

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

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



**CAMBIOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y
SENSORIALES DE LA ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) FRESCA
EN CORTE HGT A DIFERENTES CONDICIONES DE ENVASADO**

Presentada por:

KARÍN MEDALIT VIGO COTRINA

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

**Lima – Perú
2016**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

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

**“CAMBIOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y
SENSORIALES DE LA ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) FRESCA EN
CORTE HGT A DIFERENTES CONDICIONES DE ENVASADO”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

KARÍN MEDALIT VIGO COTRINA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dr. Marcial Ibo Silva Jaimes
PRESIDENTE

Mg.Sc. Walter Francisco Salas Valerio
PATROCINADOR

Dr. Luís Fernando Vargas Delgado
MIEMBRO

Mg.Sc. David Roldán Acero
MIEMBRO

DEDICATORIA

**A Dios, mi familia y en especial a la personita
que me regala el más puro y tierno amor mi
hija Glenda Marifé, por ser mi inspiración y
apoyo en esta aventura y superación;**

**A mis padres Emérito y Felipa, por su
inmenso amor y por creer y confiar siempre
en mí;**

**A mis hermanas Mirtha, Lelis y Betty, por ser
siempre las mejores cómplices en cada etapa
de mi vida;**

**A mis sobrinos engreídos Fran, Diego,
Eduardo y Sahori, los AMO.**

AGRADECIMIENTO

A DIOS, por estar siempre a mi lado dándome la fortaleza y sabiduría necesaria en los momentos en que pensé que no podría lograrlo, gracias en verdad mi padre eterno.

Agradezco infinitamente al Mg.Sc. Walter F. Salas Valerio, asesor de la tesis; por su invaluable ayuda, paciencia y guía en el desarrollo y culminación de éste trabajo.

A la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Agraria La Molina y en especial a mis queridos y estimados docentes, por la solidez y exigencia en la formación recibida, que redundará siempre en la calidad profesional y personal de los graduandos, así como de los logros que espero alcanzar.

Al Instituto Tecnológico de la Producción (ITP), por todas las facilidades, apoyo y orientación brindada para la realización de éste trabajo.

A todas las personas que me brindaron su gran apoyo, ayuda, tiempo, paciencia y cariño; de todo corazón, MUCHÍSIMAS GRACIAS.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 La anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>)	3
2.1.1 Taxonomía	3
2.1.2 Sinonimia	4
2.1.3 Características de la especie.....	4
2.1.4 Hábitat.....	5
2.1.5 Alimentación.....	5
2.1.6 Reproducción	6
2.1.7 Importancia alimenticia	6
2.1.8 Composición química y nutricional	7
2.2 Características y alteración del pescado fresco	9
2.2.1 Cambios bioquímicos post-mortem	10
2.2.2 Alteración microbiana de los pescados.....	17
2.3 Envasado en atmósfera protectora.....	18
2.3.1 Definición	18
2.3.2 Tipos de envasado en atmósfera protectora	19
2.3.3 Componentes del sistema de envasado en atmósfera protectora	22
2.4 Vida útil de los productos de la pesca	38
III. MATERIALES Y MÉTODOS	46
3.1 Lugar de ejecución	46
3.2 Materiales y equipos.....	46
3.2.1 Materia prima.....	46
3.2.2 Material de empaque.....	47
3.2.3 Reactivos químicos	49
3.2.4 Reactivos microbiológicos y medios de cultivo	50

3.2.5	Material de vidrio.....	50
3.2.6	Otros materiales	51
3.2.7	Equipos	51
3.3	Métodos de análisis	52
3.3.1	Análisis de gases	52
3.3.2	Análisis físico – químico	53
3.3.3	Análisis microbiológico	55
3.3.4	Análisis sensorial	56
3.3.5	Análisis estadístico.....	58
3.4	Metodología experimental.....	58
3.4.1	Envasado en atmósfera protectora de la anchoveta	58
3.4.2	Determinación del tiempo de Vida Útil	65
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	68
4.1	Composición química proximal de la anchoveta	68
4.2	Peso y longitud	69
4.3	Gases en el espacio de cabeza	69
4.4	Exudado (drip).....	71
4.5	pH.....	73
4.6	Nitrógeno de trimetilamina (N-TMA).....	76
4.7	Nitrógeno básico volátil total (N-BVT)	78
4.8	Histamina.....	80
4.9	Frescura química del pescado (valor K).....	83
4.10	Recuentos microbiológicos de la anchoveta	86
4.11	Evaluación sensorial	90
4.12	Determinación del tiempo de vida útil	93
V.	CONCLUSIONES.....	96
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
VII.	ANEXOS	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis proximal (%) de la anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>).....	7
Tabla 2. Componentes minerales (%) de la anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>).....	8
Tabla 3. Análisis de ácidos grasos (%) de la anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>).....	8
Tabla 4. Composición gaseosa del aire seco a nivel del mar.....	19
Tabla 5. Mezcla de gases recomendadas para el envasado en atmósfera modificada.....	26
Tabla 6. Principales materiales y su función, usados en la fabricación de estructuras multicapas	28
Tabla 7. Principales materiales utilizados para la fabricación de envases usados en el envasado de alimentos en atmósfera protectora	33
Tabla 8. Principales equipos de envasado en atmósfera protectora.....	35
Tabla 9. Vida útil de algunos productos de la pesca envasados en atmósfera modificada.....	40
Tabla 10. Comparación entre la vida útil de diversos productos de la pesca envasados en aire y en atmósfera protectora.....	41
Tabla 11. Guía de tiempo y temperatura para el control del crecimiento de <i>C. botulinum</i> <i>tipo E</i> y formación de toxinas en pescados y productos pesqueros	43
Tabla 12. Resultados de publicaciones sobre el crecimiento y la producción de toxinas por <i>C. botulinum</i> en productos de la pesca envasados en atmósferas protectoras	44
Tabla 13. Método de evaluación sensorial para anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>).....	57
Tabla 14. Planeamiento para la determinación del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada con EAM, EV y A	66
Tabla 15. Composición química proximal (%) de la anchoveta (<i>Engraulis</i> <i>ringens</i>).....	68
Tabla 16. Análisis de gases en el espacio de cabeza de las muestras de anchoveta envasadas con atmósfera modificada.....	70
Tabla 17. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para pH	75

Tabla 18. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para TMA	77
Tabla 19. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para BVT	80
Tabla 20. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para histamina	82
Tabla 21. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para valor K	85
Tabla 22. Recuentos microbiológicos de la anchoveta fresca (<i>Engraulis ringens</i>), al inicio de almacenamiento.....	86
Tabla 23. Resultados del análisis microbiológico (ufc/g) de la anchoveta fresca envasada en aire, vacío y atmósfera modificada a una temperatura de 1-1.5 °C	88
Tabla 24. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para <i>Aerobios mesófilos</i> y <i>Psicrófilos</i>.....	89
Tabla 25. Resultados de la evaluación sensorial para anchoveta fresca en corte HGT, envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5°C.....	91
Tabla 26. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para apariencia, textura, olor y sabor.....	92
Tabla 27. Tiempo de vida útil para la anchoveta fresca en corte HGT envasada con aire (A), vacío (EV) y atmósfera modificada (EAM) bajo almacenamiento refrigerado a 1-1.5 °C; según análisis físico–químico, microbiológico y sensorial.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>).....	4
Figura 2. Estructura multicapa de un film	29
Figura 3. Bolsa tipo “almohada”	32
Figura 4. Bolsa tipo “saco o sobre”	32
Figura 5. Bandeja rígida de PP-PET con barrera termosellada en EAM	32
Figura 6. Bandeja semirrígida de PS expandido más película flexible	32
Figura 7. Máquina envasadora de campana de sobremesa	36
Figura 8. Principio de funcionamiento de una máquina envasadora con campana de vacío	37
Figura 9. Bandeja profunda 4, BP4 (Poliestireno espumado).....	47
Figura 10. Lámina coextruída de alta barrera (bolsa, tipo pouch P7340B)	48
Figura 11. Almohadillas absorbentes (C-40) de color blanco	48
Figura 12. Analizador de gases Oxybaby.....	53
Figura 13. Diagrama de flujo de la anchoveta fresca en corte HGT envasada en atmósfera protectora.....	59
Figura 14. Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>), en corte HGT (sin cabeza, vísceras y cola)..	61
Figura 15. Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>), lavada y escurrida	61
Figura 16. Muestras de Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>), colocadas de manera uniforme en bandeja provista con tres almohadillas absorbentes	62
Figura 17. Muestras de Anchoveta (<i>Engraulis ringens</i>) envasadas en atmósfera modificada (EAM)	64
Figura 18. Porcentaje de exudado en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C.....	72
Figura 19. Variación del pH en el músculo de la anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C.....	74
Figura 20. Variación de N-TMA en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C.....	76
Figura 21. Variación de N-BVT en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C.....	79

Figura 22. Contenido de histamina en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C.....	81
Figura 23. Variación del valor K en la anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5°C.....	84

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Ficha técnica de lámina coextruida de alta barrera (for pouches/ P7340B).....	111
ANEXO 2. Supuetos del modelo estadístico para indicadores físico-químicos, microbiológicos y sensoriales.....	112
ANEXO 3. Análisis de varianza (ANVA) de los tratamientos (EAM, EV A) para indicadores físico-químicos, microbiológicos y sensoriales.....	123
ANEXO 4. Cálculo del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada con atmósfera modificada, según análisis físico-químico.....	129
ANEXO 5. Cálculo del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada al vacío, según análisis físico-químico.....	133
ANEXO 6. Cálculo del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada en condiciones atmosféricas normales (aire), según análisis físico-químico.....	137
ANEXO 7. Cálculo del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada con atmósfera modificada, según análisis microbiológico.....	141
ANEXO 8. Cálculo del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada al vacío, según análisis microbiológico.....	143
ANEXO 9. Cálculo del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada en condiciones atmosféricas normales (aire), según análisis microbiológico.....	145

“CAMBIOS FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y SENSORIALES DE LA ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) FRESCA EN CORTE HGT A DIFERENTES CONDICIONES DE ENVASADO”

RESUMEN

Se evaluó y comparó el efecto del envasado en atmósfera modificada (EAM, 60% CO₂ y 40% N₂), vacío (EV) y aire (A) sobre indicadores físico-químicos, microbiológicos y sensoriales en anchoveta fresca en corte HGT bajo almacenamiento refrigerado a 1-1.5 °C, por un periodo de 14, 11 y 7 días. Los contenidos de N-TMA, N-BVT, histamina, valor K, *Aerobios mesófilos* y *Psicrófilos*; fueron medidos durante el almacenamiento. Las muestras envasadas con A, obtuvieron valores promedio significativamente más altos para TMA, BVT, histamina, *Aerobios mesófilos* y *Psicrófilos* a comparación de las muestras EAM y EV; entre EAM y EV, las diferencias no fueron significativas. Para valor K, los tres tratamientos evaluados produjeron el mismo efecto. Los resultados microbiológicos también indicaron que hubo ausencia de *St. Aureus*, *Salmonella spp.* y *Shigella* durante el tiempo de almacenamiento. Sensorialmente, se evaluó apariencia y textura en muestras de pescado crudo, mientras que olor y sabor en pescado cocido; las muestras EAM obtuvieron significativamente en promedio las mejores calificaciones seguidas por las muestras EV y las más bajas calificaciones fueron para las muestras envasadas con A. El menor tiempo de vida útil se obtuvo a partir de la evaluación sensorial y fue 10, 7 y 4 días para muestras EAM, EV y A, respectivamente; siendo la apariencia el atributo que limitó el tiempo de vida útil en los tres tratamientos evaluados.

Palabras claves: anchoveta, atmósfera modificada, valor K, apariencia

“PHYSICOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL AND SENSORIAL CHANGES OF FRESH ANCHOVY (*Engraulis ringens*) CUT HGT AT DIFFERENT PACKAGED CONDITIONS”

ABSTRACT

The effect of modified atmosphere packaging (MAP, 60% CO₂ and 40% N₂), vacuum packaging (VP) and air (A) were evaluated and compared on physico-chemical, microbiological and sensorial indicators in fresh anchovy cut HGT during refrigerated storage at 1-1.5 °C for 14, 11 and 7 days. The contents of N-TMA, N-BVT, histamine, K value, *mesophilic Aerobic* and *Psychrophiles* were measured during storage. Packed samples A obtained significantly higher mean values for TMA, BVT, histamine, *mesophilic Aerobic* and *Psychrophiles* to compare the samples MAP and VP; between MAP and VP, the differences were not significant. For the K value evaluated treatments produced the same effect. Microbiological results also indicated that there was lack of *St. aureus*, *Salmonella spp.* and *Shigella* during storage time. Sensory appearance and texture of raw fish samples was evaluated, while smell and flavor on cooked fish; MAP samples obtained significantly on average better grades followed by VP samples and the lowest ratings were for the samples packaged A. The shortest shelf life was obtained from sensory evaluation and was 10, 7 and 4 days MAP sample, VP and A, respectively. It is the appearance attribute that limited shelf life of the three treatments evaluated.

Key words: anchovy, modified atmosphere packaging, K value, appearance

I. INTRODUCCIÓN

El mar peruano se encuentra ubicado en el área de afloramiento más importante del mundo, tiene niveles de productividad no superados por ningún otro ecosistema marino y que son la base de una inmensa cadena trófica lo que favorece el desarrollo de grandes volúmenes de recursos pesqueros (Agüero y Claveri, 2007; Nixon y Thomas, 2001; Bakun y Weeks, 2008; citados por Mori *et al.*, 2011). Entre estos recursos, la anchoveta tiene particular relevancia para la economía del Perú, por sustentar la industria pesquera más importante para el país y una de las principales del mundo.

Hoy, la anchoveta es uno de los pescados más nutritivos del mundo por su alto contenido de proteínas, minerales, vitaminas, ácidos grasos y omega 3, elementos que sin duda son necesarios para el desarrollo del cerebro de los niños; además de prevenir enfermedades cardíacas o mentalmente degenerativas como el Alzheimer u otros, en adultos mayores (EcuRed, 2014).

Por otro lado, esta especie posee características intrínsecas que determinan fragilidad muscular y una elevada actividad metabólica, convirtiéndolo de esta manera en un producto alimenticio altamente perecible; por lo que es importante la aplicación de tecnologías adecuadas que permitan prolongar la vida útil de este producto, en especial si el objetivo es utilizar este recurso en el consumo humano directo. Al respecto, se ha identificado una serie de aplicaciones tecnológicas que son utilizadas a nivel comercial por la industria, entre las que se incluye la tecnología de envasado en atmósfera modificada.

La modificación de la atmósfera dentro del empaque por disminución de la concentración de oxígeno y un aumento en el contenido de dióxido de carbono y / o nitrógeno; ha demostrado

que prolonga significativamente la vida útil de productos alimenticios perecibles a temperaturas de enfriamiento (Parry, 1993; citado por Ozogul *et al.*, 2004 y Wang *et al.*, 2008); lo que permitiría un mayor consumo humano especialmente al interior del país y los lugares donde puede ser exportado alrededor del mundo.

Por las razones anteriormente expuestas, es que el objetivo principal del presente trabajo es: evaluar y comparar el efecto del envasado en atmósfera modificada, vacío y aire sobre los indicadores físico-químicos, microbiológicos y sensoriales en anchoveta fresca en corte HGT bajo almacenamiento refrigerado a 1-1.5 °C.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La anchoveta (*Engraulis ringens*)

- Nombre Científico: *Engraulis ringens*
- Nombre Común : Anchoveta, peladilla (juveniles).
- Nombre Inglés : Peruvian Anchovy

Fuente: CBT (1996). IMARPE-ITP

2.1.1 Taxonomía

Reino` : *Animalia*
Phylum : *Chordata*
Subphylum : *Vertebrata*
Superclase : *Osteichthyes*
Clase : *Actinopterygii*
Subclase : *Neopterygii*
Infraclase : *Teleostei*
Superorden : *Clupeomorpha*
Orden : *Clupeiformes*
Suborden : *Clupeoidei*
Familia : *Engraulidae*
Subfamilia : *Engraulinae*
Género : *Engraulis*
Especies : *Engraulis ringens*

Fuente: Catalog of Fishes (2004).

2.1.2 Sinonimia

- *Engraulis japonicus* (Japón)
- *Engraulis mordax* (USA)
- Anchois chuchueco (Francia)
- Anchoveta peruana (España)
- Fuente: SIICEX (2014)

2.1.3 Características de la especie

La anchoveta peruana (*Engraulis ringens* Jenyns), conocida bajo denominaciones tales como “Anchoveta negra” o “Peladilla” (Chirichigno *et al.*, 1982; citados por Ayala *et al.*, 2001), es una especie pelágica cuyos tamaños comerciales fluctúan entre 12 y 16 cm, es muy frágil, graso, difícil de manipular y de morfología poco adaptable a las operaciones mecánicas conocidas del pre-tratamiento de materias primas (Salas *et al.*, 2008).

