohidratos el hidrolizado de Pandia (2013) presenta un valor mayor por la presencia de la maltodextrina.

#### **4.3. OBTENCIÓN DE LAS FORMULACIONES DE GALLETAS ENRIQUECIDAS CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA**

La fórmula base de la galleta incluyó un porcentaje de sustitución de leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta (80, 90 y 100 por ciento), temperatura de horneado (150, 175 y 200°C) y tiempo de horneado (8, 14 y 20 minutos). De acuerdo a la formulación propuesta en el Cuadro 6, formulación para galletas tipo dulce que fueron el motivo de la presente investigación.

Con el fin de optimizar el porcentaje de hidrolizado, temperatura y tiempo de horneado en la elaboración de la galleta a través de la Metodología de Superficie de Respuesta que maximicen la aceptabilidad de la galleta, se utilizó el diseño Box Behnken con tres factores ( $K=3$ ) y tres niveles, codificados como  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$ . Las 15 formulaciones de galletas con los diferentes porcentajes de hidrolizado de anchoveta y las distintas temperaturas y tiempo de horneado galletas fueron elaboradas según lo descrito en la Figura 2.

#### **4.4. EFECTO DEL PORCENTAJE DE HIDROLIZADO DE ANCHOVETA, TEMPERATURA Y TIEMPO DE HORNEADO EN LA ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE LA GALLETA FORMULADA**

La evaluación sensorial se llevó a cabo con niños de edad entre 9 y 13 años que consumen tradicionalmente galletas y que residen en diferentes distritos de Lima, tal como lo recomienda Costell y Duran (1981a).

Los panelistas organizados en 5 grupos de 20 participantes evaluaron 3 muestras de las 15 según el diseño de bloques incompletos balanceado aplicado, de acuerdo a la distribución presentada en el Anexo 5.

En el Anexo 6 se presenta los resultado de la prueba de aceptabilidad general de las galletas con hidrolizado de Anchoveta (puntaje otorgado en forma individual por los consumidores).

En el Cuadro 10 se muestra los resultados de la aceptabilidad de la prueba del grado de satisfacción de las galletas con hidrolizado de Anchoveta que fueron evaluadas.

Los resultados de aceptabilidad general fueron evaluados estadísticamente a través de la prueba no paramétrica de Durbin y la prueba de comparaciones múltiples (Meilgaard *et al.*, 1991). En el Cuadro 11 se muestra los tratamientos en los que no hubo diferencias significativas.

**Cuadro 10. Resultados de Aceptabilidad general para las quince formulaciones de galletas con hidrolizado de Anchoveta.**

<b>Tratamientos</b>	<b>Aceptabilidad Suma Total</b>	<b>Aceptabilidad en Promedio</b>
1	44	2,00
2	54	2,60
3	55	2,61
4	75	3,60
5	83	3,95
6	88	4,19
7	125	5,95
8	126	6,00
9	127	6,05
10	113	5,30
11	100	4,74
12	91	4,30
13	96	4,60
14	86	4,10
15	81	3,90

El valor de la suma total y el promedio de la aceptabilidad del tratamiento 9 (90 por ciento de hidrolizado de pescado, 175 °C y 14 min) es superior (127 y 6,05 respectivamente) que de todos los demás, por lo que se considera como el de mayor aceptabilidad; la aceptabilidad de los tratamientos T7, T8 y T9 se consideran estadísticamente iguales (Ver Cuadro 11) y dichos tratamientos presentan la misma formulación.

**Cuadro 11. Resultados de las Pruebas de Durbin y Comparaciones Múltiples ( $\alpha = 0,05$ )**

Tratamientos	15
Muestras por bloque	3
Bloques	105
Repeticiones por muestras	21
Estadístico de Durbin	148,07
Estadístico de Comparación	6,58
Tratamientos en los que no hubo diferencia significativa	T2 y T3 T4 y T15 T5 y T6, T5 y T14, T5 y T15 T6 y T12, T6 y T14 T7 y T8; T7 y T9 T8 y T9 T11 y T13 T12 y T13; T12 y T14 T14 y T15

#### **4.5. OPTIMIZACIÓN DE LA FÓRMULA DE GALLETA ENRIQUECIDA MEDIANTE METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA**

Meilgaard *et al.* (1991) indican que la optimización de un producto consiste en manipular unas cuantas variables de los ingredientes para mejorar los atributos deseados e intensificar la aceptabilidad del consumidor. El objetivo fue optimizar la fórmula de la elaboración de la galleta (porcentaje de sustitución de hidrolizado, temperatura y tiempo de horneado) a través de la metodología de superficie de respuesta que genere la mayor aceptabilidad general promedio.

Aplicando el Programa Statgraphics Plus 5.1 y por diseño Box Behnken, se generó el resultado del análisis de varianza (ANOVA) del modelo, el mismo que se muestra en el Cuadro 12.

**Cuadro 12. Análisis de Varianza de la Optimización de la Formulación de la galleta enriquecida con hidrolizado de Anchoveta mediante Metodología de Superficie de Respuesta**

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón F	Valor - P	
Modelo	21,421133	9	2,3801259	48,494823	0.0002	significativo
A: % de Hidrolizado	4,5	1	4,5	91,687042	0.0002	
B: Temperatura	1,125	1	1,125	22,92176	0.0049	
C: Tiempo	0,08	1	0,08	1,6299919	0.2578	
AB	0,9409	1	0,9409	19,170742	0.0072	
AC	0,0676	1	0,0676	1,3773431	0.2934	
BC	0,1849	1	0,1849	3,7673187	0.1099	
A <sup>2</sup>	12,2304	1	12,2304	249,19315	< 0.0001	
B <sup>2</sup>	1,8876	1	1,8876	38,459658	0.0016	
C <sup>2</sup>	1,8876	1	1,8876	38,459658	0.0016	
Residual	0,2454	5	0,04908			
Sin ajuste	0,2404	3	0,0801333	32,053333	0.0304	significativo
Error total	0,005	2	0,0025			
Total (corr)	21,666533	14				

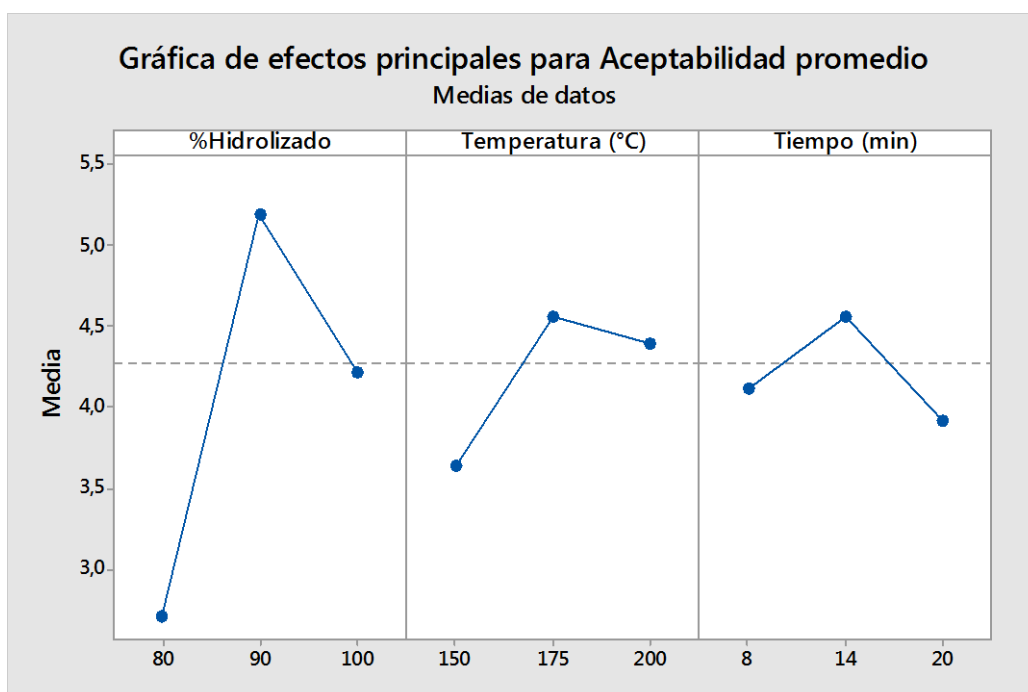
Del ANOVA se aprecia que el p del modelo (0.0002) resulta significativo al ser menor a (0,05), por lo que el proceso es bien explicado por un modelo cuadrático (Gutierrez y De la Vara, 2008). Así mismo los términos temperatura y porcentaje de hidrolizado, la interacción temperatura – porcentaje de hidrolizado así como los efectos cuadráticos de todos los factores resultaron significativos por tener un p valor menor que 5 por ciento.

El término tiempo no fue significativo pero su cuadrática sí, por lo que se entiende que el factor tiempo si es importante en la presente investigación.

A pesar de que la interacción tiempo- hidrolizado y tiempo-temperatura no resultaron significativas, el coeficiente de determinación ajustado ( $R^2_{aj}$ ) resultó 0,9683, cercano a 1.

Por otro lado se obtuvo también la gráfica de efectos principales para determinar la aceptabilidad promedio (Figura 4).

Figura 4. Gráfica de efectos principales para la aceptabilidad promedio.