Su cuerpo es alargado poco comprimido, cabeza larga, el labio superior se prolonga en un hocico y sus ojos son muy grandes. Su color varía de azul oscuro a verdoso en la parte dorsal y es plateada en el vientre (Figura 1). Longevidad alrededor de tres años de edad, alcanzando hasta 20 cm de longitud total y un peso promedio de 27.3 g. A los seis meses mide alrededor de ocho cm de largo, al año 10.5 cm y 12 cm a los 18 meses. Forma grandes cardúmenes de varios millones de individuos (IFFO, 2007).



Figura 1. Anchoveta (*Engraulis ringens*).

La anchoveta, es una especie que se encuentra dentro de la clasificación de pescados grasos o azules dada por Dávalos *et al.* (2005). Estos autores, clasificaron al pescado según su contenido graso en (a) pescado magro (2% de grasas) o llamado también pescado blanco y (b) pescado graso (más del 5% de grasas) conocido también como pescado azul. Además dichos investigadores hacen referencia que existe un grupo intermedio al que se llamaría pescado semi graso (2-5% de grasa).

2.1.4 Hábitat

Encontramos anchoveta en toda la extensión de la corriente peruana, o de Humboldt. En el litoral peruano se diferencian dos stocks o unidades poblacionales de anchoveta (*Engraulis ringens*) (1) norte-centro desde Zorritos (04°30'S) hasta los 16°00'S en el Perú y (2) la que se comparte con el norte Chile (16°01' – 24°00'S) (Chirichigno y Vélez, 1998; Jordán, 1971; citados por Bouchon *et al.*, 2010).

Comúnmente está a menos de 80 Km de la costa, pero ocasionalmente pueden estar hasta los 160 a 180 Km de la orilla. En condiciones normales, se encuentra cerca de la superficie durante la noche y para escapar de sus depredadores desciende hasta los 50 m de profundidad durante el día. Cuando ocurre el fenómeno de El Niño, se mantiene en aguas muy profundas (100 - 150 m), fuera del alcance de todos (EcuRed, 2014).

Vive en aguas moderadamente frías, con rangos que oscilan entre 16 ° y 23 °C en verano y de 14 ° a 18 °C en invierno. La salinidad puede variar entre 34.5 y 35.1 unidades prácticas de salinidad (UPS) (IMARPE, 2008).

2.1.5 Alimentación

Es planctívora, y su dieta no ha mostrado cambios durante el periodo 1953 al 2008. Los últimos estudios sobre la composición de esta dieta, en términos de contenido de carbono, confirman que es una especie planctívora, siendo los eufáusidos la presa más importante, y en

segundo lugar los copépodos. El zooplancton representa 80-95 por ciento de su dieta (Espinoza y Bertrand, 2008; James y Findlay, 1989 y James, 1987; citados por Bouchon *et al.*, 2010). Según Bouchon *et al.* (2010), indica que el fitoplancton es un ítem alimentario importante numéricamente, pero en general constituye un componente menor en la dieta de la anchoveta.

2.1.6 Reproducción

La anchoveta tiene sexos separados, alcanza su madurez sexual aproximadamente al año, midiendo aproximadamente 12 cm de largo. Se reproduce mediante la producción de huevos por parte de las hembras, que son fertilizados por el macho en el agua y el embrión se desarrolla fuera del cuerpo de la hembra (ION, 2010).

La anchoveta, es una especie desovadora parcial, por lo que en cualquier periodo del año es posible encontrar ejemplares en diferentes estados de madurez sexual. Desova en todas las latitudes del mar peruano y las áreas más importantes están frente a Chicama (7°30'S) hasta Chimbote (9°S) y del Callao (12°S) hasta Pisco (14°S). Esta especie desova de julio a febrero; su máxima actividad reproductiva se presenta durante los meses de invierno-primavera (julio-octubre), y en ciertos años se evidencia una extensión en el verano (Bouchon *et al.*, 2010).

Una hembra adulta produce millares de huevos durante su vida, desovando en la superficie y hasta 50 metros de profundidad (EcuRed, 2014).

2.1.7 Importancia alimenticia

Este recurso es una valiosa fuente de energía. Además de un importante contenido de minerales como potasio, hierro, fósforo y calcio; es notable la presencia de vitaminas A y D en su componente graso, que al mismo tiempo constituye una valiosa fuente de ácidos grasos muy necesarios para un adecuado desarrollo del cerebro y el cuerpo. La anchoveta, en

particular, presenta alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados: 15-17 por ciento de EPA, C_{20:5} (ácido eicosapentanoico) y 7-9 por ciento de DHA, C_{22:6} (ácido docosahexaenoico); cuyo consumo proporciona amplios beneficios en fisiología humana; pues causa un importante descenso de los niveles de colesterol en la sangre y previene la ocurrencia de enfermedades cardiovasculares (IFFO, 2007).

Su carne contiene proteínas de alto valor biológico y su ingesta es imprescindible durante el embarazo y el primer año de vida del infante donde sus requerimientos de ácidos grasos insaturados son necesarios principalmente para la formación del tejido nervioso (Salas *et al.*, 2003).

2.1.8 Composición química y nutricional

a. Análisis proximal:

Tabla 1. Análisis proximal (%) de la anchoveta (*Engraulis ringens*).

COMPONENTE	PROMEDIO (%)
Humedad	70.8
Grasa	8.2
Proteína	19.1
Sales Minerales	1.2
Calorías (100g)	185

FUENTE: CBT (1996). IMARPE-ITP

b. Componentes minerales:

Tabla 2. Componentes minerales (%) de la anchoveta (*Engraulis ringens*).

MACROELEMENTO	PROMEDIO (%)
Sodio (mg/100g)	78.0
Potasio (mg/100g)	241.4
Calcio (mg/100g)	77.1

FUENTE: CBT (1996). IMARPE-ITP

c. Ácidos grasos:

Tabla 3. Análisis de ácidos grasos (%) de la anchoveta (*Engraulis ringens*).

ÁCIDO GRASO		PROMEDIO (%)
C14:0	Mirístico	10.1
C15:0	Pentadecanoico	0.4
C16:0	Palmítico	19.9
C16:1	Palmitoleico	10.5
C17:0	Margárico	1.3
C18:0	Estearico	4.6
C18:1	Oleico	12.3
C18:2	Linoleico	1.8
C18:3	Linolénico	0.6
C20:0	Aráquico	3.7
C20:1	Eicosaenoico	traz.
C20:3	Eicosatrienoico	1.3
C20:4	Araquidónico	1.0
C20:5	Eicosapentanoico	18.7
C22:3	Docosatrienoico	1.1
C22:4	Docosatetraenoico	1.2
C22:5	Docosapentaenoico	1.3
C22:6	Docosahexaenoico	9.2

FUENTE: CBT (1996). IMARPE-ITP

2.2 Características y alteración del pescado fresco

Como consecuencia de su composición química y del pH poco ácido de su carne, el pescado se degrada con facilidad. Se puede deteriorar por la acción de enzimas autolíticas endógenas y/o por el desarrollo de una flora de contaminación variada. La flora contaminante se asienta básicamente sobre la piel y el intestino, y se extiende y se multiplica a otros tejidos donde existen sustancias nutritivas adecuadas (sustratos de bajo peso molecular: aminoácidos, aminas volátiles) y un pH relativamente elevado que favorece el desarrollo de dicha flora. Debido a este crecimiento, aparecen compuestos volátiles (trimetilamina, amoníaco, mercaptanos...) que confieren mal olor al pescado. Además, las proteasas del propio pescado y las bacterianas provocan un reblandecimiento rápido del músculo. Por su parte los lípidos se oxidan y las hemoproteínas modifican el color de la carne (Pascual-Anderson, 2000; citados por Pons, 2005).

De manera general, Dávalos *et al.* (2005) y Pons (2005) manifiestan que los principales factores que influyen en el deterioro del pescado son:

- ✓ **Tipo de pescado:** los pescados planos (anchoveta) se alteran con más facilidad que los redondos, ya que sufren con mayor rapidez el proceso de rigor mortis, igual que los peces que son grasos se echarán a perder debido a la rancidez oxidativa. En general, las piezas mayores se deterioran más lentamente.

- ✓ **Condiciones del pescado en el momento de su capturado:** los pescados agotados, como consecuencia de sacudidas, falta de oxígeno, manipulación excesiva, entre otros; se conservan peor que los capturados en mejores condiciones. Una larga agonía provoca mayor consumo de glucógeno, cuya falta acelera la aparición de fenómenos de alteración.

- ✓ **Tipo de flora contaminante:** Si la contaminación corporal e intestinal del pescado es alta y la que se instaura después de su captura también es elevada, la alteración será

mayor y más rápida.

- ✓ **Temperatura:** la conservación del pescado a bajas temperaturas retrasa o evita el desarrollo de gérmenes, en consecuencia, la alteración del pescado. La velocidad con que se desarrollan las bacterias depende fundamentalmente de la temperatura. Cuanto mayor es la temperatura, tanto más rápidamente se multiplican las bacterias que se alimentan de la carne del pez muerto. Si la temperatura es suficientemente baja, la acción bacteriana se detiene totalmente.

El deterioro del pescado comienza inmediatamente después de su muerte, es un proceso complejo en el que están implicados fenómenos físicos, químicos y microbiológicos. La acumulación de los productos del metabolismo bacteriano es la causa primaria de la alteración organoléptica del pescado crudo. (Microbiología de los alimentos, 2009).

2.2.1 Cambios bioquímicos post-mortem

Cuando el pescado muere se producen dos tipos de degradación, una degradación primaria autolítica y una degradación tardía microbiana. La degradación primaria es debida a procesos autolíticos de degradación rápida producidos por la acción de enzimas endógenos tisulares y digestivas. Dentro de estas reacciones tenemos las que afectan principalmente a los carbohidratos y las que corresponden a la degradación de los nucleótidos y aminoácidos (Microbiología de los alimentos, 2009).

Pons, 2005 manifiesta que como consecuencia de la degradación ocasionada en el pescado post-mortem, se produce una serie de modificaciones sensoriales, autolíticas y bacteriológicas; que conducirán finalmente al rechazo por parte del consumidor. Durante el transcurso de su deterioro las condiciones de almacenamiento del pescado serán claves para alargar o acortar el tiempo de vida comercial.

Los cambios bioquímicos más importantes que se dan a causa de lo dicho anteriormente, se detallan a continuación:

a. Glucólisis anaeróbica

Los carbohidratos, debido a la falta del suministro de O₂, sufren glucólisis anaeróbica; en la que el glucógeno se metaboliza hasta ácido láctico, dando lugar a una disminución del pH del músculo (6.1-6.5) y a la aparición de los procesos de “rigor mortis”. Cuando el pH llega a su valor mínimo se establece el rigor mortis ó rigidez cadavérica. Estas condiciones (pH bajo y rigidez del músculo) se oponen al crecimiento bacteriano por lo que se considera que es una fase de latencia (Huss, 1998; citado por Sanjuás, 2012).

Pons (2005), manifiesta que en el caso de que el pH del músculo del pescado descienda hasta alcanzar el punto isoelectrico de las proteínas miofibrilares, éstas se desnaturalizan y pierden su capacidad de retener agua, lo que origina cambios en la textura del pescado.

Sanjuás (2012) manifiesta que el estado de rigidez dura un tiempo relativamente corto (12-36 horas, según la especie y otros factores) y luego se resuelve el rigor, el músculo se relaja nuevamente y recupera la flexibilidad pero no la elasticidad previa al rigor. Así mismo, la presencia del ácido láctico acelera otros tipos de reacciones autolíticas, debido a la reducción del pH y a la ruptura de las membranas celulares que liberan las enzimas contenidas en sus lisosomas.

b. Degradación de nucleótidos (ATP)

Las reacciones que corresponden a la degradación de los nucleótidos se deben al agotamiento de los nucleótidos citoplasmáticos y al consumo de toda la reserva de

fosfocreatina; por lo que, el ATP no puede ser resintetizado y sigue una ruta degradativa. Por medio de una serie de reacciones de desfosforilación y desaminación, el ATP se degrada para formar difosfato de adenosina (ADP), monofosfato de adenosina (AMP), monofosfato de inosina (IMP), inosina (Ino) e hipoxantina (Hx); esta ruta catabólica se debe fundamentalmente a la acción de enzimas autolíticas (Surette *et al.*, 1988; citados por Sanjuas, 2012). Por lo tanto sabremos que, cuanto más ATP exista y menos compuestos de degradación se hayan formado, mas fresco sera el pescado. Las reacciones de degradación son las siguientes:



La tasa y el patrón de degradación de nucleótidos en los peces varía según la especie (pueden tener enzimas distintas y mucho más activas), la localización de las enzimas en el cuerpo (músculo oscuro o blanco), la madurez de pescado, el estrés durante la captura, la manipulación, la temporada y condiciones de almacenamiento (temperatura y atmòsfera de envasado) (Huss, 1995; citados por Sallam, 2007).

Los cambios autolíticos contribuyen al deterioro, principalmente por hacer catabolitos disponibles para el crecimiento bacteriano (Huss, 1995; citados por Sallam, 2007). Tradicionalmente, la degradación de ATP a IMP ha sido atribuído a la acción de enzimas autolíticas endógenos del músculo (Gram y Huss, 1996; citados por Sallam, 2007), mientras tanto la degradación de IMP a Ino, Hx y eventualmente a ácido úrico ha sido relacionado con el crecimiento bacteriano (Fletcher y Statham , 1988; citados por Sallam, 2007).

A medida que se deteriora el pescado van apareciendo cambios en su olor y sabor debido a la presencia o ausencia de la inosina monofosfato (IMP) y de los otros nucleótidos. La inosina es más o menos insípida mientras que la hipoxantina imparte un sabor agrio o amargo al pescado en procesos de deterioro (Spinelli, 1966; citados

por Pons, 2005). La pérdida de sabor en la carne del pescado es, por lo tanto, atribuida a la degradación de la IMP (Valle y Malle, 1998; citados por Pons, 2005).

Hernández (2011) sostiene que el uso de un único catabolito como indicador del grado de frescura no es aconsejable ya que son muchos los factores implicados en la descomposición de los derivados nucleotídicos y además el grado de descomposición de los productos derivados de su degradación difieren de una especie a otra. Por ello, se están utilizando indicadores basados en la relación de los diversos nucleótidos, denominados valor K, K₁, H, G.

La determinación de los nucleótidos, especialmente el ATP y los productos de su hidrólisis, sirven a menudo de índices de calidad del pescado post-mortem, dado que su degradación es un proceso bioquímico endógeno independiente de la actividad bacteriana. Así, Saito *et al.* (1959) establecieron el índice de frescura K (valor K), que proporciona una puntuación de frescura relativa, basada en los cambios autolíticos que tienen lugar durante la conservación post-mortem del músculo. Estos autores manifestaron que éste índice mide la relación entre la suma de Ino, Hx (compuestos defosforilados) y el contenido total de los compuestos relacionados con el ATP. Cuanto más alto es el valor K, menor nivel de frescura, y viceversa.

c. Cambios autolíticos por acción de enzimas proteolíticas

Se han aislado del músculo del pescado numerosas proteasas que se relacionan con una rápida resolución del rigor mortis y con el ablandamiento de la carne. Huss (1995); citado por Pons (2005) manifiesta que con el tiempo, la pérdida de las reservas de energía celular se traduce en un desequilibrio químico intracelular que activa ciertos enzimas endógenos proteolíticos, generando rupturas de los enlaces peptídicos que provocan el ablandamiento de la estructura muscular.

De esta manera, por acción de las catepsinas (proteasas ácidas que se encuentran en los lisosomas) se forman péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos libres, ocurriendo procesos de descarboxilación de estos aminoácidos y formación de aminas biógenas (Microbiología de los alimentos, 2009).

Los cambios bioquímicos causados por las proteasas son la causa principal de la disminución de la calidad del pescado fresco en refrigeración o en hielo, debido a la formación de moléculas de tamaño pequeño que, con otros compuestos propios de la carne, constituyen los primeros sustratos para el crecimiento microbiano: lactato, inosina, ribosa, creatina, urea, anserina, aminoácidos libres, etc (Microbiología de los alimentos, 2009).

d. Reacciones que afectan a los aminoácidos

En estos procesos se debe considerar que tanto las enzimas bacterianas como las tisulares, hidrolizan las proteínas en péptidos y aminoácidos; los cuales son posteriormente degradados debido principalmente a la actividad bacteriana, por dos mecanismos principales: la desaminación, que da lugar a la formación de amoníaco y diversas cadenas hidrocarbonadas y la descarboxilación, que da lugar a la formación de aminas biógenas (histamina, tiramina, putrescina). Histamina, es producida por descarboxilación microbiana del aminoácido histidina (Microbiología de los alimentos, 2009).

Fernández (2002) sostiene que la formación de histamina es el resultado del manipuleo y una inadecuada preservación del pescado, generalmente pescados almacenados en lugares con poca higiene y a temperaturas por encima de las de refrigeración en tiempos prolongados, susceptibles a formar grandes cantidades, siempre que presenten histidina libre en sus músculos. La medida preventiva más eficaz es la baja temperatura desde el momento de la captura y mantener la cadena de frío muy cerca de 0°C.

La importancia de estimar la concentración de histamina en pescado y productos pesqueros está relacionado con su impacto en la salud humana y la calidad de los alimentos. Esta amina biógena, es el principal agente causal de la intoxicación histamínica; desorden frecuentemente asociado al consumo de pescado en condiciones higiénico-sanitarias deficientes. La formación de altas concentraciones de histamina en productos pesqueros puede ser bastante rápida y depende de la cantidad de microorganismos presentes (Ozogul *et al.*, 2002b; Watts y Brown, 1982; citados por Ozogul *et al.*, 2004).

e. Reacciones autolíticas de degradación del Óxido de Trimetilamina (OTMA)

En los pescados marinos, el OTMA se encuentra distribuido de manera irregular en el músculo y órganos del pescado. El OTMA, forma parte de la fracción nitrogenada no proteica; se le atribuye a dicho compuesto un papel importante en los procesos de osmoregulación, ello explica que presente contenidos mucho mayores en las especies de agua salada que en las de agua dulce (Stenberg *et al.*, 1984; citado por Pons, 2005).

La trimetilamina (expresado como nitrógeno de trimetilamina, N-TMA) es un compuesto básico volátil que no se encuentra en el pescado vivo. En pescado fresco, se encuentra en cantidades muy pequeñas y se va acumulando durante el deterioro como resultado, principalmente, de la reducción bacteriana del óxido de trimetilamina (OTMA), mediante el enzima OTMA – reductasa. Esto significa que el análisis del N-TMA no da ninguna información acerca de los primeros cambios autolíticos o del grado de frescura, pero sí acerca de los cambios posteriores o del grado de deterioro, cuando el pescado alcanza un cierto grado de colonización bacteriana (Huss, 1995; citado por Pons, 2005).

Tanto la actividad bacteriana, como las modificaciones bioquímicas fruto de la actividad autolítica del pescado dan lugar a una serie de compuestos nitrogenados básicos como: amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de

nucleótidos), trimetilamina (NTMA) (producida por deterioro bacteriano), dimetilamina (N-DMA) (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación) y la monometilamina; conocidas en su conjunto como Nitrógeno Básico Volátil Total (N-BVT) (Huss, 1995; citados por Pons, 2005). Así, Huidoro y Tejada (1990); citados por Pons (2005) manifiestan que la determinación de bases volátiles, representan el grado de alteración de los productos del mar.

El componente mayoritario de la fracción del N-BVT es el N-TMA, este compuesto es considerado como el responsable del característico “olor desagradable” del pescado; si el deterioro continúa, éste olor se transforma a un olor del tipo amoniacal, finalmente, el olor es pútrido debido a la presencia de sulfuro de hidrógeno, indol y otras sustancias con olores desagradables (Sanjuás, 2012).

Cuando el desarrollo o la actividad bacteriana están impedidos, como es el caso de temperaturas de congelación, a partir del precursor OTMA se puede formar N-DMA y formaldehído en cantidades equimoleculares por acción de enzimas del propio pescado (Lundstrom y Racicot, 1983; citados por Pons, 2005). Así, el N-TMA está relacionado con el almacenamiento del pescado en refrigeración, mientras que el N-DMA con el pescado mantenido en congelación.

TVB-N y TMA están directamente relacionados con el deterioro microbiano en diversas especies de peces durante su almacenamiento en condiciones de refrigeración (Dalgaard *et al.*, 1993; citado por Ozogul *et al.*, 2004).

2.2.2 Alteración microbiana de los pescados

El crecimiento bacteriano es el principal factor que limita el tiempo de vida comercial del pescado produciendo su alteración y la aparición de olores desagradables. La estimación del recuento total de bacterias viables, ó mejor aún, la determinación de las bacterias que están implicadas realmente en el proceso de alteración; así como el análisis de los indicadores químicos de sustancias derivadas de su desarrollo, se han utilizado como medidas de aceptabilidad de la calidad del pescado (Hernández, 2011).

Los hábitos alimenticios de los peces, la zona geográfica, la estación, la temperatura del agua, el tipo de pez, el lugar donde los pescados son capturados y las condiciones de almacenamiento, que incluyen la temperatura y la composición de la atmósfera del envase, determinan la presencia de los microorganismos específicos de la alteración (Pescados y mariscos).

Huss (1995); citado por Pons (2005) manifiesta que la flora bacteriana inicial en pescados de agua templada está dominada por bacterias aerobias gram-negativas, bacilos psicrófilos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Alteromonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* y *Vibrio*. Después de la fase de latencia, cuya duración depende básicamente de la temperatura, las bacterias del pescado inician un crecimiento exponencial a lo largo del deterioro alcanzando valores de 10^8 - 10^9 UFC/g de músculo, cuando el deterioro es manifiesto. Tendrán lugar cambios cualitativos en función de las condiciones de almacenamiento. Las *Pseudomonas sp.* y *Alteromonas sp.* pueden llegar a ser los géneros dominantes en pescados de mar mantenido a bajas temperaturas. La temperatura de almacenamiento y la composición de la atmósfera afecta la proporción de las especies mencionadas en la población final del pescado.

El pescado fresco, excesivamente manipulado, presenta un número elevado de bacterias Gram-positivas, entre las que se incluyen: *Micrococcus*, *Corineformes*, *Bacillus*, *Staphylococcus*. También suele presentar niveles bajos de *Enterobacteriaceae*, así como un

pequeño número de anaerobios obligados como *Clostridium spp.* (Microbiología de los alimentos, 2009).

Un buen control de la temperatura también es estricto para prevenir o controlar el crecimiento de una gran variedad de microorganismos patógenos marinos y terrestres que podrían encontrarse en el pescado después de su procesado inicial, entre ellos *Vibrio spp.*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*, *E.coli*, *Shigella spp.* Todas estas bacterias crecen bien en la carne del pescado si se mantiene a temperaturas mayores a 10 °C (Microbiología de los alimentos, 2009).

Entre las bacterias productoras de histamina en pescado, se puede mencionar al grupo de las enterobacterias (Chen *et al.* 1989 y Beutling, 1996; citados por Pons, 2005). Dentro de esta familia, los géneros *Proteus* y *Klebsiella* son los que más se han relacionado con la capacidad de descarboxilación de la histidina (Dapkevicius *et al.* 2000 citados por Pons, 2005). Por otro lado, Ozogul *et al.* (2004) también manifiestan que las bacterias entéricas, especialmente *Morganii morganella*, ciertas cepas de *Klebsiella pneumoniae*, y algunas cepas de *Hafnia alvei* son los formadores de histamina más prolíficos de peces cuando se llevan a cabo a temperaturas superiores a 4 °C.

2.3 Envasado en atmósfera protectora

2.3.1 Definición

El envasado en atmósfera protectora (EAP), consiste en la sustitución de la atmósfera que rodea al producto, aire (Tabla 4), seguida o no de la inyección de una mezcla de gases que garantice la calidad del producto, logrando de este modo conservar y proteger el alimento durante periodos más largos de tiempo (Andrés *et al.*, 2008).

Tabla 4. Composición gaseosa del aire seco a nivel del mar

GAS	CONCENTRACIÓN (%)
Dióxido de carbono (CO ₂)	0.03
Oxígeno (O ₂)	20.99
Nitrógeno (N ₂)	78.03
Argón (Ar)	0.94
Hidrógeno (H ₂)	0.01

FUENTE: Parry (1993).

2.3.2 Tipos de envasado en atmósfera protectora

Se diferencian tres tipos principales de envasado según las modificaciones que experimenta el ambiente gaseoso que rodea al producto:

a. Envasado al vacío

Fue el primer método de EAP que se utilizó comercialmente. Consiste en la eliminación total del aire (generar una atmósfera libre de oxígeno) dentro del envase sin que sea remplazado por otro gas; retardando el desarrollo de microorganismos aerobios, manteniendo el alimento sus cualidades por un periodo de tiempo mayor. Si el proceso se realiza de forma adecuada la cantidad de oxígeno residual es inferior al uno por ciento. En este caso, el material de envasado se pliega en torno al alimento como resultado del descenso de la presión interna frente a la atmosférica. Dicho material debe presentar una permeabilidad muy baja a los gases, incluido el vapor de agua (Heidmann y Oetterer, 2003; citados por Graciano *et al.*, 2006 y García *et al.*, 2006).

- **Ventajas del envasado al vacío**

- Es el más sencillo y económico puesto que no hay consumo de gases en él.
- La baja concentración de oxígeno que permanece en el envase tras evacuar el aire inhibe el crecimiento de microorganismos aerobios y las reacciones de oxidación.
- Favorece la retención de los compuestos volátiles responsables del aroma. Este aspecto es muy apreciado por el consumidor en determinados productos como el café.
- Impide las quemaduras por frío, la formación de cristales de hielo y la deshidratación de la superficie del alimento gracias a la barrera de humedad de pequeño espesor existente entre el material de envasado y el producto (García *et al.*, 2006 y García *et al.*, 2013).

- **Inconvenientes del envasado al vacío**

- Es un método poco recomendable para productos de textura blanda o frágil, con formas irregulares y para aquellos en los que su presentación es de gran importancia (como los platos preparados) porque pueden deformarse de manera irreversible con el vacío.
- Deben extremarse las precauciones en alimentos con superficies cortantes o salientes para evitar la rotura del material de envasado al evacuar el aire.
- Tampoco es adecuado para alimentos que precisan cierta cantidad de oxígeno. Por ejemplo, las carnes rojas sufren variaciones de color en ausencia de este gas que resultan poco atractivas para el consumidor.
- En ocasiones, la formación excesiva de arrugas en el material de envasado dificulta la visualización del producto y su presentación final resulta menos agradable.
- En algunos casos, se ha observado la acumulación de exudado en productos envasados al vacío durante periodos de tiempo prolongados (García *et al.*, 2006).

b. Envasado en atmósfera modificada

El principal objetivo de esta técnica es excluir o reducir en gran medida el contenido de oxígeno, mantener el nivel de humedad del alimento e inhibir el crecimiento de microorganismos aeróbicos. El envasado en atmósfera modificada (EAM o MAP en sus siglas inglesas, *modified atmosphere packaging*), consiste en reemplazar la atmósfera que rodea al producto en el momento del envasado por otra especialmente diseñada para cada tipo de alimento, y mantener estas condiciones mediante un envase impermeable a los gases (material de alta barrera). Esto permite controlar mejor las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas, evitando o minimizando las principales degradaciones que se producen durante los periodos de almacenamiento, incrementando la vida útil de los alimentos. (Rodríguez-Giró, 1998; citado por Graciano *et al.*, 2006; García *et al.*, 2006 y Ospina *et al.*, 2008).

En este tipo de envasado, la atmósfera gaseosa cambia continuamente durante todo el periodo de almacenamiento por la influencia de diferentes factores como la respiración del producto envasado, cambios bioquímicos y la lenta difusión de los gases a través del envase (Parry, 1995; citado por Ospina *et al.*, 2008).

c. Envasado en atmósfera controlada

El envasado en atmósfera controlada (CAP en sus siglas inglesas, *controlled atmosphere packaging*) supone la sustitución del aire por un gas o una mezcla de gases específicos cuya proporción se fija de acuerdo a las necesidades del producto. Es deseable que la composición de la atmósfera creada se mantenga constante durante todo el periodo de almacenamiento mediante un control continuado (García *et al.*, 2006).

2.3.3 Componentes del sistema de envasado en atmósfera protectora

En los sistemas de EAP existen tres componentes básicos (a) los gases, (b) el material de envasado y (c) los equipos de envasado (García *et al.*, 2006).

a. Gases de envasado

Los gases más utilizados comercialmente para el EAP son dióxido de carbono (CO₂), oxígeno (O₂) y nitrógeno (N₂) (García *et al.*, 2006; Andrés *et al.*, 2008 y Ospina *et al.*, 2008).

- **Dióxido de carbono (CO₂):**

Entre los principales gases aplicados en el envasado en atmósfera protectora, el CO₂ es el único con propiedades bacteriostáticas, fungistáticas e insecticidas. El CO₂ es un compuesto muy soluble en agua y en grasa, esta propiedad se incrementa a baja temperatura por lo que su eficacia es mayor en productos refrigerados. Así mismo, el CO₂ se difunde a través del material de envasado entre dos y seis veces más rápido que otros gases de envasado en atmósfera protectora; por lo que, la relación de permeabilidades corresponde a CO₂ > O₂ > N₂ (García *et al.*, 2006 y McDowell *et al.*, 2004).

Andrés *et al.* (2008) sostienen que la acción inhibitoria del CO₂ sobre el crecimiento de los microorganismos, se debe por una parte, a la disminución del pH que se produce como consecuencia de la combinación del CO₂ con el agua y; por otra a su acción sobre el sistema enzimático de las bacterias causando daños que pueden llegar a ser letales.

Este efecto bacteriostático depende de varios factores: concentración de CO₂, especie microbiana que se encuentre en el producto, carga bacteriana inicial, temperatura y tiempo de conservación del alimento (Narasimha y Sachindra, 2002; citados por

Andrés *et al.*, 2008 y Ospina *et al.*, 2008). Así mismo, García *et al.* (2006) y McDowell *et al.* (2004) sostienen que para lograr este efecto bacteriostático la concentración de CO₂ debe estar comprendida entre 20-60 por ciento.

El CO₂ es muy eficaz frente a bacterias aerobias Gram-negativas (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*; provocando ésta última pérdidas de color y malos olores en carnes y pescados) y mohos. En menor medida también afecta a bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) y levaduras. En cambio, favorece el desarrollo de otros microorganismos como las bacterias ácido lácticas (García *et al.*, 2006).

Cuando se produce una disolución excesiva de CO₂ en el alimento pueden desencadenarse dos fenómenos negativos (1) colapso del envase y (2) formación de exudado. El primero consiste en la retracción del material de envasado debido al descenso de la presión que ejerce el CO₂ en el interior del paquete. El exudado se origina por la pérdida de la capacidad de retención de agua de las proteínas. El CO₂ en disolución da lugar a ácido carbónico que se descompone rápidamente reduciendo el pH del medio; ésto conlleva a la desnaturalización de las proteínas y a la consiguiente pérdida de su capacidad para retener el agua en los tejidos (Tornadijo y Fresno, 2004; citados por García *et al.*, 2006 y McDowell *et al.*, 2004).

Parry (1993), citado por Heidmann y Oetterer (2003); manifiestan también que en los alimentos que presentan una humedad alta y / o cantidades de grasa, tales como pescado, carne y aves de corral, la absorción excesiva de CO₂ en el músculo de dichos alimentos, puede dar lugar a un fenómeno conocido como "colapso del envase".

Así mismo, García *et al.* (2006) manifiestan que estos problemas de exudado son habituales en carnes y pescados y su intensidad depende de los mecanismos también presentes en cada tejido; por lo que García de Fernando *et al.* (2011) manifiestan que es frecuente en el envasado de productos cárnicos o de la pesca la inclusión de

absorbentes de humedad en el envase para que se impregnen con tales exudados y pasen desapercibidos.

- **Oxígeno (O₂):**

Es uno de los principales agentes alterantes de los alimentos. En la mayoría de los productos envasados en atmósfera modificada el objetivo prioritario es eliminarlo o reducir su concentración con la finalidad de inhibir las reacciones de oxidación de los lípidos que originan sabores y olores desagradables y el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes que lo necesitan para su actividad metabólica (García *et al.*, 2006).

Por otro lado, en algunos casos el O₂ resulta ser un gas imprescindible para la conservación óptima de alimentos metabólicamente activos como los vegetales frescos; en el caso de la carne fresca, mantiene su color rojo brillante y en el caso del pescado, para evitar una situación de anaerobiosis que favorecería el desarrollo de *Clostridium botulinum tipo E* (García *et al.*, 2006 y Guía Carbueros Metálicos).

- **Nitrógeno (N₂):**

Es un compuesto inerte, es decir, que no reacciona químicamente con otras sustancias y presenta además una solubilidad muy baja en agua y grasas. Por sus características fisicoquímicas el N₂ es utilizado en el empaque en atmósfera modificada para (a) reemplazar el O₂ del interior del envase; evitando con ello problemas oxidativos en productos de alto contenido de grasa y evitar el desarrollo de microorganismos aerobios y (b) actuar como gas de equilibrio o gas de relleno evitando el “colapso de los envases” (mantiene el volumen en el interior del envase, evitando que se aplaste o deforme) que contienen alimentos con alto índice de humedad y grasas, causado por la tendencia de estos alimentos a absorber CO₂ de la atmósfera (Ospina *et al.*, 2008 y McDowell *et al.*, 2004).