De la Figura 4, se puede predecir que la mayor aceptabilidad de la galleta estaría influenciada por el porcentaje de hidrolizado en la misma, seguida de la temperatura y del tiempo. Además que esto se da a un nivel levemente superior al 90 por ciento de hidrolizado, pues luego decaería, en cuanto a la temperatura un tanto superior a los 175 °C y el tiempo, aunque con menor relevancia en el proceso sería de 14 minutos.

La Ecuación final no codificada, en términos de los factores actuales de la aceptabilidad general promedio, fue la siguiente:

$$\begin{aligned} \text{Aceptabilidad Promedio} = & -226,286111 + 3,72083333 * \text{hidrolizado} + 0,61006667 * \\ & \text{TEMPERATURA} + 0,98527778 * \text{tiempo} - 0,00194 * \text{hidrolizado} * \text{temperatura} - \\ & 0,00216667 * \text{hidrolizado} * \text{tiempo} - 0,00143333 * \text{temperatura} * \text{tiempo} - \\ & 0,0182 * \text{hidrolizado}^2 - 0,001144 * \text{Temperatura}^2 - 0,01986111 * \text{Tiempo}^2. \end{aligned}$$

En el Cuadro 13 se resume los resultados del modelo. Esta muestra que el modelo propuesto fue el adecuado, ya que en relación al valor de R<sup>2</sup> correspondiente a la aceptabilidad general de la galleta fue de 98,86 por ciento. Gutiérrez y De la Vara (2009) señalan que cuanto más cerca al 100 por ciento, los modelos propuestos se ajustan mejor a los datos reales. Por otra parte, cuanto menor sea el valor de R<sup>2</sup> menor importancia tienen las variables dependientes en el modelo al explicar el comportamiento de las variaciones.

El modelo es cuadrático presentado curvatura lo que indica que existe un óptimo entre los niveles de los factores escogidos: porcentaje de hidrolizado, tiempo y temperatura.

**Cuadro 13. Resumen del modelo.**

Desviación Estándar	0,22154006
Significancia	4,26666667
C.V.%	5,19234525
R – Cuadrado	0,98867378
Ajuste del R- Cuadrado	0,96828657
Predicción del R –Squared	0,82195352
Adecuación de la Precisión	22,9148958

En cuanto a la Ecuación codificada, ésta resultó siendo la siguiente:



Aceptabilidad general promedio  $6,11 = 0,75*A + 0,375*B - 0,1*C - 0,485*A*B - 0,13*A*C - 0,215*B*C - 1,82*A^2 - 0,715*B^2 - 0,715*C^2$

En el Cuadro 14 se muestra los resultados en función de los coeficientes codificados.

**Cuadro 14. Resultados en coeficientes codificados**

Factor	Coefficiente estimado	df	Error estandar	95% CI bajo	95% CI alto	VIF
Intercepto	6	1	0,1279062	5,6712066	6,3287934	
A-HIDROLIZADO	0,75	1	0,0783262	0,548656	0,951344	1
B-TEMPERATURA	0,375	1	0,0783262	0,173656	0,576344	1
C-TIEMPO	-0,1	1	0,0783262	-0,301344	0,101344	1
AB	-0,485	1	0,11077	-0,7697434	-0,2002566	1
AC	-0,13	1	0,11077	-0,4147434	0,1547434	1
BC	-0,215	1	0,11077	-0,4997434	0,0697434	1
A <sup>2</sup>	-1,82	1	0,1152931	-2,1163703	-1,5236297	1,0111111
B <sup>2</sup>	-0,715	1	0,1152931	-1,0113703	-0,4186297	1,0111111
C <sup>2</sup>	-0,715	1	0,1152931	-1,0113703	-0,4186297	1,0111111

Las Figuras 5, 6 y 7 a continuación representan las gráficas de superficie y contorno para las variables de porcentaje de hidrolizado, temperatura y tiempo de horneado.

En la Figura 5 se observa que tanto en la figura de superficie como en la de contorno, que manteniendo como factor constante la temperatura (175 °C) se obtendría la máxima aceptabilidad a un valor de hidrolizado de 91 por ciento y tiempo de casi 14 min.

En la Figura 6 se observa que tanto en la figura de superficie como en la de contorno, que manteniendo como factor constante el tiempo (14min) se obtendría la máxima aceptabilidad a un nivel de hidrolizado de 91 por ciento y temperatura de alrededor de 180°C.

En la Figura 7, manteniendo constante el factor porcentaje de hidrolizado 90, se observa que la máxima aceptabilidad se daría a una temperatura cercana a 178 °C y un tiempo cercano a 14 minutos.

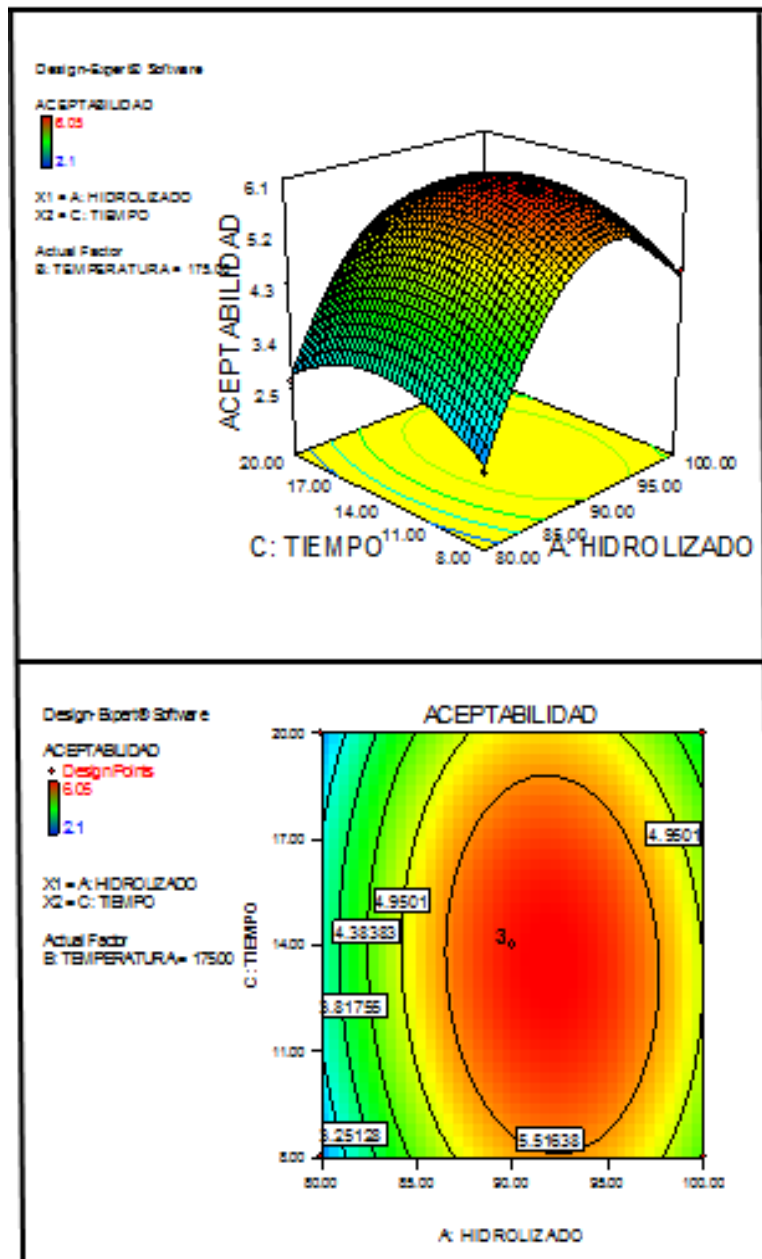


Figura. 5 Gráficas de superficie y de contorno para las variables porcentaje de hidrolizado de Anchoveta y tiempo de horneado