Andrés *et al.* (2008), reportaron que los gases utilizados en el EAP pueden aplicarse de manera individual o en combinación en distintas proporciones, según el efecto requerido y sobre todo dependiendo de las características de la materia prima (flora microbiana que sea capaz de crecer en el producto, la sensibilidad del producto al O₂ y CO₂, necesidades de mantenimiento de color del alimento, etc.). Ciertamente, el envasado en atmósferas modificadas es muy específico, es decir hay que adaptarlo a la materia prima inicial y sus características como pH, cantidad de pigmentos y de grasa y composición de la misma.

Según la Guía Índice-UPCommons, recomienda que para el envasado en atmósfera modificada se suelen emplear tres tipos de mezclas de gases:

- Cobertura inerte (N₂).
- Atmósfera semi-activa (CO₂/N₂, O₂/CO₂/N₂).
- Atmósfera completamente activa (CO₂, CO₂/O₂ con una proporción elevada del primero).

Tornadijo y Fresno (2004) y García *et al.* (2013), afirmaron que la mezcla de gases más utilizada para el envasado en atmósfera modificada son 40% CO₂: 30% N₂: 30% O₂ para el caso del pescado blanco y 60% CO₂: 40% N₂ para pescado azul o graso. Además, Guidelines (1985), citados por Heidmann y Oetterer (2003); también recomiendan que para pescado graso se utiliza una mezcla de 40-60 %CO₂, en equilibrio con N₂. En la Tabla 5 se relacionan las mezclas de gases recomendadas para diferentes productos.

Tabla 5. Mezcla de gases recomendadas para el envasado en atmósfera modificada

PRODUCTO	MEZCLA	T (°C)	V. ÚTIL
CARNES ROJAS	65-80% O ₂ / 20-35% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 3	8-15 días
CARNE DE AVE	20-70% O ₂ / 30-40% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 3	16-20 días
ELABORADOS CARNICOS CURADOS	20-30% CO ₂ / Resto N ₂	10 a 15	meses
ELABORADOS CARNICOS COCIDOS	20% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 3	4-6 semanas
PESCADO BLANCO	30-40% O ₂ / 30-70% CO ₂ / Resto N ₂	-1 a 2	7-12 días
PESCADO AZUL	60-70% CO₂ / Resto N₂	-1 a 2	5-12 días
PLATOS CON BASE DE PESCADO	20-30% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 4	15-20 días
PESCADOS CONGELADOS	N ₂	-18	meses
QUESOS DUROS	80-100% CO ₂ / Resto N ₂	4 a 6	meses
QUESOS BLANDOS	20-40% CO ₂ / Resto N ₂	4 a 6	semanas
LONCHEADOS DE QUESO	20-80% CO ₂ / Resto N ₂	4 a 6	semanas
FRUTAS Y VERDURAS	1-8% O ₂ / 3-15% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 4	Triplifica la vida con respecto al aire
PRECOCINADOS	20-30% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 3	3-4 semanas
PASTA FRESCA, PIZZAS, SANDWICHES	20-30% CO ₂ / Resto N ₂	0 a 3	3-4 semanas
SNACKS, CEREALES, ESPECIAS	0-20% CO ₂ / Resto N ₂	Ambiente	meses
ACEITES	N ₂	10 a 15	meses
PRODUCTOS DE PANADERIA	20-40% CO ₂ / Resto N ₂	Ambiente	meses

FUENTE: AIMPLAS (2006); citado por Guía Índice-UPCommons.

Así mismo, en Guía Índice-UPCommons, se recomienda que el volumen de la mezcla de gases que constituyen la atmósfera modificada debe ser como mínimo igual al volumen neto del alimento; además, García de Fernando *et al.* (2011) manifestaron que la cantidad de gas que se debería incluir en un envase debe ser considerable, aunque variable dependiendo del alimento a envasar y de la propia atmósfera. Por regla general, las proporciones de gas/alimento fluctúan entre 1/1 y 1/2 (peso/volumen).

Por otro lado, García *et al.* (2013) y Gobantes y Gómez (2007) informaron que el envasado en atmósfera modificada del pescado presenta una particularidad comparado con el de otros alimentos. En general, la relación volumen de gas/volumen de producto se encuentra alrededor de dos; sin embargo, los efectos positivos de los gases protectores se observan en el pescado cuando dicha relación es igual a tres. Valores inferiores de esta relación hacen que los efectos de la atmósfera sean poco apreciables, como inconveniente de este hecho es el mayor volumen que ocupará el envase.

Ospina *et al.* (2008) sostienen que el éxito de los gases empleados en el envasado en atmósfera protectora no va a depender exclusivamente de la composición de la mezcla, sino que han de tenerse en cuenta factores importantes como son el material de envase, la temperatura de almacenamiento, el equipo de envasado y el producto a envasar (contenido de humedad y de grasas, características microbiológicas, intensidad de la respiración, la necesidad de estabilización del color); que debería ser ensayado antes de empezar a empacar un producto nuevo con gases.

b. Material de envasado

Paine, F. y Paine, H. (2009) sostienen que para mantener la calidad y seguridad de los alimentos envasados en atmósfera modificada, es esencial elegir correctamente el material de los envases; por lo que, los materiales más empleados son los plásticos flexibles y semirrígidos y los laminados plásticos.

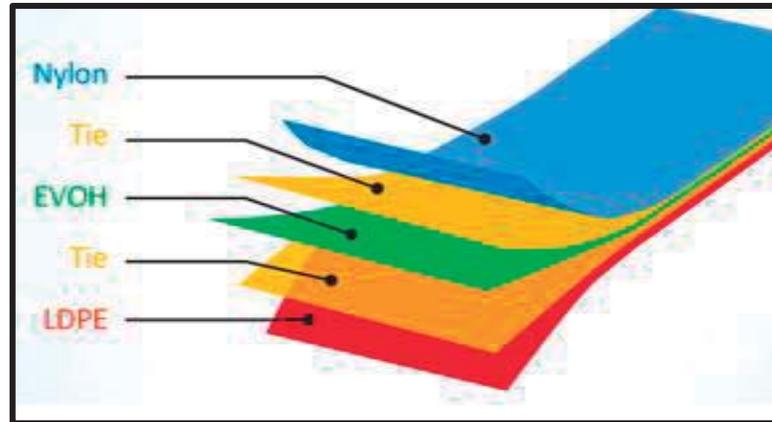
Actualmente, existen muchos tipos de materiales plásticos, cada uno de ellos con propiedades diferentes. En muchas ocasiones, es difícil que un único material presente todas las características de protección, técnicas y comerciales necesarias para el envasado en atmósfera modificada de un alimento concreto. Por este motivo, suelen fabricarse envases con estructuras multicapa. Seleccionando cuidadosamente cada componente plástico, es posible diseñar un material que posea todas las propiedades más importantes para ser empleado en el

envasado de un producto determinado. Así, una estructura base de un multicapa consiste en un material situado en la parte externa que tenga propiedades estructurales, un material en la capa central con propiedades barrera a gases y un tercer material en la capa interna que facilite y permita el sellado consigo mismo o con otro material adicional (Tabla 6). Estos materiales, normalmente, no son compatibles entre ellos por lo que deben ir unidos por capas de adhesivos (Figura 2). No obstante, estas estructuras pueden tener una composición variable que puede oscilar entre dos y once capas (Giménez y Melgarejo, 2010).

Tabla 6. Principales materiales y su función, usados en la fabricación de estructuras multicapas.

Principales materiales usados en la capa estructural
Polietilentereftalato (PET) Poliamida (PA) Polipropileno(PP)
Principales materiales utilizados como barrera
Lámina de Aluminio Metalizados PVDC (Saran) PVDF (Surlyn) Copolímeros de etileno:EVOH Recubrimientos: Óxidos de Al y Si
Principales materiales usados para el sellado
Polietileno (PE) Copolímeros de etileno: EVA Copolímeros de etileno: Ionómeros Copolímeros de etileno: Acrílicos Polietilenos metalocénicos Barnices o recubrimiento acrílicos

FUENTE: Aimplas; citado por Giménez y Melgarejo (2010).



**Figura 2. Estructura multicapa de un film: LDPE/EVA, capa interna en contacto con el producto (barrera a la humedad); EVOH, capa central (excelente barrera de gases) y Nylon, capa externa con recubrimiento (proporcionan la fuerza y la resistencia a la abrasión).
FUENTE: SAINT-GOBAIN**

En Guía Carburos Metálicos, se recomienda que para escoger los materiales para el envasado en atmósfera protectora (EAP), se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones:

✓ **Formato del envase:**

- Bolsa
- Envoltorio retráctil (Horizontal o Vertical)
- Sellado de barquetas
- Termoformado

- ✓ **Permeabilidades a los gases:** La elección de películas para EAP viene determinada en gran medida por sus permeabilidades a los gases y vapor de agua. Materiales como poliéster (PET), nailon (PA), cloruro de polivinilideno (PVdC) y copolímero de etileno y alcohol vinílico (EVOH) proporcionan buenas barreras para los gases, pero en muchos casos malas barreras para el vapor de agua.

- ✓ **Barreras al vapor de agua y aroma:** Polietileno, polipropileno y etil-vinil-acetato tienen índices de transmisión de gas demasiado altos para mantener una determinada mezcla de gases o el vacío el tiempo suficiente para que los productos tengan un tiempo de conservación adecuado. Con todo, son buenas barreras para el vapor de agua y por tanto evitan que los productos se sequen ó que los productos secos se humedezcan.

- ✓ **Termosellabilidad:** Es importante formar un cierre hermético para evitar fugas y mantener la mezcla de gases en el interior del empaque. Los films soldables habituales son LDPE, PP, EVA, entre otros. Además deben ser resistentes al sellado y brindar buena calidad del mismo.

- ✓ **Transparencia:** El producto debe ser claramente visible. La elección del propio material puede también afectar a la presentación del empaque, según su claridad y brillo.

- ✓ **Termoformado:** Se pueden formar materiales para fabricar bandejas rígidas y aplicar posteriormente la tapa o bien como envases semirrígidos/flexibles para aplicar a la forma el relleno y el sellado en la línea.

- ✓ **Tipos de película.** Las películas que habitualmente se usan como material para la tapa o para fabricar empaques en máquinas de formación llenado sellado horizontal ó vertical son de PET laminado a LDPE, o de PET recubierto de PVdC y laminado a LDPE. Como alternativa, el EVOH se puede coextruir con LLDPE. Las bobinas base ó las bandejas preformadas a menudo se fabrican con PVC/PE ó laminados de PET/PE. El polietileno aporta la capa sellante y el PET ó PVC la barreras de gases y la resistencia estructural.

- **Películas laminados**

Estas películas están conformadas por láminas de diferentes materiales unidas mediante un adhesivo, en forma de sandwich. Las películas laminadas ofrecen una mejor calidad de grabado ya que la superficie impresa es incorporada entre las numerosas láminas que las constituyen y esto evita el desgaste durante la manipulación.

- **Películas coextruídas**

Se caracterizan por ser láminas producidas simultáneamente que se unen sin necesidad de adhesivo. Son más económicas que las películas laminadas, sin embargo éstas últimas sellan mejor, pues el polietileno se funde y se reconstruye de forma más segura.

Por otro lado, Paine, F. y Paine, H. (2009) reportaron que los laminados plásticos flexibles se suelen hacer a partir de polietileno (PE), polipropileno (PP), poliamida (nylons), polietileno-tereftalato (PET), cloruro de polivinilo (PVC) y etilen-vinil-cohol (EVOH). Las estructuras rígidas y semirrígidas se hacen a partir de PP, PET y poliestireno expandido.

En las Figuras 3, 4, 5 y 6; se muestran los envases utilizados en el envasado en atmósfera modificada:



Figura 3. Bolsa tipo “almohada” (con soldadura longitudinal y dos transversales en los extremos).
FUENTE: Fiallos (2009).

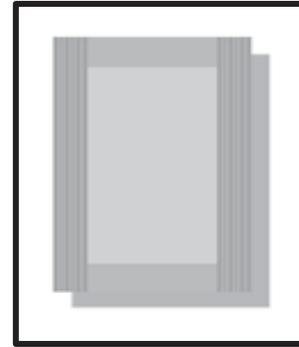


Figura 4. Bolsa tipo “saco o sobre” (con los cuatro lados sellados).
FUENTE: Fiallos (2009)



Figura 5. Bandeja rígida de PP-PET con barrera termosellada en EAM.
FUENTE: Catálogo Pamolsa, 2015.



Figura 6. Bandeja semirrígida de PS expandido más película flexible.
FUENTE: Global Packaging.

Guarda y Galotto (2000); citados por Graciano *et al.* (2006) afirmaron que el requerimiento más importante en la selección del sistema de envasado para alimentos es la permeabilidad del material.

Tal es así que, la permeabilidad de una película plástica varía de un polímero a otro (Tabla 7). Los materiales poliméricos presentan un amplio rango de propiedades, es por ello que la apropiada selección del material de envasado es indispensable para extender la vida útil de los alimentos (Willige, 2002; citados por Graciano *et al.*, 2006).

Tabla 7. Principales materiales utilizados para la fabricación de envases usados en el envasado de alimentos en atmósfera protectora.

Película	Permeabilidad a los gases (cm ³ .1mils/m ² .día.atm) a 25 °C			Transmisión al vapor de agua (g/m ² . día) 38°C 90% HR	Resistencia a grasas y aceites
	O ₂	CO ₂	N ₂		
Poliétileno de baja densidad (LDPE)	7800	42000	2800	18	Pobre
Poliétileno de alta densidad (HDPE)	2600	7600	650	7-10	Buena-excelente
Polipropileno (PP) fundido	3700	10000	680	12-10	Buena
Polipropileno orientado	2000	8000	400	6-7	Buena-excelente
Etileno-acetato de vinilo (EVA)	12500	50000	4900	40-60	Pobre
Policloruro de vinilo (PVC) rígido	150-350	150-350	60-150	30-40	Excelente
Policloruro de vinilo (PVC) plastificado	500-30000	1500-46000	300-10000	15-40	Buena
Poliamida (PA) o Nylon-6	40	150-190	14	84-3100	Excelente
Poliamida (PA) o Nylon-11	500	2000	52	5-13	Excelente
Poliéster orientado	50-130	180-390	15-18	25-30	Excelente
Poliestireno (PS), orientado	5000	18000	800	100-125	Buena
Etileno-alcohol vinílico (EVOH)	3-5	-	-	16-18	-
Ionómeros	6000	6000	-	25-35	Pobre

FUENTE: Barberena (2004) y Parry (1995); citados por García *et al.* (2006).

Por otra parte, si se requiere que el contenido del envase no sufra alteraciones (alimentos altos en grasas insaturadas) por la entrada de gases como el oxígeno, es deseable una baja permeabilidad. Para productos que se ven afectados por la presencia de este gas, la reducción ó la remoción total, junto con la prevención de su ingreso al interior, puede llegar a minimizar los efectos oxidativos y por consecuencia, prolongar la vida útil del alimento manteniendo su calidad (Butler, 2002; citados por Graciano *et al.*, 2006).

De acuerdo a la información presentada, la permeabilidad del material del envase es una característica crítica para lograr una adecuada vida útil de cualquier alimento. En resumen, las propiedades barrera definen la capacidad protectora del envase, por lo que al considerar las diferentes opciones de materiales, es conveniente conocer esta característica así como el requerimiento del producto a envasar para obtener una mayor vida útil de éste durante su almacenamiento y distribución. (Graciano *et al.*, 2006).

En el caso de pescados como el Salmón y otros, EMPACK (2000); citado por Illanes (2004) sostiene que éstos productos son envasados en coextrusiones y laminaciones de alta barrera al oxígeno; por ejemplo, Polietileno de baja densidad (LDPE) más Polietileno lineal de baja densidad (LLDPE)/ Etil vinil alcohol (EVOH)/Poliamida (PA), el Etil vinil alcohol (EVOH) actúa como film de barrera y la Poliamida (PA) para resistencia mecánica, más una laminación con Poliester (PET) como barrera a olores; logrando un envase de excelente tenacidad y resistencia al rasgado y a la perforación.

c. Equipo de envasado

Rodríguez (1998); citado por García *et al.* (2006) sostienen que existe una amplia variedad de equipos de envasado en atmósfera protectora en el mercado que responde a las diversas necesidades derivadas del tipo de alimento a envasar, los formatos de envase deseados y los niveles de producción de cada fabricante.

En la Tabla 8 se indican los principales equipos de envasado en atmósfera protectora.

Tabla 8. Principales equipos de envasado en atmósfera protectora.