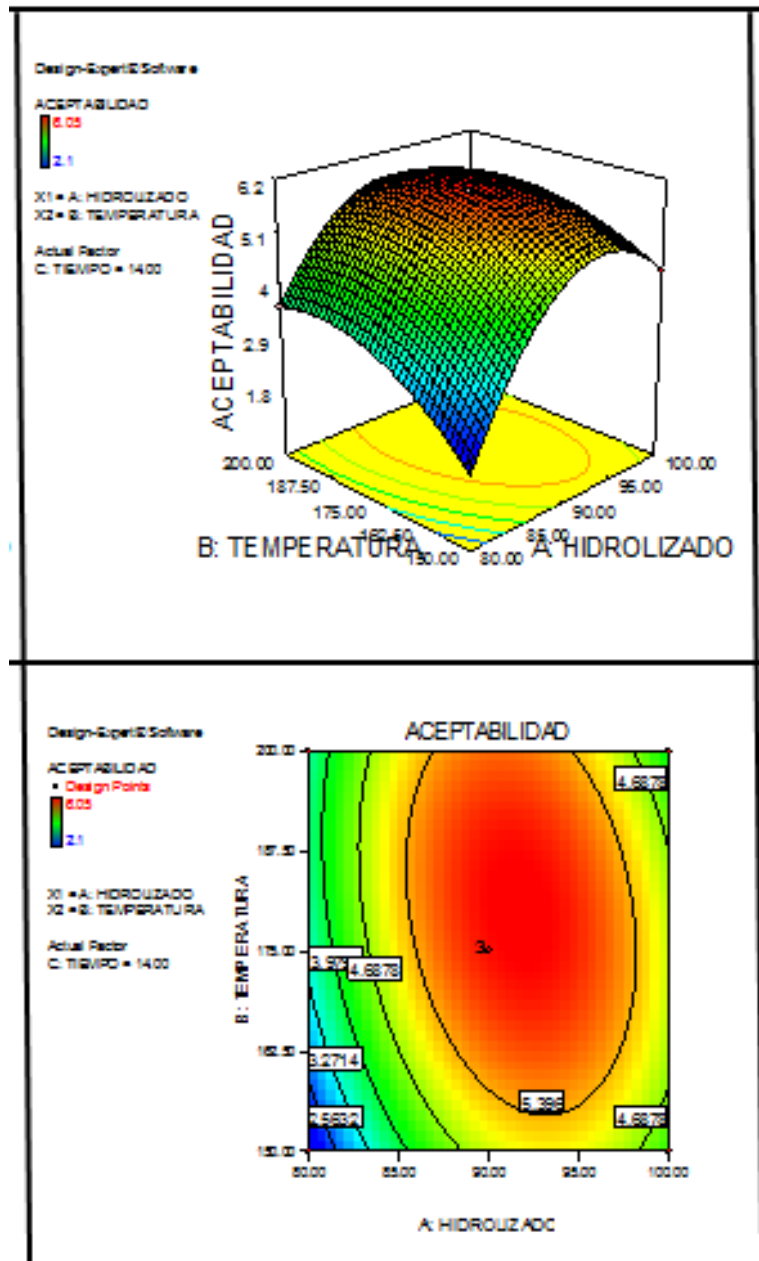


Figura. 6 Gráfica de superficie y de contorno para las variables porcentaje de hidrolizado de Anchoveta y temperatura de horneado

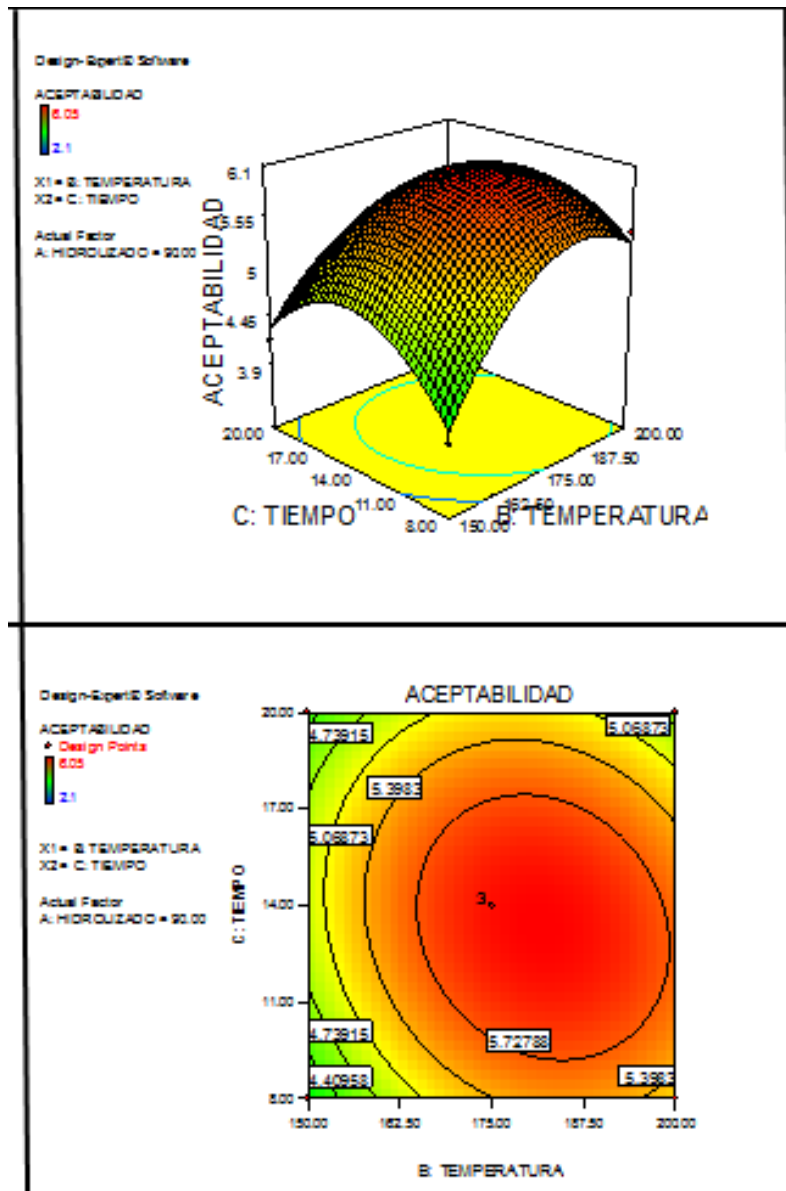


Figura 7. Gráfica de superficie y contorno para las variables temperatura y tiempo de horneado.

#### **4.6.OPTIMIZACIÓN DE LA FORMULACIÓN DE LA GALLETA CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA**

La Figura 8 muestra la gráfica de superficie y de contorno que identifica el punto óptimo de la aceptación general de la galleta. En ella se observa que las variables que maximizan la aceptabilidad fueron porcentaje de hidrolizado de Anchoveta de (91,6) a una temperatura y tiempo de horneado de 179,98 °C y 13,12 minutos, respectivamente.

En el Cuadro 15 se muestra los resultados de la optimización de niveles de los factores que maximizan el porcentaje de aceptabilidad general de las galletas formuladas.

**Cuadro15. Respuesta optimizada de las variables para obtener la máxima aceptabilidad**

<b>Variables (Factores)</b>	<b>Límite Bajo</b>	<b>Límite Alto</b>	<b>Combinación Óptima</b>	<b>Combinación óptima ejecutada</b>
% de sustitución de LP por hidrolizado de Anchoveta	80	100	91,6	92
Temperatura de horneado (°C)	150	200	179,98	180
Tiempo de horneado(min)	8	14	13,12	13

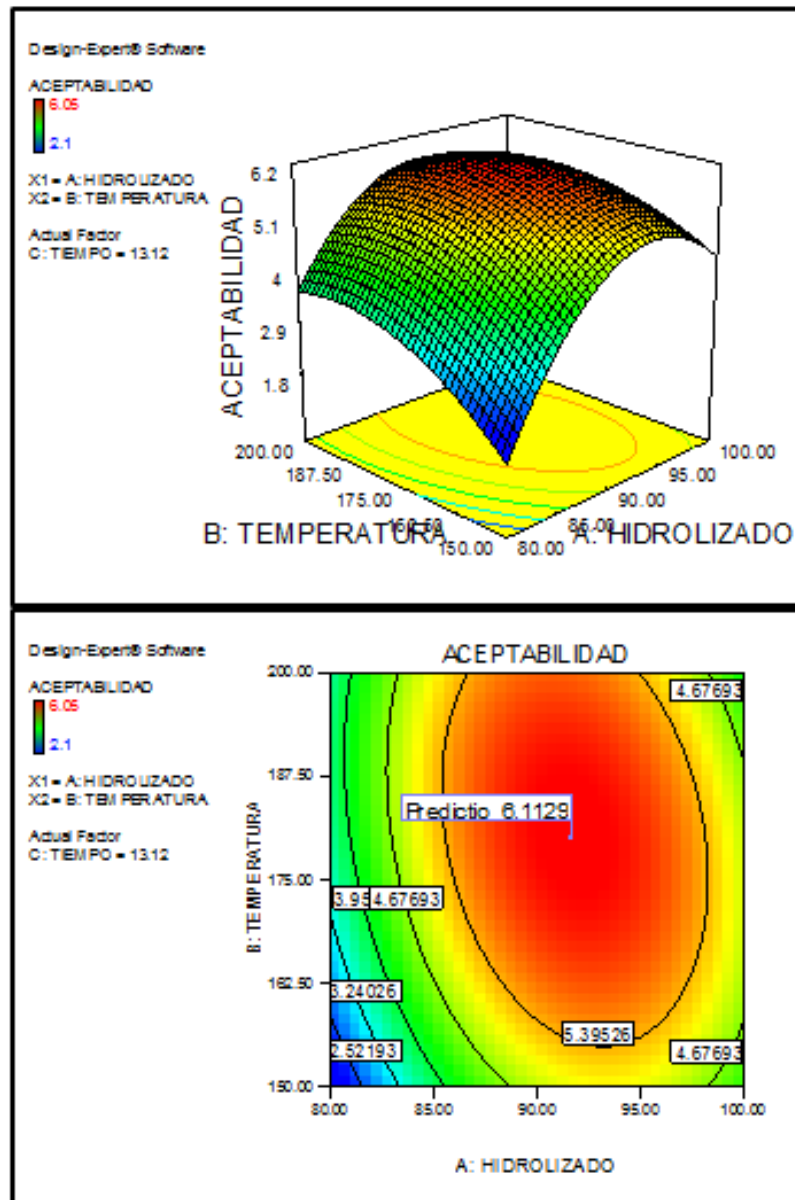


Figura 8. Gráfica de superficie y contorno que muestra el punto óptimo de aceptabilidad.

#### 4.7.EVALUACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE LA GALLETA OPTIMIZADA

Se preparó la galleta de acuerdo a la fórmula optimizada resultado de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR), la misma que se ajustó a las condiciones reales de proceso, por lo que se trabajó con 92 por ciento de hidrolizado de Anchoveta y durante

su proceso de horneado se sometió a la temperatura de 180 °C y el tiempo de 13 minutos. De acuerdo a esta metodología la aceptabilidad general debió resultar de 6,11 Las galletas obtenidas se sometieron a la prueba de aceptabilidad general, con un panel de 105 consumidores obteniendo una aceptación de 6,12 (Anexo 7).

Al encontrar un valor ligeramente diferente al estimado por MSR se realizó la prueba estadística de t- Student (Anexo 8) pues ésta se utiliza para contrastar hipótesis sobre medias en poblaciones con distribución normal. Asimismo proporciona resultados aproximados para los contrastes de medias en muestras suficientemente grandes cuando estas poblaciones no se distribuyen normalmente (aunque en este último caso es preferible realizar una prueba no paramétrica) (Spiegel & Stephens, 2009).

Los resultados de la prueba t muestran que el óptimo práctico no presenta diferencias significativas del óptimo teórico, encontrándose dentro del Intervalo de confianza (IC) de 95 por ciento.

#### **4.8.COMPOSICIÓN QUÍMICO PROXIMAL DE LA GALLETA OPTIMIZADA POR MSR**

La galleta optimizada fue analizada mediante la metodología descrita en el punto 3.3.2 para obtener su composición proximal la que se detalla en el Cuadro 16.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede afirmar lo siguiente:

El PRONAA (2009) solicita que el peso por ración de la galleta sea de 70g la cual debe otorgar como mínimo 300 Kcal. La galleta obtenida en esta investigación cumplió con dicha exigencia ya que presentó 303,48 Kcal por la ración indicada.

**Cuadro 16. Composición proximal de la galleta optimizada mediante MSR**

<b>Componente</b>	<b>% base húmeda</b>	<b>%base seca</b>	<b>Kcal/100g</b>	<b>Kcal /70g (ración)</b>
Humedad	5,95			
Proteína total (N X6,25)	9,94	10,57	39,76	27,83
Grasa	13,06	13,88	117,54	82,28
Fibra cruda	0,14	0,15		
Ceniza	1,85	2,0		
Extracto libre de nitrógeno	69,06	73,40	276,24	193,36
Total	100	100	433,54	303,48

El valor de la humedad cumplió con el requerimiento dado por el MINSA (2008 y 2010) coincidiendo a su vez con la Norma 206-001 (INDECOPI, 1981) ya que el porcentaje de humedad de la galleta investigada fue de 5,95 por ciento no superando el valor máximo establecido por dichas instituciones que es de 12 por ciento.

El valor de la humedad encontrado en las galletas con hidrolizado de anchoveta también cumple con los requisitos establecidos por el PRONAA (2009) para galletas enriquecidas en el que establece como valor máximo de humedad un 6 por ciento.

Mejía (2009) afirma que el porcentaje de humedad de la galleta influye en las características sensoriales de la misma así como en su vida útil (Mejía, 2009).

El valor de humedad encontrado en la galleta en esta investigación ayudó a que no presentara problemas en su almacenamiento durante el período de la investigación.



En cuanto al contenido de proteínas ni la Norma 206-001 INDECOPI (1981) ni el MINSA (2008 y 2010) establecen el porcentaje mínimo de proteínas que debería tener una galleta. Sin embargo, la tabla de composición de alimentos industrializados del Perú (Bejarano *et al.*, 2002) reporta para galletas dulces, categoría a la que pertenece la galleta de esta investigación, un valor de proteínas del 7,9 por ciento, por lo que la galleta con hidrolizado de anchoveta presentó un 2,04 por ciento más de este macronutriente.

El PRONAA (2009) determina que la proteína mínima para una porción de 70 g de galleta sea del 7 por ciento de la energía total, es decir 21 Kcal o 5,25 g de proteína por ración. La galleta con hidrolizado de anchoveta, cumple con este requerimiento ya que aporta 27,83 Kcal provenientes de este nutriente o 6,95g de proteína por ración. Para la norma NMX-FV006 (Norma Oficial Mexicana, 1983) el contenido proteico mínimo de una galleta, debe ser de seis a ocho por ciento, comparándolo con este estándar la galleta de esta investigación también cumple con dicho parámetro.

Otros estudios como el de Delgado- Vidal (2013) que elaboró galletas con carne de barrilete mostraron valores proteicos entre 8 y 13 por ciento, se debe tener en cuenta que en dicha formulación se trabajó con el músculo del pescado y que el valor más alto de proteína correspondió al producto de menor aceptación sensorial.

Jiménez-Ramos & Gómez-Bravo (2005) obtuvieron un contenido proteico de 10,10 por ciento en galletas enriquecidas con un máximo de sustitución de 5 por ciento de harina de pescado, harina de trigo y soja.

Considerando estos dos estudios se puede afirmar que el contenido de proteínas de la galleta obtenida está dentro de los parámetros esperados para galletas enriquecidas con el adicional que en esta investigación la galleta contiene a la proteína en forma hidrolizada y por lo tanto será mejor aprovechada por el consumidor.

En cuanto al contenido graso se observa que tanto la Norma 206-001 INDECOPI (1981) y el MINSA (2008 y 2010) no reportan la exigencia de un valor mínimo de grasa para galletas enriquecidas. La tabla de composición de alimentos industrializados (Bejarano *et*

*al.*, 2002) considera un valor de 11,2 por ciento de grasa para galletas dulces, mientras que la Norma Mexicana NMX-FV006 (Norma Oficial Mexicana, 1983) establece un contenido de grasa entre 5 y 15 por ciento.

La galleta obtenida aporta por ración 9,14 g de grasa cumpliendo así con lo establecido por el requerimiento del PRONAA (2009). Presenta 13,06 por ciento de grasa, superando lo reportado por Bejarano *et al.*, (2002), encontrándose dentro del rango esperado por la Norma Mexicana NMX-F-006-1983, pero teniendo un valor en lípidos menor que los encontrados por Jiménez-Ramos & Gómez-Bravo (2005) y Delgado- Vidal (2013): 16,26 y 14,53 por ciento respectivamente.

Cabe resaltar que la galleta elaborada es una galleta laminada, por lo que su formulación es típicamente baja en grasa comparada con otro tipo de galletas como las hechas con moldes rotativos o depositadas y se diferencia de estas por que la masa se desarrolla durante el mezclado (Pascual, 2000).

La grasa que forma parte de la composición de la galleta obtenida no solo es la proveniente de la manteca vegetal que se empleó en la formulación sino también contiene la grasa procedente de la Anchoveta, pues como se mencionó en párrafos anteriores, la grasa no fue separada en su totalidad del hidrolizado obtenido.

El contenido de fibra es similar al reportado por la Tabla de Composición de alimentos industrializados (Bejarano *et al.*, 2002), era de esperarse un contenido no tan alto ya que a la formulación no se adicionó ningún ingrediente que pudiera aumentar dicho componente.

El contenido de cenizas fue de 1,85 cumpliendo con la norma 206.001 INDECOPI (1981) que establece un máximo del 3 por ciento y siendo un poco superior a lo reportado por Bejarano *et al.* (2002) que fue de 1,1.

El contenido de carbohidratos fue de 69,06 por ciento estando dentro de lo esperado para una galleta dulce y siendo la principal fuente de energía de este alimento como lo cita Manley (1989) aunque un poco inferior a lo reportado por el MINSA (2002).

#### **4.9.RESULTADOS DE ÍNDICE DE PERÓXIDO, ACIDEZ TITULABLE Y CONTENIDO DE HIERRO**

Los resultados se muestran en el Cuadro 17.

**Cuadro 17. Resultados de Índice de peróxido, acidez titulable y hierro.**

Índice de peróxidos (m eq /kg grasa)	0
Acidez titulable (g/100g. exp.ác.láctico)	0
Hierro en (mg/kg)	50,01

El contenido de hierro fue de 50.01 mg/kg, esto quiere decir que en cada 100g de galletas hay 5.01 mg; cumpliendo con lo mínimo establecido por el PRONAA (2009). Este valor es el doble del que presenta una galleta dulce comercial (2mg/100g) de acuerdo a los reportado por Bejarano *et al.* (2002).

En cuanto al Índice de peróxidos el MINSA (2010) establece que una galleta debe presentar como máximo 5meq/kg grasa, la galleta obtenida presentó un valor de 0,00. Igual sucedió con el valor de acidez titulable expresado en ácido láctico fue de 0,00 siendo lo máximo permitido 0,10 por ciento. Ambos valores se emplean como patrones referenciales de frescura y estabilidad del producto en anaquel (Delgado,2013).

#### **4.10.CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA GALLETA OPTIMIZADA POR MSR**

El análisis microbiológico de la galleta consistió en determinar el recuento de aerobios, mesófilos, coliformes y hongos. Dichos valores se muestran en el Cuadro 18.

De los resultados se desprende que la galleta optimizada cumple con los estándares de calidad establecidos por la IMCSF, por el MINSA (2008) y por el PRONAA (2009). Los valores encontrados se encuentran por debajo de los límites críticos; esto da constancia de su inocuidad y que es apta para el consumo.