<i>Equipo de envasado</i>	<i>Sistema de envasado</i>	<i>Generación de la atmósfera protectora</i>	<i>Producción (velocidad)</i>	<i>Tipos de envases</i>	
Envasadora vertical	EAM	Barrido con gas	Por lotes/ continua (30-120 envases/min)	Flexibles, formados <i>in situ</i>	
Envasadora horizontal	<i>Flow-pack</i> BDF	EAM	Continua (<i>Flow-pack</i> : 120 envases/min)	Flexibles, formados <i>in situ</i>	
	Flow-vac (sistema de carga)	EV/VSP	Vacío compensado	Continua (60 envases/min) <i>in situ</i>	
Envasadora de campana	EV/VSP/EAM	Vacío compensado	Por lotes (2-3 ciclos*/min)	Rígidos y flexibles, preformados	
Línea termoformadora	EV/VSP/EAM	Vacío compensado	Por lotes (5-12 ciclos/min)	Rígidos, formados <i>in situ</i>	
Cerradora o termoselladora	Semiautomática	EV/VSP/EAM	Vacío compensado	Por lotes (2-3 ciclos/min)	Rígidos, preformados
	Automática	EV/VSP/EAM	Vacío compensado	Continua (15-20 ciclos/min)	Rígidos, preformados
Selladora de bolsa en caja	EV/EAM	Vacío compensado	Por lotes (3-30 cajas/min)	Flexibles, preformados Caja cartón	
Envasadora de succión externa	EV/EAM	Vacío compensado	Por lotes	Rígidos y flexibles, preformados	

FUENTE: García *et al.* (2006).

- **Envasadora con campana de vacío**

García *et al.* (2006) sostienen que las envasadoras de vacío o campana son equipos muy sencillos y económicos. Resultan adecuados para producciones bajas o medias-bajas (2-3 ciclos/ min) y operan en discontinuo. Generan la atmósfera protectora mediante la técnica de vacío compensado y utilizan envases prefabricados como bandejas o bolsas flexibles, con frecuencia, de poco valor añadido (Figura 7).



Figura 7. Máquina envasadora de campana de sobremesa.

FUENTE: Multivac

A continuación se detalla el principio de funcionamiento de la envasadora con campana de vacío, con un ejemplo en una envasadora de campana de sobremesa (Figura 8):

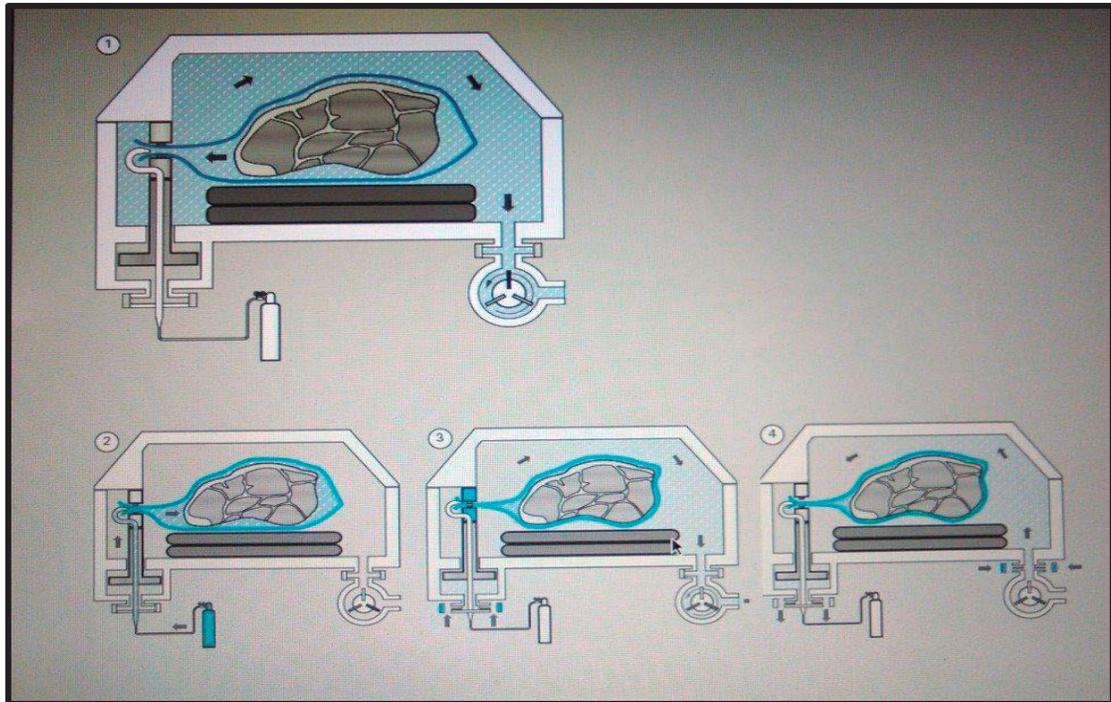


Figura 8. Principio de funcionamiento de una máquina envasadora con campana de vacío.

FUENTE: Multivac.

1. Evacuar

Una vez cerrada la tapa de la campana, la campana de vacío es un espacio estanco, cerrado de forma hermética. Una bomba de vacío aspira el aire allí existente hasta que se alcance el valor de vacío predeterminado en el control de la máquina. De esta forma se elimina la atmósfera disponible de la campana de vacío, de la bolsa y de los espacios intermedios del producto envasado.

2. Atmósfera protegida

Si la envasadora de campana al vacío dispone de un dispositivo EAM, será posible envasar el producto en atmósfera protegida. La campana de vacío y la bolsa se llenan con una mezcla de gases de protección hasta que se alcance la presión predeterminada en el control de la máquina.

3. Sellar

El lado de la bolsa abierto hasta este momento se sella por efecto del calor y de la presión. Para ello la barra de sellado se presiona contra la barra de contrapresión. Al mismo tiempo, un impulso eléctrico calienta el alambre de sellado, fundiendo entre sí los componentes de la bolsa que pueden sellarse. La costura de sellado resultante cierra la bolsa herméticamente de forma duradera.

4. Ventilar

Para abrir la campana es necesario compensar antes la presión mediante una ventilación con aire ambiente. El aire ambiente se conduce en la campana, primero lentamente y después de forma más rápida. Este tipo de ventilación suave y controlada evita que la bolsa quede dañada debido a los componentes afilados o puntiagudos.

2.4 Vida útil de los productos de la pesca

El deterioro de los productos de la pesca se inicia inmediatamente después de la muerte del animal debido al desarrollo de la microflora presente en ellos y a las reacciones químicas y enzimáticas de degradación. Las características físico-químicas de estos productos, como una elevada actividad de agua y un pH neutro, la composición lipídica y la existencia de enzimas autolíticas y de microorganismos en la superficie corporal limitan considerablemente su vida útil (García *et al.*, 2013).

Todos estos procesos de deterioro son dependientes de la temperatura. Tanto el crecimiento de la microflora como las reacciones de degradación predominantes varían según este parámetro. Por tanto, la conservación en condiciones óptimas de los productos de la pesca requiere, en la mayoría de los casos, un control estricto de la temperatura de almacenamiento (García *et al.*, 2013).

El pescado normalmente tiene una carga microbiana especialmente grande debido a su procedencia de aguas frías, al sistema de captura y transporte a tierra; además el músculo del pescado se contamina durante las etapas de evisceración y fileteado por los microorganismos procedentes de las branquias, los intestinos y la piel; por otro lado, las prácticas higiénicas deficientes o incorrectas en la elaboración de estos productos reducen su tiempo de vida. La actividad bacteriana provoca la descomposición de la proteína del pescado, con la consiguiente generación de un indeseable olor, a pescado podrido (Guía Carburos Metálicos y García *et al.*, 2013).

Así mismo, García *et al.* (2013) afirma que las reacciones metabólicas de algunas bacterias también podrían originar compuestos causantes de mal olor como trimetilamina (TMA), compuestos azufrados y otras sustancias perjudiciales para la salud como por ejemplo, la histamina que puede desencadenar problemas de alergia en población sensible.

García *et al.* (2013), también sostienen que la duración de los productos de la pesca se ve afectada por las reacciones enzimáticas que provocan el reblandecimiento de la textura y la aparición de olores y sabores extraños. Así mismo, las reacciones de oxidación lipídica, también afectan la calidad de estos productos dando lugar a sabores y olores a rancio. Éstas últimas son de mayor importancia en aquellos pescados con un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados como el pescado graso o azul.

Huss (1998) también sostiene que los pescados grasos son muy susceptibles a la degradación lipídica, la cual puede ocasionar severos problemas en su calidad incluso durante el almacenamiento a temperaturas bajo cero. Esto se debe a la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados presentes en los lípidos del pescado, los cuales en presencia de oxígeno atmosférico producen la rancidez del producto.

El envasado en atmósfera protectora (EAP), resulta ser una técnica muy eficaz para retrasar el deterioro por actividad microbiana y la rancidez por oxidación en los productos de pescados y

mariscos; para ello es necesario el empleo de pescado y marisco de máxima calidad (Guía Carburos Metálicos).

En la Tabla 9, se muestran algunos ejemplos de productos de la pesca conservados bajo atmósferas modificadas y su tiempo de vida.

Tabla 9. Vida útil de algunos productos de la pesca envasados en atmósfera modificada

Producto	Ejemplos	Temperatura de almacenamiento (°C)	Vida útil
Pescado blanco	Bacalao, lenguado, rape, merluza, rodaballo, platija, róbalo	-1 a 2	6 – 12 días
Pescado azul	Atún, sardina, trucha, salmón, arenque, caballa, anguila	-1 a 2	5 – 12 días
Pescado de piscifactoría	Trucha, dorada, lubina, salmón	-1 a 2	12 – 16 días
Pescado / marisco congelado	-	-18	6 – 12 meses
Pescado ahumado	Trucha, salmón, arenque	0 a 4	3 – 5 semanas
Salazones	Bacalao	0 a 4	12 – 18 meses
Moluscos y crustáceos	Gambas, langosta, langostinos, mejillones, almejas, cangrejos	-1 a 2	6 – 10 días
Cefalópodos	Calamar, sepia, pulpo	-1 a 2	6 – 10 días

FUENTE: Carburos Metálicos y Mejía García, JL. (2005); citados por García *et al.* (2006).

García *et al.* (2013) reportaron que la duración de los productos de la pesca envasados en atmósfera protectora es superior frente a los envasados en aire (Tabla 10); afirmando que ello se debe a que los gases utilizados previenen el desarrollo microbiano, las reacciones

enzimáticas y de oxidación responsables de su deterioro. Además, en Guía Carburos Metálicos, se reportó que dependiendo del tipo de producto, el tiempo de la conservación se puede prolongar entre el 50 y el 500%, utilizando técnica EAP.

Tabla 10. Comparación entre la vida útil de diversos productos de la pesca envasados en aire y en atmósfera protectora.

Producto	Composición de la atmósfera protectora (%)	Temperatura de almacenamiento (°C)	Vida útil (días)	
			Aire	Atmósfera protectora
Caballa	40 CO ₂ / 60 N ₂	2- 4	3	5
Salmón	40 CO ₂ / 60 N ₂	2- 4	5	7
Pescadilla	40 CO ₂ / 30 N ₂ / 30 O ₂	2- 4	3	5
Sardina	Vacío	4	3	9
Sardina	60 CO₂ / 40 N₂	4	3	12

FUENTE: Fagan *et al.* (2004) y Ozogul *et al.* (2004); citados por García *et al.* (2013)

Sivertsvik *et al.* (2002), citados por Poli *et al.* (2006) y por Wang *et al.* (2008) sostienen que la eficacia de la tecnología de EAM en extender la vida útil y la calidad de los productos de pescado depende de la especie, contenido en materia grasa, carga microbiana inicial, la mezcla de gases, la relación gas/producto, materiales de empacado y temperatura de almacenamiento. EAM ha demostrado extender la vida útil y disminuir la velocidad de degradación de ATP en el pescado.

Wang *et al.* (2008) en un estudio sobre almacenamiento de lomos de Bacalao fresco en EAM (50%CO₂ / 45%N₂ / 5%O₂) durante 21 días a temperaturas de refrigeración (1.5 °C) y congelación (a -2 °C durante los cuatro primeros días y a -0.9 °C a partir del día 4 hasta el final del almacenamiento), encontraron que la principal diferencia entre ambos tipos de almacenamiento fue los cambios percibidos sobre la textura del Bacalao almacenado en congelación. Estos autores, manifestaron que las muestras de Bacalao en EAM almacenadas a -0.9 °C, mostraron mayor pérdida de exudado que aquellas almacenadas en refrigeración;

afectando las propiedades de textura en dichas muestras. Además, afirmaron que una posible razón para que se haya dado una pérdida relativamente alta de exudado en esas muestras, podría ser que la congelación parcial pudo haber destruido las células musculares del Bacalao como resultado del crecimiento de cristales de hielo durante los primeros 4 días de almacenamiento a -2 °C.

McDowell *et al.* (2004) sostienen que para el pescado graso envasado en atmósfera protectora, es recomendable reducir la concentración de O₂ a valores residuales; ya que éste gas es un factor limitante importante de su vida útil. De esta manera, Tornadijo y Fresno (2004); recomiendan utilizar para pescados grasos una mezcla compuesta por 60% CO₂ y 40%N₂; afirmando que con ésta atmósfera es posible prolongar la vida útil de esta especie. Además, también manifestaron que para obtener mejores resultados, el almacenamiento de éstos productos se debe hacer por debajo de 3 °C, alcanzando con ello una vida útil máxima de 10-14 días.

Finalmente, es importante tener en cuenta lo reportado por Caselles (1998); citado por García *et al.* (2006) quienes sostienen que la más importante preocupación con el uso de productos en atmósfera modificada y vacío ocasionada por las condiciones anaerobias, es la posibilidad del crecimiento y la producción de toxinas no-proteolíticas de *Clostridium botulinum tipo E*, que puede crecer a bajas temperaturas y no alteran de forma sensible las características sensoriales del pescado, pero existe siempre el peligro de una intoxicación grave. Aunque no hay evidencia de que el CO₂ promueva el crecimiento de cepas psicotróficas de *C. botulinum*, si puede existir el riesgo de que le CO₂ permita el desarrollo de sus esporas. Algunos fabricantes incluyen O₂ en EAM para reducir el riesgo de crecimiento de clostridia; así como para mantener el color rojizo del músculo del pescado (atún) y retrasar su pardeamiento. Así mismo, Brody (1996); citado por Prentice y Sainz (2005) también afirman que el riesgo inherente en los peces es debido a la alta incidencia de *Clostridium botulinum tipo E* en ambientes acuáticos, sólo aparece en caso de abuso de temperatura o de una vida útil prolongada. Si la temperatura de almacenamiento y la vida útil se limita, por ejemplo, a 1-2 °C, el riesgo es mínimo.

En la Tabla 11 se muestra la guía de tiempo y temperatura para el control de *C. botulinum tipo E* y su formación de toxinas en pescados y productos pesqueros.

Tabla 11. Guía de tiempo y temperatura para el control del crecimiento de *C. botulinum tipo E* y formación de toxinas en pescados y productos pesqueros.

Condición potencialmente peligrosa	Temperatura del producto	Tiempo de exposición para la máxima acumulación
Germinación, crecimiento y formación de toxina por <i>C. botulinum tipo E</i> y tipos no proteolíticos B y F	3.3 – 5 °C 6 – 10 °C 11 – 21 °C 21°C	7 días 2 días 11 horas 6 horas

FUENTE: Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance (2011).

Sin embargo, Dodds y Austin (1997); citados por Sivertsvik *et al.* (2002) manifestaron que independientemente de la temperatura mínima de crecimiento, la producción de la neurotoxina de *C. botulinum* generalmente requiere semanas en el límite de temperatura baja (3.3 °C). De esta manera, Graham *et al.* (1997) citados por Sivertsvik *et al.* (2002) encontraron crecimiento y producción de toxinas a partir de esporas de *C. botulinum tipo B, E* y *F* después de 5 semanas a 3 °C, 3 - 4 semanas a 4 °C y 2 - 3 semanas a 5 °C. El crecimiento fue más frecuente a partir de esporas de tipo F que de cepas de los tipos B y E.

En la Tabla 12 se muestra los resultados de publicaciones sobre el crecimiento y la producción de toxinas por *C. botulinum* en productos de la pesca envasados en atmósferas protectoras.

Tabla 12. Resultados de publicaciones sobre el crecimiento y la producción de toxinas por *C. botulinum* en productos de la pesca envasados en atmósferas protectoras.

Type of fishery product	Storage temperature (°C)	Atmosphere CO ₂ : N ₂ : O ₂	Inoculum level (spores g ⁻¹)	Toxin detection (days)	Shelf-life (days)	Reference
Salmon fillet	16	Air	100	4	4	Reddy <i>et al.</i> (1997b)
	16	75 : 25 : 0	100	4	5-6	
	16	Vacuum	100	3	3	
	8	Air	100	17	13-17	
	8	75 : 25 : 0	100	24	20-24	
	8	Vacuum	100	10	> 6, < 10	
	4	Air	100	> 66	24-27	
	4	75 : 25 : 0	100	> 80	55-62	
	4	Vacuum	100	> 66	34-38	
Tilapia filets	16	Air	100	4	3	Reddy <i>et al.</i> (1996)
	16	75 : 25 : 0	100	4	4	
	16	Vacuum	100	3	3	
	8	Air	100	20	6	
	8	75 : 25 : 0	100	40	17	
	8	Vacuum	100	17	10	
	4	Air	100	> 47	10	
	4	75 : 25 : 0	100	> 90	80	
	4	Vacuum	100	> 90	47	
Catfish filets	16	Air	100	3	3	Reddy <i>et al.</i> (1997a)
	16	75 : 25 : 0	100	4	4	
	16	Vacuum	100	3	3	
	8	Air	100	9	6	
	8	75 : 25 : 0	100	18	13	
	8	Vacuum	100	6	6	
	4	Air	100	> 54	13	
	4	75 : 25 : 0	100	> 75	38-40	
	4	Vacuum	100	46	20-24	
Cod filets	16	Air	100	> 7	3-4	Reddy <i>et al.</i> (1999)
	16	75 : 25 : 0	100	7	6	
	16	Vacuum	100	7	3-4	
	8	Air	100	> 41	13-17	
	8	75 : 25 : 0	100	> 60	24-27	
	8	Vacuum	100	17	13	
	4	Air	100	> 60	20-24	
	4	75 : 25 : 0	100	> 90	55-60	
	4	Vacuum	100	> 5	24-27	
Rainbow trout filets	10	Vacuum-skin packaging	10 ³ -10 ⁴	6	3	Garren <i>et al.</i> (1995)
	4	Vacuum-skin packaging	10 ³ -10 ⁴	> 21	12	
Channel catfish	10	Air	100-2000	4	4-6	Cai <i>et al.</i> (1997)
	10	80 : 20 : 0 Masterbag	100-2000	6	6	
	10	80 : 20 : 0	100-2000	4	2-6	
	4	Air	100-2000	9	9	
	4	80 : 20 : 0 Masterbag	100-2000	> 30	9-12	
	4	80 : 20 : 0	100-2000	18	9-12	

FUENTE: Sivertsvik *et al.* (2002).

Gibson y Davis (1995); citados por Sivertsvik *et al.* (2002) manifestaron que el Comité Asesor sobre la Seguridad Microbiológica de los Alimentos (ACMSF) en el Reino Unido, publicó en 1992 un informe sobre envasado al vacío y procesos asociados. Su conclusión fue que, si la temperatura de almacenamiento y la vida útil son menores que 10 °C y 10 días, respectivamente, el riesgo es bajo. Para productos con una vida útil de más de 10 días, que no están sometidas a un tratamiento térmico que proporcione la suficiente inactivación de las esporas de psicrótrofos de *C. botulinum*, las combinaciones de factores de conservación tales como el pH (<5), sal (> 5%) y actividad de agua (<0,97) deberían establecerse para evitar el crecimiento de psicrótrofos de *C. botulinum*.

Como el abuso de temperatura es común en toda la cadena de distribución y venta al por menor, ACMSF presentó recomendaciones aún más estrictas en 1994, aunque no había evidencia de la enfermedad causada por el envasado al vacío o EAM en alimentos refrigerados (Davis, 1998; citados por Sivertsvik *et al.*, 2002). Cuando el almacenamiento refrigerado es el único factor que controla, la vida útil debe limitarse a 5 días cuando el almacenamiento se da a temperaturas entre 5 y 10 °C; y la vida útil superior a 10 días podría ser asignado para las temperaturas de almacenamiento menores a 5 °C.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto Tecnológico de la Producción – ITP:

- Planta procesadora N° 1.
- Laboratorio de análisis físico-químico del ITP.
- Laboratorio de microbiología del ITP.
- Laboratorio de análisis sensorial de alimentos del ITP.

3.2 Materiales y equipos

3.2.1 Materia prima

Se trabajó con anchoveta (*Engraulis ringens*) en óptimo estado de frescura; la que fue adquirida del muelle artesanal pesquero del Callao, capturada mediante el sistema de red de cerco (boliche o bolichito) y transportada en contenedores aislados con agua y hielo (cremolada) en una proporción de 1:1:2 (pescado: agua: hielo) (recomendado por Ayala *et al.*, 2001), con lo que el sistema alcanzó una temperatura de 0.7 °C. El pescado fue transportado a la planta procesadora N°1 del ITP, donde llegó nueve horas después de su captura y con una temperatura de 1.6 °C en el músculo.

3.2.2 Material de empaque

- **Envase semirígido** de bandeja de poliestireno para que contenga la anchoveta: Bandeja Profunda 4, BP4 (poliestireno espumado); de color blanco cuyas dimensiones fueron: 23.4 cm de largo x 18.2 cm de ancho x 2.5 cm de profundidad. Su peso promedio es de 6.30 g y se obtuvo del proveedor Pamolsa (Figura 9).



Figura 9. Bandeja Profunda 4, BP4 (poliestireno espumado).

- **Envase flexible** es una bolsa plástica para cubrir anchoveta contenida en bandeja: Lámina coextruida de alta barrera (bolsa tipo pouch P7340B) de 27.5 cm de ancho x 28 cm de largo (Figura 10); constituida por (a) Nylon (PA), como capa externa; con excelente resistencia a las grasas, barrera moderada de oxígeno, (b) Polietileno Lineal de Baja Densidad (LLDPE), como capa interna; con buena capacidad de sellado y (c) Etilen Vinil Alcohol (EVOH), como capa central; con excelente propiedades barrera a los gases. El espesor es de 4.0 mils (milésimas de pulgada), la velocidad de transmisión al vapor de agua (a 38 °C, 90%HR) es 7 g/m²/día y la velocidad de transmisión al O₂ (a 23 °C, 0%HR) es 3 cc/m²/día. Se obtuvo del proveedor Sealed Air. En anexo 1, se adjunta la ficha técnica.



Figura 10. Lámina coextruida de alta barrera (bolsa, tipo pouch P7340B).

- **Material absorbente** (colocados al fondo de la bandeja, para absorción de exudados): Almohadillas absorbentes (C-40) de color blanco cuyas dimensiones fueron: 17.8 cm de largo x 7cm de ancho; constituidas por: una película de polietileno perforado con válvulas de una sola vía, pulpa de papel virgen de alta absorbencia y una película de polietileno con capa superior no-permeable. La capacidad de absorción es de 40-45 g, peso promedio 1.73 g y se obtuvo del proveedor Pamolsa (Figura 11).



Figura 11. Almohadillas absorbentes (C-40) de color blanco.

3.2.3 Reactivos químicos

- Éter etílico o de petróleo.
- Sulfato de sodio anhidro.
- Ácido Bórico (BO_3H_3).
- Solución Saturada de carbonato de potasio.
- Vaselina.
- Solución de ácido clorhídrico 0.02N.
- Solución de ácido tricloro acético al 20 %.
- Resina Dowex 1x4 (Cl type, 200-400 mesh).
- Acido perclórico al 10 %.
- Hidróxido de potasio KOH al 50 %.
- Solución amoniacal pH 11.
- Ácido clorhídrico 0.0035N.
- Cloruro de sodio 0.6M.
- Standard de Histamina.
- Acetato de sodio (p.a.).
- Ácido acético Glacial (p.a.).
- Ácido clorhídrico (p.a.)
- Ácido tricloroacético (p.a.).
- Amberlita CG-50 (Resina de intercambio catiónico).
- Di clorhidrato de histamina (p.a.).
- Hidróxido de sodio (p.a.).
- Metanol
- O – Ftalaldehido (97% p.a.).

3.2.4 Reactivos microbiológicos y medios de cultivo

- Solución tamponada de Butterfield.
- Agar de recuento en placas (PCA: Standard Plate Count).
- Agua de peptona.
- Agua de peptona salina.
- Agar cetrimide.
- Agar sulfito polimixina sulfadiazina (SPS).
- Agar triptona sulfito de sodio neomicina (TSN).

3.2.5 Material de vidrio

- Balones de vidrio.
- Beaker de 100 ml.
- Placas Conway.
- Probeta de 100 ml.
- Matraz de 300 ml con tapa esmerilada.
- Embudo.
- Fiola de 25 ml, 50 ml, 100 ml.
- Pipetas de 1 ml, 10 ml.
- Pipetas volumétricas de 1 ml, 2 ml, 5 ml.
- Papel de aluminio.
- Bagueta delgada.
- Vasos de precipitado de 50 ml, 100 ml, 250 ml.
- Fiolas con tapa polietileno de 25 ml, 50 ml, 100 ml, 1000 ml, 2000 ml.
- Columnas Cromatográficas con llave de vidrio o teflón.
- Embudos de vástago corto 75 mm.
- Lana de vidrio.
- Placas petri.

3.2.6 Otros materiales

- Dedal de extracción (Whatman de celulosa).
- Una torunda de gasa o algodón
- Papel filtro.
- Agua destilada.
- Mezcla de gases (60%CO₂ y 40%N₂), adquirida de MESSER Gases del Perú S.A.
- Contenedores plásticos
- Bandejas plásticas.
- Hielo.
- Tijera
- Cuchillos
- Cinta métrica.
- Mesas de acero

3.2.7 Equipos

- Analizador de gases OXYBABY, proporcionado por MESSER Gases del Perú S.A.
- Cámara de refrigeración a 0-2 °C
- Refrigeradora.
- Máquina Envasadora con Campana de Vacío, MULTIVAC Modelo C200. Tecnología Alemana.
- Selladora Manual de Impulso, Modelo EM-PFS-300.
- Aparato de extracción soxhlet (condensador, extractor, matraz, receptor).
- Baño María MEMMERT, Tipo WB10.
- Balanza analítica, METTLER H35AR, Rango/ Sensibilidad 160/ 0.0001g.
- Estufa 101 °C +/- 2 °C.
- Desecador
- Microbureta.

- Licuadora.
- Homogenizador, NISSEI, Modelo IS-3BH.
- Incubadora 37 °C.
- Vaso homogenizador con cuchillo.
- Columna de Intercambio Iónico CG-50.
- Potenciómetro Mettler Toledo. Modelo S20K Seven Easy, para lectura se utilizó un Electrodo marca Sensorex.
- Cromatógrafo líquido Perkin Elmer Series 200.
- Espectrofluorómetro Shimadzu. Modelo RF 1501 con rango de lectura de 360 a 450 nm.
- Agitador magnético de velocidad graduable.
- Cronómetro con alarma audible.
- Micro pipeta de 40 a 200 uL (incrementos de 1 uL).

3.3 Métodos de análisis

3.3.1 Análisis de gases

La composición porcentual de los gases en el espacio de cabeza - para tratamiento envasado en atmósfera modificada - se determinó por medio de un analizador de gases Oxybaby, debidamente calibrado (Figura 12).

Oxybaby, es un equipo portátil e inalámbrico, provisto de una aguja la cual es introducida en el interior del empaque a analizar, reportando en un tiempo de aproximadamente cinco segundos las concentraciones de CO₂ y O₂; por diferencia se obtiene la concentración de N₂. Los análisis se realizaron por duplicado. La composición del gas contenido en el espacio de cabeza del producto envasado en EAM en el día 0 se consideró como valor inicial.

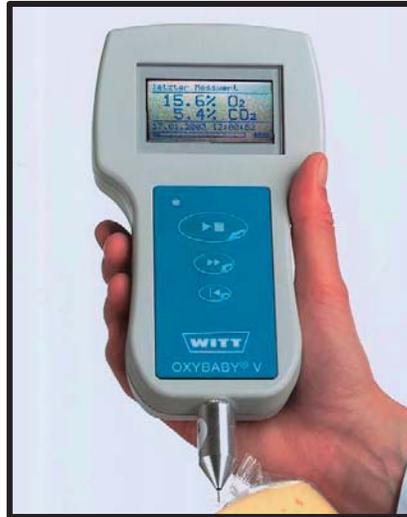


Figura 12. Analizador de gases Oxybaby.
FUENTE: WITT-GASETECHNIK

3.3.2 Análisis físico – químico

- a. **Determinación de proteína.** Método semi-micro Kjeldahl recomendado por la FAO (1986), empleando el factor 6.25 para obtener proteína total.
- b. **Determinación de grasa cruda.** Método de Soxhlet, recomendado por la FAO (1986).
- c. **Determinación de humedad.** Método de la FAO (1986).
- d. **Determinación de ceniza.** Método de la FAO (1986).
- e. **Determinación del peso.** Método gravimétrico.

- f. Determinación de longitud.** Se usó una regla milimetrada, la que fue colocada sobre una superficie plana y se procedió a realizar las medidas de cada espécimen.
- g. Determinación de escurrido libre (% *Drip*).** Se determinó por diferencia de pesos (final –inicial), los resultados se expresaran en porcentaje.
- h. pH.** Método potenciométrico, AOAC (1995). Se pesó 5 g del músculo homogenizado de anchoveta y se agregó 45 ml de agua desionizada.
- i. Determinación de trimetilamina (TMA).** Método de Conway. Recomendado por Conway (1933), modificado con la adición de formaldehído para capturar el nitrógeno amoniacal.
- j. Determinación de bases nitrogenadas volátiles totales (N-BVT).** Método de Cuantificación por microdifusión o Método de Conway. Recomendado por Conway (1933).
- k. Determinación de histamina.** Método Fluorométrico. Recomendado por Lerke y Bell (1976).
- l. Análisis de la frescura química del pescado (valor K o índice K):** El valor K, fue calculado de acuerdo a la ecuación propuesta por Saito *et al.* (1959):

$$\text{valor K (\%)} = [(\text{Hx} + \text{Ino}) / (\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP} + \text{IMP} + \text{Hx} + \text{Ino})] \times 100$$

La determinación cuantitativa del ATP y sus productos de degradación: adenosina difosfato (ADP), adenosina monofosfato (AMP), inosina monofosfato (IMP), inosina (INO) e hipoxantina (Hx); fueron separados e identificados por adaptación

del Método de Ryder (1985) o Método de Separación Cromatográfica. Las lecturas fueron realizadas a 254 nm en un cromatógrafo líquido Perkin Elmer Series 200. Los estándares de referencia fueron adquiridos de Sigma Chemical Company.

3.3.3 Análisis microbiológico

- a. **Número de microorganismos *Aerobios mesófilos*.** Método convencional de recuento en placa (SPC) para la determinación del número de células viables; FDA (1995).
- b. **Número de bacterias psicrófilas;** según APHA (1992).
- c. **Número de *Pseudomonas spp*;** recomendado por Carbajal (1991).
- d. **Número de *Staphylococcus aureus*;** según ISO 6888-1: 1999.
- e. **Número de *Enterobacterias*;** según ICMSF (1998).
- f. **Número de *Salmonella spp*;** según ISO 6579: 2002.
- g. **Número de *Shigella spp*;** según ICMSF (2002).

3.3.4 Análisis sensorial

La evaluación sensorial estuvo a cargo de un panel de siete personas, previamente entrenadas con conocimientos en evaluación sensorial básica y familiarizados con la evaluación sensorial del producto. Fue llevada a cabo en cabinas individuales en condiciones controladas de luz, temperatura y humedad.

Se empleó un test descriptivo mediante una escala hedónica del 1 al 5 (Tabla 13), la cual fue elaborada mediante pruebas preliminares, tomando como referencia la propuesta por Ayala *et al.* (2001). Una puntuación de 5 correspondían a un producto “muy fresco”, 4 producto “fresco”, 3 producto en el “límite de aceptabilidad”, 2 producto “ligeramente desagradable” y 1 producto “Inaceptable”.

Los panelistas evaluaron la apariencia y textura en muestras de pescado crudo; mientras que sabor y olor en muestras de pescado cocido. Aproximadamente, 20-25 g (un espécimen) de muestra fueron envasadas en bolsas de nylon-polietileno, selladas y colocadas en agua hirviendo por cinco minutos (tomado como referencia de Salas *et al.*, 2008). A cada panelista se le presentaba dos muestras (una muestra cruda y una muestra cocida) por tratamiento para la evaluación de las características descritas en la Tabla 13. Además muestras de anchoveta fueron reservadas en congelación (-20 °C), para ser presentadas a los panelistas previamente descongeladas (a temperatura ambiente) en el momento de la evaluación; esto sirvió como muestra control.

Las muestras de anchoveta fueron evaluadas hasta que los atributos sensoriales (apariencia, textura, olor y sabor) estén por debajo del límite de aceptabilidad de 3 para cada uno de los tratamientos estudiados; es decir hasta que los especímenes sean considerados inaceptables.

Tabla 13. Método de evaluación sensorial para anchoveta (*Engraulis ringens*).