**Cuadro 18. Resultados del análisis microbiológico de la galleta optimizada**

Aerobios mesófilos (ufc/g)	< 10ESt
Hongos: mohos numeración (ufc/g)	< 10ESt
Coliformes bacterias Numeración (NMP/g)	<3

#### **4.11.ACEPTABILIDAD GENERAL DE LA GALLETA OPTIMIZADA**

La galleta optimizada mediante MSR fue elaborada con los parámetros de hidrolizado de anchoveta 92 por ciento a una temperatura y tiempo de horneado de 180°C y 13 minutos, respectivamente, fue sometida a una prueba de aceptabilidad general por un panel de 105 consumidores los que dieron una aceptación de 6,12. El anexo 9 presenta el registro gráfico de la evaluación sensorial de la galleta optimizada.

Las Características sensoriales de la galleta optimizada fueron:

Sabor: A naranja - tenue sabor residual a pescado- agradable

Color: Marrón brillante.

Aroma: A naranja.

Textura: Crocante.

En el Anexo 10 se presenta el registro gráfico de las galletas elaboradas.

#### 4.12.RESULTADO DEL VALOR BIOLÓGICO Y DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA FORMULACIÓN OPTIMIZADA DE LA GALLETA CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA

El valor biológico y la digestibilidad aparente de la galleta optimizada fueron determinados en el Laboratorio de Evaluación Biológica de Alimentos de la Facultad de Zootecnia, Departamento Académico de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

Los resultados del seguimiento de las pruebas se pueden observar en el Anexo 11

Con los resultados obtenidos se calculó la digestibilidad aparente (Dap), así como el valor biológico (VB), los que se muestran a continuación:

$$Dap = \frac{(Ni - Nf)}{Ni} \times 100$$

Ni=Nitrógeno ingerido (g)

Nf=Nitrógeno fecal (g)

$$Dap = \frac{(0,59 - 0,12)}{0,59} \times 100$$

$$Dap = 79,66\%$$

El Valor biológico fue determinado con la siguiente fórmula

$$VB = \frac{NI - (NF + NU)}{NI - NF} \times 100$$

$$VB = \frac{0,59 - (0,12 + 0,24)}{0,59 - 0,12} \times 100$$

$$VB = 48,94 \%$$

De los resultados se puede apreciar que la Dap es alta, ya que demuestra que de 100 g de galleta prácticamente 80 g han sido digeridos a su paso por el tubo gastrointestinal. Jiménez (2000) encontró una digestibilidad de 81,85 por ciento para galletas elaboradas con harina de trigo, soja y enriquecida con 3 por ciento de harina de pescado, mientras que Dueñas (2002) reporta una Dap de 75 para pan francés enriquecido con 20 por ciento de surimi de machete; por lo que se puede afirmar que las galletas obtenidas tienen un buen valor de digestibilidad considerando que sólo en la formulación se reemplazó la leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta, no existiendo mayor fuente proteica de origen animal.

El valor biológico de la galleta optimizada fue de 48,94%, lo cual es un valor considerable ya que por ejemplo el INCAP (1999) reporta un valor biológico de alrededor del 80% para una galleta elaborada con 70 % de maíz y 30 % de soja, en el que la galleta presentó un nivel de proteína de 13 por ciento, indicando que el valor biológico está relacionado con el contenido proteico del alimento. Además las galletas son complemento de otras fuentes proteicas, por ejemplo en un desayuno acompañan a la leche o yogurt.

## V. CONCLUSIONES

El tratamiento que obtuvo la mayor aceptabilidad fue la galleta en la que se sustituyó el 90 por ciento de leche en polvo por hidrolizado de Anchoveta, en la que se empleó la temperatura de 175 °C y el tiempo de 14 minutos en el horneado.

La formulación óptima de la galleta que se obtuvo por la metodología de superficie de respuesta fue 92 por ciento de hidrolizado de Anchoveta y la temperatura y tiempo de 180 °C y 13 minutos respectivamente.

La aceptabilidad en la prueba del grado de satisfacción de la galleta optimizada (92 por ciento de hidrolizado de Anchoveta, 180 °C y 13 minutos de temperatura y tiempo de horneado) fue de 6,12 (me gusta bastante).

La composición química proximal de la galleta optimizada fue humedad 5,95 por ciento, proteína 9,94 por ciento, grasa 13,06 por ciento, ceniza 1,85 por ciento, fibra cruda 0,14 y carbohidratos 69,06 por ciento

La galleta cumplió con los requisitos físico químico y microbiológico establecidos en la Norma Sanitaria nacional vigente de Productos de Panificación, galletería y Pastelería.

La galleta optimizada presentó una digestibilidad aparente de 79,66 y un valor biológico de 48,94 por ciento.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- El hidrolizado obtenido podría deshidratarse por atomización para concentrar aún más sus nutrientes y poder emplearlo en la formulación de diversos productos tales como panes, sopas, compotas.
- Probar otros aromatizantes en la formulación de la galleta propuesta para mejorar la aceptabilidad de la misma.
- Emplear harinas de granos andinos junto con el hidrolizado de Anchoveta a fin de obtener diferentes productos enriquecidos.



## VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AACC (American Association of Cereal Chemist). (1997). Minnesota. USA. 697p.
2. ANZALDÚA-MORALES, A. (1994). La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 223 p.
3. AREDO V.; VELÁSQUEZ L.; OBANDO N (2014). El Método de Superficie de Respuesta y el Modelamiento Difuso en el desarrollo de una galleta con semillas de chía (Salvia Hispánica L.). Agroind Sci 1 (2014). Trujillo Perú.
4. AOAC (Association of Official Analytical Chemist). (2005). Official Methods Analysis.16th edition. Ed. Vol: 1-2.
5. BACA, M. (1991). Fish protein hydrolysates by enzymatic processing. Agro FoodIndustry Hi-Tech, May/Jun. 9-13. P
6. BEJARANO, E.; BRAVO, M.; HUAMÁN M. (2002). Tabla de Composición de alimentos industrializados. MINSA. Ed. INS. Lima. Perú.
7. BENAVENTE, G. (2003). Optimización del secado de choro usando el método de superficie de respuesta. Tesis Mg. Sc. Tecnología de alimentos. Lima. Perú. UNALM. 123p.
8. BENITEZ.; IBARZ, A.; PAGAN.; J. (2008). Hidrolizados de proteína: Procesos y aplicaciones. Acta Bioquím Clín Latinoam 2008; 42 (2): 227-36.
9. BHASKAR N, BENILA T, RADHA C, LALITHA RG. (2008). Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing

10. protein hydrolysate using a commercial protease. *BioresTechnol* 2008; 99(2): 335-43.
11. CABELLO A.; FIGUERA B.; RAMOS Y.; VILLEGAS L (1994). Inclusión de productos pesqueros en la dieta del venezolano. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. CIAPE-Sucre. Venezuela.
12. CALFA, A.; BOGGIONI, G.; SIERRA ALTA, C. (2000). Elaboración, análisis y aceptabilidad de galletas dulces para niños enriquecidas con surimi de sardinas *sardinops sagax* / Preparation, analysis and acceptability of sweet cookies for children enriched with sardine surimi *sardinops sagax*. *Rev. chil. nutr*; 27(1):71-9, abr. 2000. ilus, tab.
13. CANDELA, J. (1990). Estudio cinético del hidrolizado enzimático de merluza empleando la enzima proteolítica, Bromelina. Tesis Ing. Pesquero. Lima, Perú. UNFV. 130 p.
14. CARHUALLANQUIS, S. (2004). Evaluación nutricional de galletas dulces con sustitución parcial de harina de trigo por harina de lenteja. Tesis Mg.Sc. especialidad de Nutrición. Lima, Perú. UNALM. 100p.
15. CHAU, E. (2010). Optimización sensorial de una mezcla seca de polvo de cacao mediante la metodología de superficie de respuesta. Tesis Mg.Sc en Tecnología de alimentos. Lima, Perú. UNALM. 90p.
16. COSTELL, E.; DURÁN, L. (1981a). El Análisis Sensorial en el Control de Calidad de los Alimentos. II. Planteamiento y Planificación: Selección de Pruebas. *Revista Agroquímica y Tecnología de Alimentos*. Vol. 21. Núm. 2. España. 149 – 166p.
17. COSTELL, E.; DURÁN, L. (1981b). El análisis sensorial en el control de la calidad de los alimentos III. Planificación, selección de jueces y diseño estadístico. *Revista Agroquímica y Tecnología Alimentaria*. Vol. 21. N°2. España. 454-470p.

18. COSTELL, E.; DURÁN, L. (1982). El análisis sensorial en el control de la calidad de los alimentos IV. Realización y análisis de datos. Revista Agroquímica y Tecnología Alimentaria. Vol. 22. N°1. España. 1 – 21 p.
19. CROSS-, H.; MOEN, R.; STANFIELD, M. (1978). Training and testing of judges for sensory analysis of meat quality. Food Technology. Vol.32.N°7.48-54p.
20. DELGADO-VIDAL, F.; RAMÍREZ-RIVERA, E.; RODRÍGUEZ-MIRANDA, J. (2013). Elaboración de galletas enriquecidas con barrilete negro (*Euthynnus lineatus*): Caracterización química, instrumental y sensorial. Revista Universidad y Ciencia [en línea], 287-300. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=15429688007>.
21. DINIZ F & MARTIN A. (1997). Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein. Composition of the hydrolysates. International Journal of Food Sciences and Nutrition (48): 191-200.
22. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS MEXICANAS (1983). Norma mexicana NMX- F- 006. Alimentos. Galletas. Normas Mexicanas.
23. DUEÑAS, B. (2002). Estudio técnico del procesamiento de pan francés enriquecido con surimi de machete. Tesis Mg, Sc. Tecnología de alimentos. Lima, Perú. UNALM. 90p.
24. ELIAS, C.; SALVÁ, B.; MORALES, E. (2006). Optimización por aplicación Del Método de superficie de respuesta en productos Cárnicos. Editorial Agraria. Lima. Perú 103 p.
25. FERNÁNDEZ, A. (2001). Elaboración de un hidrolizado de residuos de pescado por fermentación en sustrato sólido con hongos filamentosos. Tesis Mg.Sc. Tecnología de alimentos. Lima, Perú. UNALM. 103p.
26. FRAZIER W.& WESTHOFF D. (1993). Contaminación, conservación y alteración del pescado y otros alimentos marinos. Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España, Ed. Acribia.