Atributo	Descripción	Calificación/ Escala
Apariencia (músculo crudo)	Muy brillante, verde azulado, iridiscente en todo el cuerpo, piel intacta, cavidad ventral intacta	5
	Brillante, poco iridiscente, piel intacta, cavidad ventral intacta.	4
	Pérdida de iridiscencia, piel poco rasgada, bordes de cavidad ventral ligeramente color pardo y con desprendimiento de algunas espinas.	3
	Opaca, piel resquebrajada, rasgada, cavidad ventral color pardo y con desprendimiento de espinas.	2
	Totalmente opaca, piel muy deteriorada, cavidad ventral color pardo y con desprendimiento de espinas.	1
Textura (músculo crudo)	Muy firme y elástica, músculo retorna rápidamente al ser presionado.	5
	Poco firme y elástica, retorna al ser presionado.	4
	Poca elasticidad, demora en retornar al ser presionado.	3
	Blanda, no retorna al ser presionado.	2
	Muy flácida.	1
Olor (músculo cocido)	Característico de anchoveta muy fresca, a mar.	5
	Característico, agradable.	4
	Intenso a pescado, ausencia de olores extraños.	3
	Desagradable, ligeramente rancio, fermentado.	2
	Muy desagradable, oleoso, muy rancio.	1
Sabor (músculo cocido)	Muy agradable, succulento, característico de la especie.	5
	Agradable a pescado, buen sabor.	4
	Intenso a pescado. Ausencia de sabores extraños.	3
	Desagradable, ligeramente rancio y fermentado.	2
	Muy desagradable	1

3.3.5 Análisis estadístico

La data obtenida fue sometida a un Análisis de Varianza (ANVA) conducido en bloques, donde el factor en estudio fue el tipo de envasado y el factor de bloque los días de almacenamiento. Para la aplicación de éste análisis se verificó el cumplimiento de los supuestos de normalidad de errores y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro y Bartlett respectivamente (ver anexo 2). Las comparaciones múltiples entre tratamientos se hicieron mediante la prueba de Duncan con un nivel de significación del 5%. Se utilizó el programa estadístico R versión 3.1.2.

3.4 Metodología experimental

El diseño experimental enfoca el estudio de la influencia del envasado en atmósfera modificada, al vacío y en condiciones atmosféricas normales/aire sobre indicadores físico-químicos, microbiológicos y sensoriales que permiten establecer el nivel de calidad a lo largo del proceso de almacenamiento.

3.4.1 Envasado en atmósfera protectora de la anchoveta

Con la finalidad de conseguir los objetivos planteados, se presenta en la Figura 13 el flujo de operaciones a realizar durante la investigación; y posteriormente la descripción de las mismas.

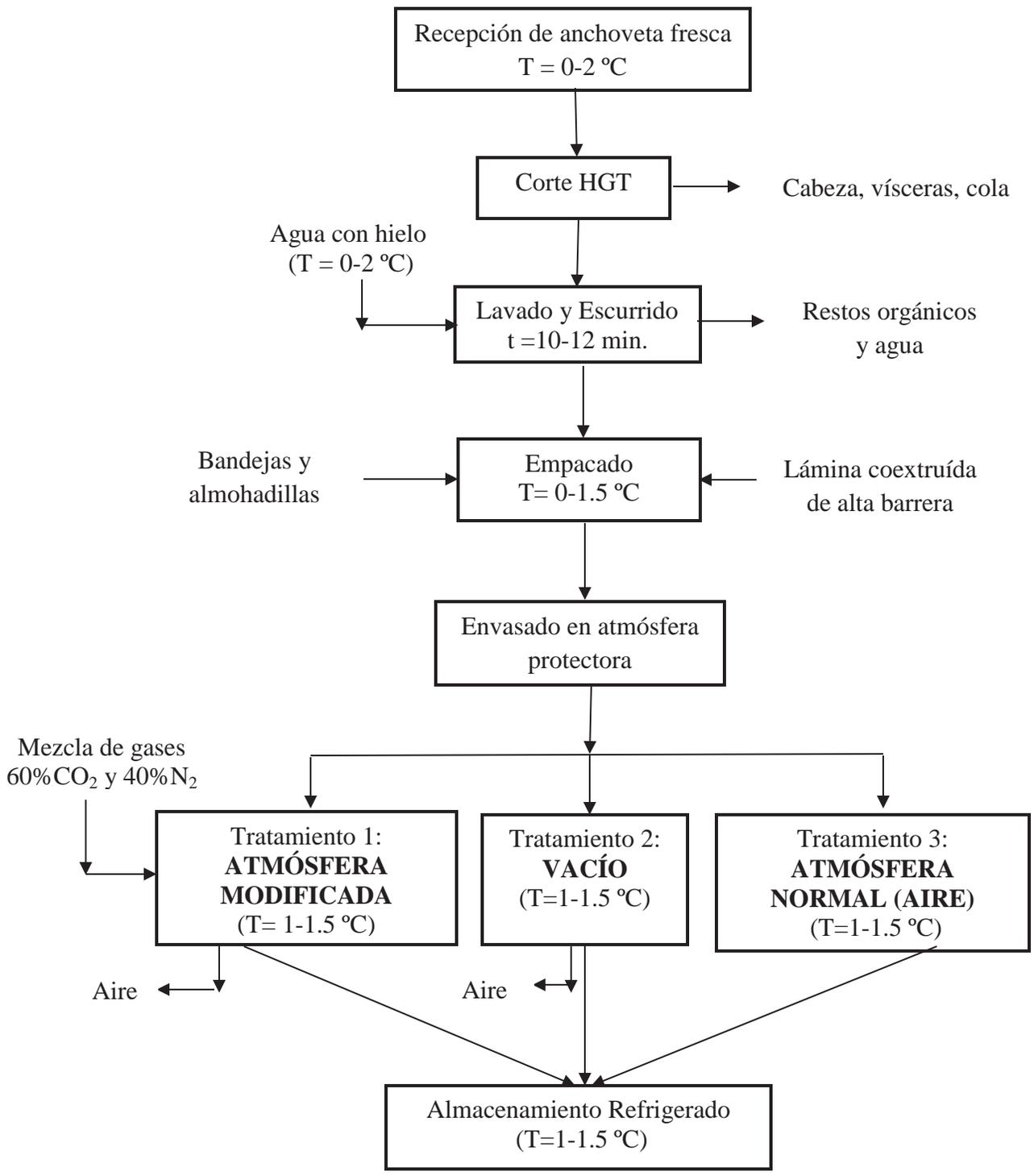


Figura 13. Diagrama de flujo de la anchoveta fresca en corte HGT envasada en atmósfera protectora.

a. Recepción de la materia prima

Se recepcionó 50 Kg de anchoveta fresca en contenedores isotérmicos en agua y hielo (cremolada: en una proporción de 1:1:2 / pescado: agua: hielo, recomendado por Ayala *et al.*, 2001), manteniendo la temperatura entre 0 a 2 °C. Para la caracterización de la materia prima se realizaron los siguientes análisis:

-Análisis físico-químicos: Composición química proximal, determinación del peso y longitud, pH, trimetilamina (TMA), bases volátiles totales (BVT), histamina, frescura química (valor K).

-Análisis microbiológicos: *Aerobios mesófilos*, Psicrófilos, *Pseudomonas spp.*, y *Enterobacterias*.

-Análisis sensorial: Apariencia y textura (en muestras de pescado crudo); y olor y sabor (en muestras de pescado cocido).

b. Corte HGT

Se realizó un corte HGT sobre la materia prima (sin cabeza, vísceras ni cola), quedando tal y como se muestra en la Figura 14. Se seleccionó a la vez aquellas que no cumplían las condiciones apropiadas de frescura y calidad, según la longitud y peso para obtener un promedio de estas variables. La cabeza fue eliminada mediante un corte transversal recto a la altura posterior de las aletas pectorales; haciendo uso de una tijera o cuchillo, de tal manera que se separe la cabeza de la columna y antes de terminar el corte desgarrar o jalar, asegurando de esta manera la extracción de las vísceras, tolerándose la presencia de gónadas.



Figura 14. Anchoveta (*Engraulis ringens*), en corte HGT (sin cabeza, vísceras y cola).

c. Lavado y Escurrido

La anchoveta en corte HGT contenida en canastillas plásticas tipo colador, fue sumergida en tres dynos colocados de manera sucesiva que contenían agua con hielo (0-2 °C); garantizando de esta manera la eliminación de toda la sangre, restos de vísceras o cualquier otra sustancia que pudiera quedar adherida a su superficie. Posteriormente, los especímenes fueron escurridos en el menor tiempo posible, para eliminar el exceso de agua antes de la etapa del empacado. Toda esta etapa se llevó a cabo por un periodo de 10-12 min aproximadamente (Figura 15).



Figura 15. Anchoveta (*Engraulis ringens*), lavada y escurrida.

d. Empacado

Para el diseño del experimento se determinó una cantidad adecuada de producto, teniendo en cuenta la posible comercialización, manipulación y análisis programados del mismo; por lo que se fijó una cantidad de 300-310 g de anchoveta por bandeja (20-22 especímenes, aproximadamente). De esta manera, las muestras fueron colocadas de manera uniforme en bandejas de poliestireno espumado (recomendadas por Martínez *et al.*, 2005 y por Choubert y Baccaunaud, 2006) provistas con tres almohadillas absorbentes cada una (recomendadas por Choubert y Baccaunaud, 2006; Mendes y Goncalves, 2008; García de Fernando *et al.*, 2011), tal y como se observa en la Figura 16; posteriormente dichas bandejas conteniendo el producto, fueron colocadas dentro de una lámina coextruida de alta barrera (bolsa tipo pouch P7340B) (recomendada por Pantazi *et al.*, 2008; Muratore y Licciardello, 2005; Poli *et al.*, 2006). Esta etapa se llevó a cabo en una cámara de refrigeración a una temperatura de 0-1.5 °C. Se empacó un total de 120 bandejas.



Figura 16. Muestras de anchoveta (*Engraulis ringens*), colocadas de manera uniforme en bandeja provista con tres almohadillas absorbentes.

e. Envasado en atmósfera protectora

En esta operación se realizó la modificación de la atmósfera interna del producto empacado anteriormente, para ello las bandejas fueron distribuidas de forma aleatoria en tres grupos. Para el grupo 1, se tomaron 54 bandejas para ser envasadas con EAM; para el grupo 2, se tomaron 39 bandejas para ser envasadas con EV y las 27 bandejas restantes fueron envasadas con A. A continuación se describe el envasado para cada tipo de atmósfera:

✓ **TRATAMIENTO 1 (T₁): Envasado en atmósfera modificada**, se hizo uso de una máquina envasadora con campana de vacío. Para ello, las 54 bandejas fueron colocadas una por una dentro de la máquina envasadora; quedando el extremo abierto de la bolsa sobre la barra de sellado de la máquina. Enseguida, se procedió a seleccionar en la máquina el programa; el cual fue determinado por pruebas preliminares y fue:

- Presión de vacío = automático
- Presión de gas = 630 mbar
- Tiempo de sellado = 1.6 s
- Ancho de sello = 6mm

Posteriormente, se dió inicio al proceso de envasado al cerrar la tapa de la máquina y pulsando el boton inicio. En esta etapa se realizó: (a) la evacuación del aire atmosférico, (b) la inyección de la mezcla de gases (60%CO₂ y 40%N₂) en relación de 2:1 (gas/producto), tomado como referencia de trabajos de investigación realizados en especies grasas por Ozogul *et al.* (2002a); Ozogul *et al.* (2004); Ozogul, F y Ozogul, Y (2006); Ozogul *et al.* (2007); entre otros y (c) el sellado. Todas estas etapas (evacuación, inyección de gases y sellado) se llevaron a cabo de forma automática en función de los parámetros programados anteriormente mencionados. Terminado el proceso de envasado, la tapa de la campana se abrió de manera automática y se procedió a retirar los envases listos junto con el borde sobrante de la

bolsa por la costura de separación. En la Figura 17, se muestran algunas bandejas conteniendo anchovetas envasadas en atmósfera modificada (EAM).



Figura 17. Muestras de anchoveta (*Engraulis ringens*) envasadas en atmósfera modificada (EAM).

- ✓ **TRATAMIENTO 2 (T₂): Envasado al vacío**, se hizo uso de la máquina envasadora con campana de vacío. Para ello, las 39 bandejas fueron colocadas una por una dentro de la máquina envasadora; quedando el extremo abierto de la bolsa sobre la barra de sellado de la máquina. Enseguida, se procedió a seleccionar en la máquina el programa; el cual fue determinado por pruebas preliminares y fue:
- Presión de vacío = automático
 - Presión de gas = 0 mbar
 - Tiempo de sellado = 1.6 s
 - Ancho de sello = 6mm

Posteriormente, se dió inicio al proceso de envasado al cerrar la tapa de la máquina y pulsando el boton inicio. En esta etapa se realizó sólo la evacuación del aire atmosférico. Terminado el proceso de envasado, la tapa de la campana se abrió de manera automática y se procedió a retirar las bandejas envasadas al vacío (EV), junto con el borde sobrante de la bolsa por la costura de separación.

- ✓ **TRATAMIENTO 3 (T₃): Envasado en condiciones atmosféricas normales/Aire (A)**, finalmente las 27 bandejas restantes, fueron selladas sin modificación alguna de la atmósfera interna; en una máquina selladora manual. El ancho de sello fue 6mm y el borde sobrante de la bolsa fue retirado por la costura de separación.

Para todas las bandejas envasadas en los tres tratamientos, la línea de sello se fijó a dos centímetros del borde de la bolsa (determinado por pruebas preliminares).

f. Almacenamiento Refrigerado

En esta última operación se almacenaron las 120 bandejas en sus respectivas atmósferas de envasado, en cinco contenedores isotérmicos (cuyas dimensiones fueron: 90.2 cm de largo, 54.5 cm de ancho y 44 cm de alto) a una temperatura de 1-1.5 °C. La capacidad de cada cooler fue de 24 bandejas, las cuales fueron colocadas de manera alterna con una capa de hielo en cubos. El hielo fue cambiado cada tres días.

Cabe resaltar que las bandejas utilizadas para el control de la temperatura así como las bandejas utilizadas para el análisis de los gases en el espacio de cabeza, no fueron incluidas en los análisis realizados durante todo el periodo de almacenamiento.

3.4.2 Determinación del tiempo de Vida Útil

Para la determinación del tiempo de vida útil se utilizó el Método directo, en el que se evaluó el producto en tiempo real. En Tabla 14, se detalla lo planificado para realizar dicha determinación.

Tabla 14. Planeamiento para la determinación del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada con EAM, EV y A.

	Tipo de envasado		
	54 bandejas con EAM	39 bandejas con EV	27 bandejas con A
T° almacenamiento	1 – 1.5°C	1 – 1.5°C	1 – 1.5°C
Frecuencia de análisis	diario	diario	diario
Tamaño de muestra	3 bandejas	3 bandejas	3 bandejas
Índices a analizar / Límite de aceptabilidad	<ul style="list-style-type: none"> • Físico-químicos (*): <ul style="list-style-type: none"> ✓ TMA / (5mg/100g) ✓ BVT / (30mg/100g) ✓ Histamina / (5mg/100g) ✓ Valor K / (>40%) • Microbiológicos (*): <ul style="list-style-type: none"> ✓ <i>Aerobios mesófilos</i> / (5×10^5UFC/g) (a) ✓ Psicrófilos / ($10^6 - 10^7$UFC/g) (b) ✓ <i>S. aureus</i> / (10^2UFC/g) (c) ✓ <i>Salmonella</i> / (ausencia en 25g) (d) ✓ <i>Shigella</i> / (ausencia) (e) • Sensoriales: <ul style="list-style-type: none"> ✓ Apariencia / (3) ✓ Textura / (3) ✓ Olor / (3) ✓ Sabor / (3) 	ídem EAM	ídem EAM
Tiempo de almacenamiento	14 días	11 días	7 días

(*)Todos los análisis se realizaron por triplicado

(a)Límite recomendado por norma sanitaria – MINSA (2008).

(b)Límite recomendado por FAO (1995).

(c)Límite recomendado por norma sanitaria – MINSA (2008).

(d)Límite recomendado por norma sanitaria – MINSA (2008).

(e)Límite recomendado por Andino y Castillo (2010).

Finalmente, toda la data obtenida a partir de los índices considerados a evaluar en Tabla 14, fue analizada haciendo uso de la cinética de reacción, recomendada por Casp y Abril (2003). Para ello, los valores de los diferentes índices y teniendo en cuenta los límites de aceptabilidad para cada índice se representaron gráficamente frente a las condiciones de almacenamiento (tiempo/días) a temperatura constante. De esta manera se determinó un tiempo crítico para cada índice. Se seleccionó como el tiempo de vida útil del producto aquel tiempo crítico menor.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Composición química proximal de la anchoveta

La composición química de las muestras de anchoveta fresca en el día cero, es presentada en Tabla 15. Éstos resultados son muy similares a los reportados por otros autores para anchoveta peruana: Maza *et al.* (2008); Salas *et al.* (2008); y CBT (1996). Huss (1998), manifiesta que la composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año; sobre todo refiere que la composición química del pez está estrechamente relacionada con la alimentación, nado migratorio y cambios sexuales relacionados con el desove.

Tabla 15. Composición química proximal (%) de la anchoveta (*Engraulis ringens*).