27. GAMBOA M. (2010). Utilización del método de superficie de respuesta para formular una base de banano (*Musa AAA*) para batidos. Rev. Venez. Cienc. Tecnol. Aliment. 1(1):081-094.
28. GONZÁLEZ, M.; FERRERO, B.; CABEZUDO, M. (2000). Optimización Del batido de vainilla mediante la metodología de superficie de respuesta. Alimentación, Equipos y Tecnología. Agosto. N° 06. 77-80p.
29. GOULDING, I. (1988). Pruebas de aceptabilidad de galletas elaboradas con pescados pelágicos. Boletín Científico y Técnico, 9(3). p. 14-24 INP (Ecuador).
30. GUATHIER, S.; VACHON, C. (1986). Enzymatic conditions of an in vitro method to study protein digestion. Journal of Food Science. USA. Vol.5. N°4. 960-963 p.
31. GUTIERREZ, H.; DE LA VARA, (2008). Análisis y diseño de experimentos. McGraw Hill. México.545p.
32. ICMSF (International Criteria for Microbiological Specifications in Food. Food and Drug Administration). (2000). Microorganismos de los alimentos Métodos de muestreo par análisis microbiológicos: principios y aplicaciones específicas. Editorial. Acribia. Zaragoza – España. 260p.
33. IFT (Institute of Food Technology). (2009). Sensory evaluation and active relation ship with the food industry. USA.
34. INCAP (1999). Las bondades de las galletas nutricionalmente mejoradas. Notas Técnicas. Panamá
35. INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y Protección de la Propiedad Intelectual). (1981). NTP 206.001: 1981. Galletas. Requisitos. Lima. Perú. 5p.

36. INEI (Instituto nacional de estadística e informática) (2009). Datos sobre Nutrición en el Perú. Informe Anual 2009. 1259p.
37. INSTITUTO TECNOLÓGICO DE LA PRODUCCIÓN (ITP). (1996). Tabla de evaluación de la frescura de pescado. Lima. Perú.
38. JIMÉNEZ, F. (2000). Evaluación nutricional de galletas enriquecidas con diferentes niveles de harina de pescado. Tesis Mg. Sc. especialidad de Nutrición. Lima, Perú. UNALM. 98p.
39. KENT, N.L. 1971. Tecnología de los Cereales. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
40. QALI WARMA. (2014). Fichas Técnicas de alimentos del Servicio Alimentario del programa Nacional de Alimentación Escolar Qali Warma. Ministerio de Desarrollo e Inclusión social MIDIS. Lima. Perú.
41. QI W, HE Z. (2006) . Enzymatic hydrolysis of protein: Mechanism and kinetic model. Front Chem China 1 (3): 308-14.
42. LÓPEZ, L. & DÁVILA, L. (2002). Galletas con valor nutricional agregado. Industrial data, 5 (1), 3- 7.
43. MANLEY, D. (1989). Tecnología de la industria galletera. Ed. Acribia. España. 483 p.
44. MARTÍNEZ, O. (1998). Hidrolizados proteicos de origen pesquero. Reportaje técnico, leído e 10 de noviembre del 2011, disponible en <http://www.hotfrog.es>.
45. MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.; CARR, B. (1991). Sensory Evaluation Techniques. CRC Press Inc. London. England. 464p.

46. MEJÍA, C.; MACAVILCA, E., VELÁSQUEZ, J. (2013). Formulación y evaluación de galletas enriquecidas con micronutrientes y proteínas de origen animal y vegetal. Disponible en Infinitum. (Huacho. En línea) 3 (2) 2013.
47. MIDIS (Ministerio de Desarrollo e Inclusión Social) (2013). Reporte PERU: Desnutrición Crónica Infantil – Metas al 2016.  
[http://www.midis.gob.pe/images/direcciones/dgpye/reporte\\_peru.pdf](http://www.midis.gob.pe/images/direcciones/dgpye/reporte_peru.pdf)
48. MINSA (Ministerio de Salud). (2008). RM 591-2008. Norma sanitaria sobre criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Lima .Perú. 21p.
49. MINSA (Ministerio de Salud). (2010). “Norma Sanitaria para la Fabricación, Elaboración y Expendio de Productos de Panificación, Galletería y Pastelería”
50. MONTGOMERY, D. (1991). Diseño y análisis de experimentos. 1ra Edición. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. México. 589 p.
51. INDECOPI (2009). Norma Técnica Peruana 209.111. Aditivos alimentarios. Perú,
52. OVISSIPOUR, M. (2010). Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *Thunus albacores* head using Alcalase and Protamex. Int. Aquat Res 2:87-95.
53. PANDÍA, S.; SOLARI, A.; ALBRECHT-RUIZ, M. (2013). Hidrólisis enzimática de residuos de anchoveta y anchoveta entera a nivel piloto y caracterización de sus productos. Boletín investigación del ITP. Volumen 11:21-28. Applied Baking Technology.
54. PASCUAL, G. (2000). Tecnología aplicada a la panificación. Galletas. Lección 16.
55. PÉREZ, J. (2006). Optimización del secado de oca utilizando el método de superficie de respuesta. Tesis Mg. Sc. Tecnología de alimentos. Lima, Perú UNALM. 102p.

56. PRONAA (Programa Nacional de asistencia alimentaria). (2009). Requerimientos y especificaciones técnicas para galletas enriquecidas o fortificadas. Perú. 5p.
57. RAVALLEC- PLÉ R (2001). The presence of bioactive peptides in hydrolysates prepared from processing waste of sardine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* (81): 1120-1125.
58. RODRÍGUEZ, H. (2004). Evaluación nutricional, biológica y sanitaria del pan integral enriquecido con cuatro niveles de suplemento proteico a base de pulpa estabilizada de pescado. Tesis Mg. Sc. Tecnología de alimentos. Lima, Perú UNALM. 98p.
59. ROSSI, F. 2001. Blending response surface methodology and principal components analysis to match a target product. *Food Quality and Preference*. 12:457–465.
60. SEGURA, L. (1994). Elaboración de pan fortificado con pulpa de merluza lavada (*Meluccius gayi peruannus*). Tesis Ing. Alimentario. Lima, Perú. Universidad Nacional Federico Villarreal. 198 p.
61. SPIEGEL, M & STPHENS, L (2009) Estadística. Editorial Mc Graw Hill, México. 577p.
62. STONE, H. AND BLEIBAUM, R. 2009. Statistical analysis. In *Food science and technology*. (pp. 341-351). Singapore: Wiley- Blackwell.
63. UREÑA, M.; D'ARRIGO, M.; GIRÓN, O. (1999). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Primera Edición. Editorial Agraria. Lima. Perú. 199 p.
64. VALDEZ J. (1999). Determinación de la Calidad Sensorial de Palitos de Maíz con sabor a queso mediante el método de Perfil de textura del consumidor. Tesis Mg. Sc. Tecnología de Alimentos. Lima, Perú. UNALM. 286 p.

65. WATTS, B.; YLIMAKI, G.; JEFFRY, L.; ELÍAS, L. (1992). Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. Editorial CIID. Ottawa. Canadá. 336p.
66. WINDSOR, M.; BARLOW, S. (1984). Introducción a los subproductos de pesquería. Ed. ACRIBIA. Zaragoza. España. 220p
67. WOOD, C.; MONTAÑO, R. (1985). Producción experimental de galletas enriquecidas con carne molida de tiburón y harina de soya. Boletín Científico y Tecnológico del Instituto Nacional de Pesca. Ecuador. Número 6 (4). 1 – 10 p.
68. WOOD, C.; MONTAÑO, R. (1988). Producción experimental de galletas enriquecidas con pescados pelágicos baratos. Boletín Científico y Tecnológico del Instituto Nacional de Pesca. Ecuador. Número 9 (3). 1 -12 p.
69. YAÑEZ, G.; DONDERO, M.; CUROTTO, E. (1991). Desnaturalización proteica de pulpa de jurel *Trachurus murphyi*). Revista Agroquímica. Tecnología alimentaria. 31(4). 539-542 p.
70. ZOOK, K; WESSMAN, C. (1977). The selection and use of judges for descriptive panels. Food Technology 31. November. 56-61p.
71. ZUCCARELLI, T.; WALD, B.; SCHMIDT-HEBBEL. (1984). Estudio bromatológico de dos tipos de galletas con cobertura grasa. Revista Chilena de Nutrición. Vol.12 N°3.Diciembre. 208-211 p.



## VIII.ANEXOS

### ANEXO 1. Insumos y valor calórico de la ración preparada

INSUMOS	Cantidad (g)	Kcal
Alimento problema: Galleta con hidrolizado de Anchoveta	91,00	312,62
Sales minerales	4,00	---
Mezcla de vitaminas	5,00	18,87
Fibra	-----	-----
Total	100,00	331,49

### Análisis Químicos de la ración preparada %

	%
Proteína	8,94
Humedad	5,39

## ANEXO 2. Control de peso por día y consumo de alimentos.

Tipo de animales: Ratas Holtzman

N° de animales: 6

Edad: 24 días de nacidos

Sexo: Machos.

Procedencia: UNALM

N°	Peso inicial (g)	Día1 (g)	Día 2 (g)	Día 3 (g)	Día 4 (g)	Día 5 (g)	Día 6 (g)	Ganancia de peso (g)	Consumo de alimento	Heces (g)	Orina (ml)
1	64,25	65,9	66,5	67,7	68,2	65,0	65,0	0,75	37,52	4,91	29,37
2	62,10	64,0	65,5	66,7	66,6	65,7	66,75	4,65	42,19	7,01	39,16
3	55,60	56,5	57,9	59,7	62,0	65,2	65,2	9,60	50,06	6,30	37,73
4	63,75	63,25	61,5	59,7	59,0	58,0	58,0	5,75	25,78	3,12	41,57
5	65,60	67,9	67,6	68,9	71,0	72,4	72,4	6,80	53,79	8,51	783,6
6	58,0	61,0	61,7	59,3	61,2	62,2	62,15	4,15	37,62	4,30	33,43
Total	369,3	378,5	380,7	382	388	389,5	389,5	20,2	246,96	34,15	254,86
Prom.	61,55	63,09	63,45	63,6	64,6	64,9	64,91	3,37	41,16	5,69	42,476

### ANEXO 3. Formato de evaluación de la prueba de grado de aceptabilidad general

N°  
.....

#### FICHA DE EVALUACIÓN PRUEBA DEL GRADO DE ACEPTABILIDAD GENERAL CON ESCALA HEDÓNICA

NOMBRES Y APELLIDOS: ..... .....	FECHA ...../...../ .....
--	--------------------------------

#### INDICACIONES:

Ud. evaluará tres muestras en cuanto a su aceptabilidad general en el orden indicado.

Marque en la escala, con un aspa, el renglón que corresponda a la calificación por cada muestra.

	ESCALA	MUESTRAS:		
		1	2	3
1	Me disgusta mucho			
2	Me disgusta bastante			
3	Me disgusta ligeramente			
4	Ni me gusta ni me disgusta			
5	Me gusta ligeramente			
6	Me gusta bastante			
7	Me gusta mucho			

Muchas Gracias.

**ANEXO 4. Listado de panelistas y distrito de residencia**

Participante	Distrito de residencia
André Arsani Morales	Independencia
Axel Pinedo Huamán	Puente Piedra
Catalina Yatopa Aldave	La Molina
Celinda Silva Marín	Miraflores
Mariana Aldave Mori	Jesús María
Jazmín Murga Castro	Villa María del Tirunfo
Edith Pérez Torres	Los Olivos
José Velásquez Díaz	Los Olivos
Alonso Rodríguez Quispe	San Juan de Miraflores
Erick Tito Gamero	Ate
Sandra Gutierrez Santillán	Villa el Salvador
Moisés Timaná Martínez	Los Olivos
Elena Huamán Huamaní	Comas
Francisco Sosa Méndez	Rimac
Cristina Pardo Vílchez	El Agustino
Flavia Arróspide Castro	Magdalena
María José Aldave Villavicencio	Jesús María
Susana Romero Marín	San Juan de Lurigancho
Alexander Condor Inga	Independencia
Seleni Flores Herrera	Villa María del Triunfo
Daniel Suarez Sotelo	Comas
Yyari Castillo Torero	Independencia
Elvis Barrientos Flores	Independencia
Tracy Chunguillo Durand	Independencia
Yampier Díaz Condori	Independencia
Jeremy Flores Orejón	Independencia
Emily Moreno Zumaeta	Independencia
Raúl Acosta Galindo	San Juan de Miraflores
Wendy Díaz Flores	Los Olivos
Clara Soria Marín	Surco
Luis Arévalo Marín	Surco
Javier Taboada Mateo	Surquillo
Axel Valdivia Salazar	Cercado de Lima
Jhanely Hernández Morales	Independencia
César Ramírez Salazar	La Victoria
Harol Hernández Morales	Independencia
Carlos Sánchez Melgarejo	Chorrillos
Camila Pinto Burga	La Molina
Diego Medina Pérez	La Molina
Luis De la Cruz Banda	San Juan de Lurigancho
Grecia Carrillo Montoro	Callao
Sofía Huerta Paxi	Villa el Salvador

Carlos Huerta Paxi	Villa el Salvador
Mónica Mendoza Tapia	Rímac
Fabiola Mendoza Tapia	Rímac
Freddy Rivera Hurtado	Independencia
Yomira Quiroz Sandoval	Independencia
Leydi Revollar Salas	Independencia
Milagros Briones Pozo	Los Olivos
Boris Dulanto Segura	Callao
Nataly Valer Huamaní	Barranco
Alberto Melgarejo Paz	Los Olivos
Liliana Palomino Arias	San Juan De Lurigancho
Luz Tello Marín	Comas
Fernando Nolasco Matos	La Victoria
Felipe Delgado Calderón	San Juan de Lurigancho
Giannina Vilchez Carbajal	Surquillo
Lorenzo Silva Vera	San Juan de Lurigancho
Margarita Quispe Taype	Rímac
Fiorella Huamaní Carhuapuma	Chorrillos
Rosa Alvarado Mejía	Cercado
Augusto Vargas Santos	Los Olivos
Daniela Meza Milachay	Rímac
Paul García Freire	El Agustino
Emmerson Ricci Arrieta	Independencia
Angeli Roberto Pezo	Independencia
Camila Rugel Vera	Independencia
Pamela Huamán García	San Luis
Henry García Lozano	San Martín de Porres
Percy Quintana Cajas	Los Olivos
Harumi Ruiz Montoro	Independencia
Lorena Montes Chipana	Ate
María Agüero Flores	Los Olivos
Cynthia Romero Paz	Los Olivos
Juan Chávez Pariona	Lince
Camila Sánchez Zegarra	Callao
Santiago Díaz Zegarra	Jesús María
Cielo Zegarra Marín	Pueblo Libre
Mariella Mendoza Aguayo	Rímac
Renzo González Sarmiento	Jesús María
Wilmer Gómez Arana	Puente Piedra
Vanessa Yanac Vilca	Ate
Valeria Vargas Alva	Villa María Del Triunfo
Ana Acosta Azañaro	Rimac
Kattia Pereyra Mori	Los Olivos
Miluska Cabrera Salas	Lince
Martín Aldave Soria	Pueblo Libre
Lorenzo Vega Venero	Surco

Jesús Paucar Rivas	Surquillo
José Paucar Rivar	Surquillo
André Zamora Rivera	Los Olivos
Cesar Valdivia Vargas	San Juan de Miraflores
Carlos Castro Malca	Surco
Maricielo Sermnaque Palacios	Surco
María José Gutierrez Arana	Surco
Leticia Alvarado Vergara	Miraflores
Fiorella Acosta Baldeón	Villa María del Triunfo
José Cotrina Maldonado	Ate
Elvis Flores	Ate
Belén Alvarado Pina	Lima Cercado
Pía Alvarado Pina	Lima Cercado
André Roggero	Surco
Eduardo Vásquez	Barranco
Joaquín Vargas	Surco
Carolina Vargas	Surco

**ANEXO 5. Construcción del diseño de bloques incompletos para la prueba sensorial**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1		X		X				X							
2				X	x									x	
3							X						x		X
4	X					x	X								
5	X									x	x				
6			X	X		x									
7				X			X			x					
8					x						x	x			
9									x		x	x			
10	X							X	x						
11		x	X												X
12		x										x	x		
13						x		X							X
14					x		X	X							
15							X			x				x	
16			X				X		x						
17				X							x				X
18					x	x							x		
19		x				x							x		
20	X	x												x	
21			X							x			x		
22		x			x				x						
23								X		x		x			
24									x					x	X
25								X					x	x	
26						x					x			x	
27				X					x	x					
28	X		X		x										
29	X											x			X
30			X									x		x	
31					x					x					X
32			X					X			x				
33						x			x			x			
34		x					X				x				
35	X			X									x		
36		x		X				X							
37				X	x									x	
38							X						x		X
39	X					x	X								
40	X									x	x				
41			X	X		x									
42				X			X			x					

43					x						x	x			
44									x		x	x			
45	X							X	x						
46		x	X												X
47		x										x	x		
48						x		X							X
49					x		X	X							
50							X			x				x	
51			X				X		x						
52				x							x				X
53					x	x							x		
54		x				x							x		
55	X	x												x	
56			X							x			x		
57		x			x				x						
58								X		x		x			
59									x					x	X
60								X					x	x	
61						x					x			x	
62				x					x	x					
63	X		X		x										
64	X											x			X
65			X									x		x	
66					x					x					X
67			X					X			x				
68						x			x			x			
69		x					X				x				
70	X			x									x		
71		x		x				X							
72				x	x									x	
73							X						x		X
74	X					x	X								
75	X									x	x				
76			X	x		x									
77				x			X				x				
78					x						x	x			
79									x		x	x			
80	X							X	x						
81		x	X												X
82		x										x	x		
83						x		X							X
84					x		X	X							
85							X			x				x	
86			X				X		x						
87				x							x				X
88					x	x							x		



89		x				x							x		
90	X	x												x	
91			X						x				x		
92		x			x				x						
93								X		x			x		
94									x					x	X
95								X					x	x	
96						x					x			x	
97				x					x	x					
98	X		X		x										
99	X												x		X
100			X										x		x
101					x					x					X
102			x					X			x				
103						x			x			x			
104		x					X				x				
105	X			x									x		

**ANEXO 6. Resultados de la prueba de grado de aceptabilidad general en la evaluación de las formulaciones de las galletas ensayadas**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1		3 (1)		4 (2)				6 (3)							
2				5(1,5)	6(3)									5(1,5)	
3							7(3)						5(2)		3(1)
4	1(1)					4(2)	6(3)								
5	2(1)									4(2)	5(3)				
6			3(1)	4(2)		5(3)									
7				4(1)			6(3)			5(2)					
8					3(1)						4(2,5)	4(2,5)			
9									6(3)		5(1,5)	5(1,5)			
10	2(1)							6(2)	7(3)						
11		2(2)	1(1)												3(3)
12		3(1,5)										3(1,5)	4(3)		
13						4(1)		7(3)							5(2)
14					3(1)		6(2,5)	6(2,5)							
15							6(3)			5(2)				4(1)	
16			3(1)				5(2)		6(3)						
17				3(1)							5(3)				4(2)
18					3(1,5)	3(1,5)							6(3)		
19		3(1)				5(2)							6(3)		
20	2(1)	3(2)												4(3)	
21			3(1)							5(3)			4(2)		
22		2(1)			4(2)				6(3)						
23								6(2,5)		6(2,5)		4(1)			
24									6(3)					4(1,5)	4(1,5)
25								5(3)					3(1,5)	3(1,5)	
26						6(3)					5(2)			4(1)	
27				3(1)					6(2)	7(3)					
28	2(1)		3(2)		5(3)										
29	3(1)											5(3)			4(2)
30			3(1)									4(2)		6(3)	
31					4(1,5)					6(3)					4(1,5)
32			3(1)					6(3)			5(2)				
33						3(1)			5(3)			4(2)			
34		2(1)					6(3)				3(2)				
35	2(1)			3(2)									4(3)		
36		2(1)		4(2)				6(3)							
37				3(1)	6(3)									5(2)	

38							7(3)						5(2)		3(1)
39	2(1)					4(2)	6(3)								
40	2(1)									4(2)	6(3)				
41			3(1)	4(2)		5(3)									
42				4(1)			6(3)			5(2)					
43					4(2)						3(1)	5(3)			
44									6(3)		5(1,5)	5(1,5)			
45	2(1)							6(2)	7(3)						
46		2(2)	1(1)												3(3)
47		3(1,5)										3(1,5)	4(3)		
48						4(1)		7(3)							5(2)
49					3(1)		5(2,5)	5(2,5)							
50							6(3)			5(2)				4(1)	
51			3(1)				5(2)		6(3)						
52				3(1)							5(3)				4(2)
53					2(1,5)	2(1,5)							5(3)		
54		3(1)				5(2)							6(3)		
55	2(1)	3(2)												4(3)	
56			3(1)							6(3)			4(2)		
57		2(1)			4(2)				6(3)						
58								7(3)		6(2)		4(1)			
59									7(3)					4(1,5)	4(1,5)
60								5(3)					3(1,5)	3(1,5)	
61						5(2)					6(3)			4(1)	
62				2(1)					6(3)	5(2)					
63	2(1)		3(2)		5(3)										
64	3(1)											5(3)			4(2)
65			2(1)									5(3)		4(2)	
66					4(1,5)					6(3)					4(1,5)
67			3(1)					6(3)			5(2)				
68						3(1)			5(3)			4(2)			
69		3(1)					6(3)				4(2)				
70	1(1)			3(2)									5(3)		
71		3(1)		4(2)				6(3)							
72				5(1,5)	6(3)									5(1,5)	
73							7(3)						5(2)		3(1)
74	1(1)					4(2)	6(3)								
75	2(1)									4(2)	5(3)				
76			3(1)	4(2)		5(3)									
77				4(1)			6(3)			5(2)					
78					3(1)						4(2,5)	4(2,5)			
79									6(3)		5(1,5)	5(1,5)			
80	3(1)							6(2,5)	6(2,5)						
81		2(2)	1(1)												3(3)
82		3(1,5)										3(1,5)	4(3)		

83						4(1)		7(3)							5(2)
84					3(1)		6(2,5)	6(2,5)							
85							6(3)			5(2)				4(1)	
86			3(1)				5(2)		6(3)						
87				3(1)							5(3)				4(2)
88					3(1,5)	3(1,5)							6(3)		
89		3(1)				5(2)							6(3)		
90	2(1)	3(2)												4(3)	
91			3(1)							6(3)			4(2)		
92		2(1)			4(2)				6(3)						
93								6(3)		5(2)		4(1)			
94									7(3)					4(1,5)	4(1,5)
95								5(3)					3(1,5)	3(1,5)	
96						6(3)					5(2)			4(1)	
97				3(1)					6(2)	7(3)					
98	3(1,5)		3(1,5)		5(3)										
99	3(1)										6(3)				4(2)
100			2(1)								5(3)		4(2)		
101					3(1)					6(3)					4(2)
102			3(1)					6(3)			5(2)				
103						3(1)			5(3)			4(2)			
104		2(1)					6(3)				5(2)				
105	2(1)			3(2)									4(3)		

**ANEXO 7. Resultados de la prueba de aceptabilidad general de la galleta optimizada**

<b>Panelista</b>	<b>Resultado</b>	<b>Panelista</b>	<b>Resultado</b>	<b>Panelista</b>	<b>Resultado</b>
1	6	39	7	77	6
2	7	40	6	78	6
3	6	41	6	79	6
4	5	42	6	80	5
5	5	43	6	81	7
6	6	44	6	82	6
7	6	45	7	83	6
8	6	46	6	84	6
9	6	47	6	85	7
10	7	48	6	86	7
11	7	49	6	87	5
12	6	50	6	88	6
13	7	51	6	89	6
14	6	52	6	90	6
15	6	53	6	91	6
16	7	54	6	92	6
17	6	55	6	93	6
18	6	56	6	94	6
19	6	57	5	95	6
20	7	58	7	96	6
21	5	59	7	97	6
22	7	60	5	98	6
23	6	61	6	99	7
24	5	62	6	100	6
25	7	63	6	101	6
26	6	64	6	102	6
27	6	65	6	103	6
28	6	66	6	104	6
29	6	67	6	105	7
30	6	68	6		
31	7	69	6		
32	7	70	6		
33	7	71	6		
34	6	72	5		
35	6	73	7		
36	6	74	6		
37	6	75	6		
38	6	76	6		

**ANEXO 8. Resultados de la prueba Prueba t- contraste entre óptimo teórico y el práctico de la aceptabilidad promedio.**

```
Prueba de  $\mu = 6,1129$  vs.  $\neq 6,1129$ 
```

Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T	P
s	105	6,1143	0,5247	0,0512	(6,0127. 6,2158)	0,03	0,978

## ANEXO 9. Fotos de las pruebas de análisis sensorial



**ANEXO 10. Fotos de las galletas obtenidas en la investigación**





## ANEXO 11. Resultados finales valor biológico

PARÁMETROS	GALLETA CON HIDROLIZADO DE ANCHOVETA
Número de animales (ratas)	6
Peso inicial (g)	61,55
Peso final (g)	64,91
Ganancia de peso (g)	3,37
Consumo de alimento (g)	41,16
Materia seca del alimento (%)	94,61
Nitrógeno en alimento (%)	1,43
Nitrógeno consumido (g) NI	0,59
Promedio de heces excretadas (g)	5,69
Materia seca de heces (%)	65,96
Nitrógeno en heces (%)	2,05
Nitrógeno excretado en heces (g)NF	0,12
Densidad de la orina	1,020215
Promedio de orina excretada (mL)	42,476
Orina excretada (g)	43,334
Nitrógeno en orina (%)	0,55
Nitrógeno excretada en orina (g) NU	0,24
Valor Biológico	48,94

NI=Nitrógeno ingerido por el grupo de animales alimentados con dieta proteica.

NF=Nitrógeno excretado en heces del grupo de animales con dieta proteica.

NU =Nitrógeno excretado en orina del grupo de animales con dieta proteica

Análisis de ración %			
Humedad	5,39	Ceniza	----
Proteína	8,94	Fibra	----
Grasa	-----	Nifex	-----
Materia seca	94,61	% N	1,43
Nit. Ingerido (g)			0,50

Análisis de heces %			
Humedad	---	Ceniza	----
Proteína	12,805	Fibra	----
Grasa	-----	Nifex	-----
Materia seca	65,96	% N	2,05
Nit. Excretado (g)			0,12

Análisis de orina	
Densidad	1,020'215
Orina excretada MI	42,476
Gr orina	43,334
Proteína %	3,46
% N	0,55
Nit.Excretado (g)	0,24

$$VB = \frac{NI - (NF + UN)}{NI - NF} \times 100 = 48,94$$