Composición	Valor (%)
Proteína	17.75 ± 0.173
Grasa	7.84 ± 0.164
Humedad	71.19 ± 0.056
Ceniza	1.88 ± 0.04

Dávalos *et al.* (2005), manifiestan que el pescado con mas de 5% de grasa, se encuentra dentro de la clasificación de pescado graso ó también conocido como pescado azul. Teniendo en cuenta el contenido graso de 7.84% reportado en Tabla 15, se puede afirmar que la anchoveta se encuentra dentro de la clasificación de pescado graso o azul.

4.2 Peso y longitud

Las muestras de anchoveta utilizadas en este estudio presentaron en promedio una longitud total y un peso de 14.42 ± 0.72 cm y 23.87 ± 4.02 g, respectivamente; mientras que la longitud promedio sin cabeza y sin cola fue 11.8 cm y el peso promedio (sin cabeza, vísceras ni cola) de 14.67 g.

Maza *et al.* (2008) reportaron resultados muy similares para anchoveta, manifestando que las muestras tuvieron en promedio una longitud total y un peso de 14.06 ± 0.6 cm y 25 ± 1.7 g, respectivamente. Por otro lado, Ayala *et al.* (2001) determinaron también para anchoveta peruana una longitud y un peso promedio de 15.79 ± 0.48 cm y 31.99 ± 5.45 g, respectivamente; manifestando que el tamaño de los especímenes utilizados estuvo comprendido en el rango extragrande.

Según Salas *et al.* (2008) manifestaron que los tamaños comerciales fluctúan entre 12 y 16 cm. Perea y Roque (2005), citados por Mori *et al.* (2011) también manifiestan que tallas mayores o iguales a 12 cm de largo total es un indicativo de ejemplares de anchoveta adulta de primera madurez gonadal. Según lo dicho, se podría decir que en este estudio las muestras de anchoveta estuvieron comercialmente aptas para el consumo.

4.3 Gases en el espacio de cabeza

En Tabla 16, se observa que la concentración del CO₂ en el espacio de cabeza de las bandejas envasadas con EAM, disminuyó desde 60% a 49.45%, durante los 10 primeros días en que se llevó a cabo dicho análisis. Wang *et al.* (2008) para lomos de bacalao empleando una atmósfera de 50% CO₂ / 45% N₂ / 5% O₂; reportaron que la concentración del CO₂ disminuyó desde 50.7% hasta 33.1%, 4 días después del envasado; y que ésto fue debido a la disolución del CO₂ en la fase acuosa de la carne del pescado. Kalleda *et al.* (2013) también reportaron que la concentración del CO₂ disminuyó desde 59.5% a 42.63% durante 10 días de

almacenamiento en un estudio sobre extensión de la vida útil de camarones envasados en atmósfera modificada.

Tabla 16. Análisis de gases en el espacio de cabeza de las muestras de anchoveta envasadas con atmósfera modificada.

Tiempo (Días)	%O ₂	%CO ₂	%N ₂
0	-	60	40
1	3.15	54.85	42
3	0.9	54.05	45.05
8	0.3	52.1	47.6
10	0.3	49.45	50.25

Con respecto a la concentración del O₂, en Tabla 16, se observa que la concentración de dicho gas en el día 1 fue 3.15%; luego disminuyó con el transcurso del almacenamiento y a partir del día 8 se mantuvo constante (0.3%) hasta el final del análisis (día 10). Cabe resaltar que en el día cero, no se realizó el análisis de gases en ninguna bandeja; sin embargo, según estos resultados, se podría afirmar que en el día cero sí hubo O₂ residual. Graciano *et al.* (2006) sostienen que los niveles de O₂ residual en los alimentos envasados en EAM varían entre 0.3-3.0%.

Choubert *et al.* (2008) también reportaron para filetes de trucha arco iris envasados con 2 tipos de atmósferas (60% Ar / 40% CO₂ y 60% N₂ / 40% CO₂), una proporción creciente de O₂ se observó hasta 15 días de almacenamiento, el cual luego disminuyó a cero al final del almacenamiento (26 días). Fletcher *et al.* (2002); citados por Choubert *et al.* (2008) manifiestan que una posible explicación sería que el O₂ inicialmente contenido en el músculo del pescado se propagaría dentro de la bandeja lo que originaría dicho incremento; y que posteriormente debido a una fuga lenta del O₂ a través de la película y además al consumo por la flora aeróbica ocasionaría su disminución.

Con respecto al N_2 , la concentración inicial fue 40%. En Tabla 16 se observa que dicha concentración aumentó ligeramente a medida que disminuyó la concentración del CO_2 . Según Muratore y Licciardello (2005) manifiestan que este ligero incremento no es mas que un aumento aparente ya que la reducción de uno de los gases de la atmósfera (CO_2) determina el incremento relativo proporcional de los otros, aunque sus cantidades siguen siendo las mismas.

En el caso de las bandejas envasadas con aire (A), en el día 1, la composición de la mezcla de gases fue: 20.9% O_2 y 0.7% CO_2 . Para este tratamiento, solo se realizó el análisis de gases en el día 1, por lo que no se tienen datos sobre el progreso de dichos gases; sin embargo se podría considerar lo reportado por Choubert *et al.* (2008) quienes manifestaron que la concentración de gases en filetes de trucha arco iris envasados con aire y almacenados a 2 °C, en el día cero, fue 21% O_2 y 0.2% CO_2 , manifestando además que la concentración del O_2 disminuyó durante el experimento y estaba cerca de 0.3% después de 15 días de almacenamiento; los niveles de CO_2 , aumentaron y llegaron a 18% al final del experimento (26 días).

4.4 Exudado (drip)

En la Figura 18, se observa que el contenido de exudado (drip) en las muestras de anchoveta fresca en corte HGT, aumentó durante el almacenamiento en cada uno de los tratamientos estudiados; el incremento más rápido se dió en muestras EAM a comparación de las muestras EV y A. La misma tendencia fue reportada por Choubert *et al.* (2008) para filetes de trucha y por Barriga *et al.* (2006) para filetes de tilapia. A partir del día 4, 5 y 11 para las muestras envasadas en A, EV y EAM, respectivamente, el contenido de exudado se mantuvo casi constante.

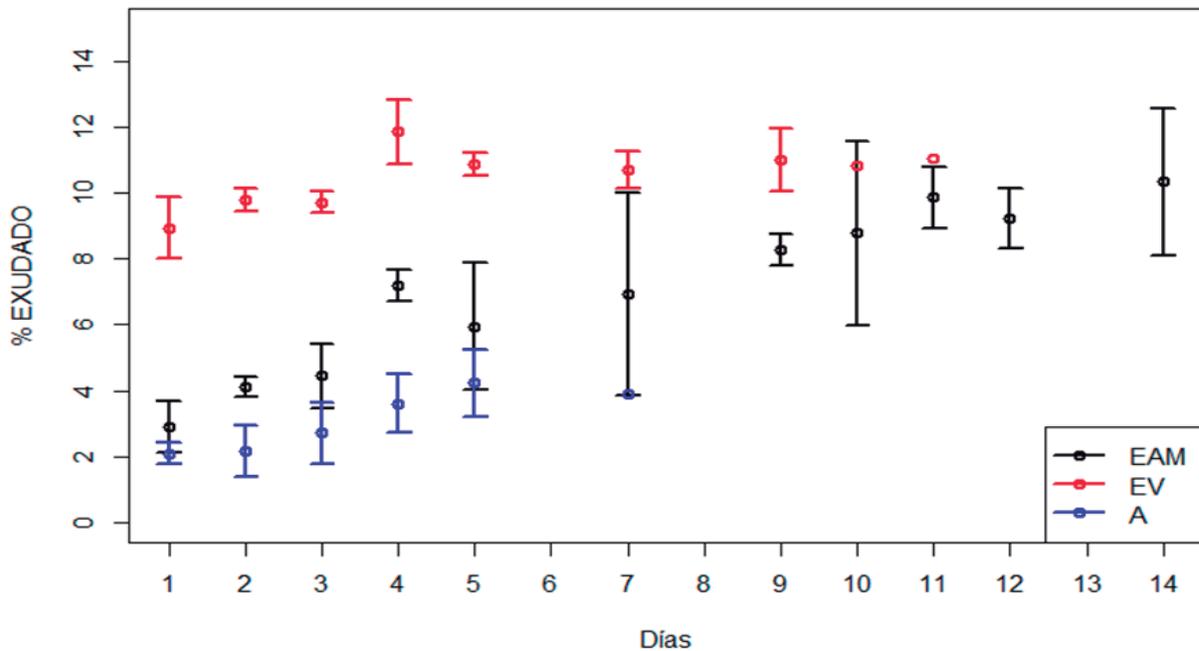


Figura 18: Porcentaje de exudado en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C. Se presentan los promedios de las mediciones realizadas donde las barras de error representan $\pm\sigma$.

El exudado fue mayor en muestras de anchoveta envasadas al vacío (EV), seguido por las muestras EAM; mientras que el tratamiento con Aire fue el que obtuvo el menor contenido de exudado llegando a un valor de 3.60% en el día 4 (día en que se llegó al límite de la aceptación sensorial). Barriga *et al.* (2006) en un estudio sobre evaluación de filetes de tilapia envasados en atmósfera modificada; también reportaron que para el tratamiento envasado con aire la cantidad de exudado fue mucho menor en comparación a los tratamientos envasados con atmósfera modificada. Así mismo, Fagan *et al.* (2004) en un estudio para tres especies de pescado, también reportaron que las muestras envasadas con aire tuvieron menor exudado que aquellas envasadas con EAM.

Para el caso del tratamiento EAM, el contenido de exudado fue de 8.79% en el día 10 (día en que se llegó al límite de la aceptación sensorial). Dalgaard *et al.* (1993) y Guldager *et al.* (1998); citados por Wang *et al.* (2008) reportaron un nivel de 4% a 8% al final de la vida útil del bacalao fresco en EAM. Al respecto, Parry (1993); citado por Heidmann y Oetterer

(2003); manifestaron que el aumento de exudado es causado por la disolución de los gases en la superficie del músculo, en atmósferas que contengan altos niveles de CO₂ reduciendo con ello el pH y, consecuentemente la capacidad de retención de agua de las proteínas. Dalgaard *et al.* (1993); citados por Hansen *et al.* (2007) también reportaron que el exudado incrementa con el incremento de las concentraciones del CO₂ en la atmósfera de envasado.

Con respecto a las muestras envasadas al vacío, el contenido de exudado fue mayor. En este tratamiento se pudo evidenciar desde el inicio del envasado un aumento de la presión en el interior del empaque, como resultado de dicho envasado; tal es así que los especímenes se encontraban presionados a la bandeja y a la bolsa. Ésto, podría ser la razón de la mayor formación de exudado reportado en este tratamiento (10.70%, en el día 7, día en que se llegó al límite de la aceptación sensorial). Esto también coincide con lo reportado por García *et al.*, 2006; quienes manifestaron que en algunos casos se ha observado la acumulación de exudado en productos envasados al vacío durante periodos de tiempo prolongados.

4.5 pH

Se obtuvo que el pH en el músculo postmortem de la anchoveta fresca en el día cero fue 6.09. Al respecto, Ayala *et al.* (2001) para anchoveta peruana (*Engraulis ringens*), Pons (2005) para boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y Goulas y Kontominas (2007) para filetes de dorada (*Sparus aurata*); reportaron en el día cero un pH de 6.0, 6.09 y 6.12, respectivamente, manifestando que dichos valores son un indicativo de frescura para muestras de pescado.

En la Figura 19, se observa que los valores de pH son fluctuantes, con tendencia a incrementar para todos los tratamientos durante el periodo de almacenamiento.

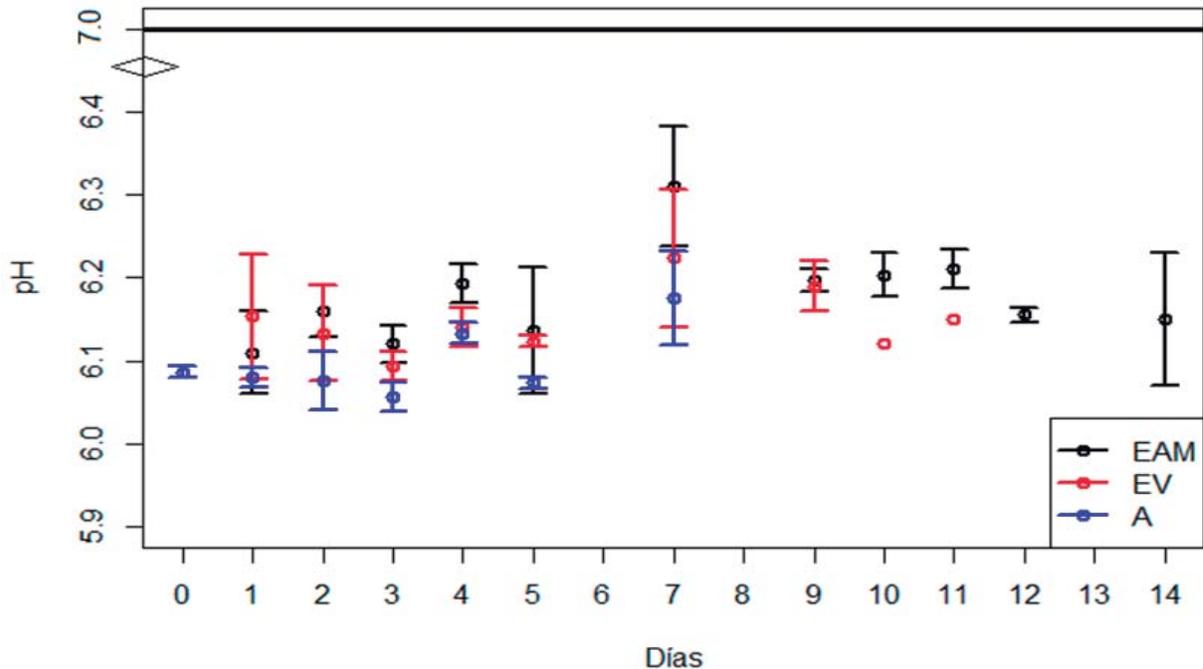


Figura 19: Variación del pH en el músculo de la anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C. Se presentan los promedios de las mediciones realizadas donde las barras de error representan $\pm\sigma$.

Se realizó una análisis de ANVA de los tratamientos para el indicador pH (ver anexo 3A), en el cual se muestra que al analizar los valores promedios del pH de los diferentes tratamientos con un nivel de significación del 5%, se encontró que hay una diferencia significativa entre los tratamientos. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (Tabla 17), se observa valores promedio significativamente menores ($p < 0.05$) en el pH de las muestras envasadas con A en comparación con las muestras envasadas con EAM y EV; sin embargo entre EAM y EV no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$). Esto concuerda con Muratore y Licciardello (2005); quienes tampoco encontraron diferencias entre los valores de pH para filetes de pez espada (*Xiphias gladius*) envasados al vacío y en atmósfera modificada.

Tabla 17. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para pH.

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
pH	6.1717 a	6.1417a	6.1b	6.1378	0.3828

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

Choubert y Baccaunaud (2006), también encontraron que los valores del pH en filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss W.*) envasados en una atmósfera de 100% aire fueron más bajos que los valores de pH en atmósferas de 60% aire – 40% CO₂ y 60% N₂ - 40% CO₂. De la misma manera, Junger *et al.* (2007) también reportaron un comportamiento similar para sardina preservada en atmósfera modificada.

Era de esperarse que los valores de pH para las muestras envasadas con EAM fueran los más bajos, debido al CO₂ empleado en dicho tratamiento. Al respecto, Sivertsvik *et al.* (2002); citados por Mendes y Goncalves (2008) manifiestan que la disolución del CO₂ se produce básicamente en la superficie del músculo del pescado, produciéndose con ello un cambio de pH en dicha superficie; así, el ácido carbónico formado no se difunde al interior del músculo o en todo caso dicha difusión es insuficiente para cambiar el pH de todo el músculo.

Ruiz y Moral (2001); citados por Sanjuás *et al.* (2012) sugieren que valores superiores a 7 pueden limitar la vida útil de ciertas especies de pescado. En este estudio, los valores de pH encontrados en las muestras de anchoveta para todos los tratamientos estuvieron por debajo de 7. Es importante mencionar que sensorialmente en los días 7, 11 y 14 las muestras envasadas en A, EV y EAM, respectivamente, fueron rechazadas; y es por ello que los días posteriores no se continuó realizando los análisis considerados en adelante.

4.6 Nitrógeno de trimetilamina (N-TMA)

El valor inicial de N-TMA en el tejido muscular de la anchoveta fresca fue 1.38 mg N-TMA/100g de músculo. Goulas y Kontominas (2007), para dorada; Tejada y Huidobro (2002), para dorada y Pantazi *et al.* (2008), para pez espada (*Xiphias gladius*) reportaron valores iniciales de 0.3, 0.4 y 0.8 mg N-TMA/100g músculo respectivamente. Sin embargo Mendes y Goncalves (2008); reportaron también para la especie grasa dorada un valor inicial de 1.5 mg N-TMA/100g; siendo éste último valor muy similar al obtenido en este estudio.

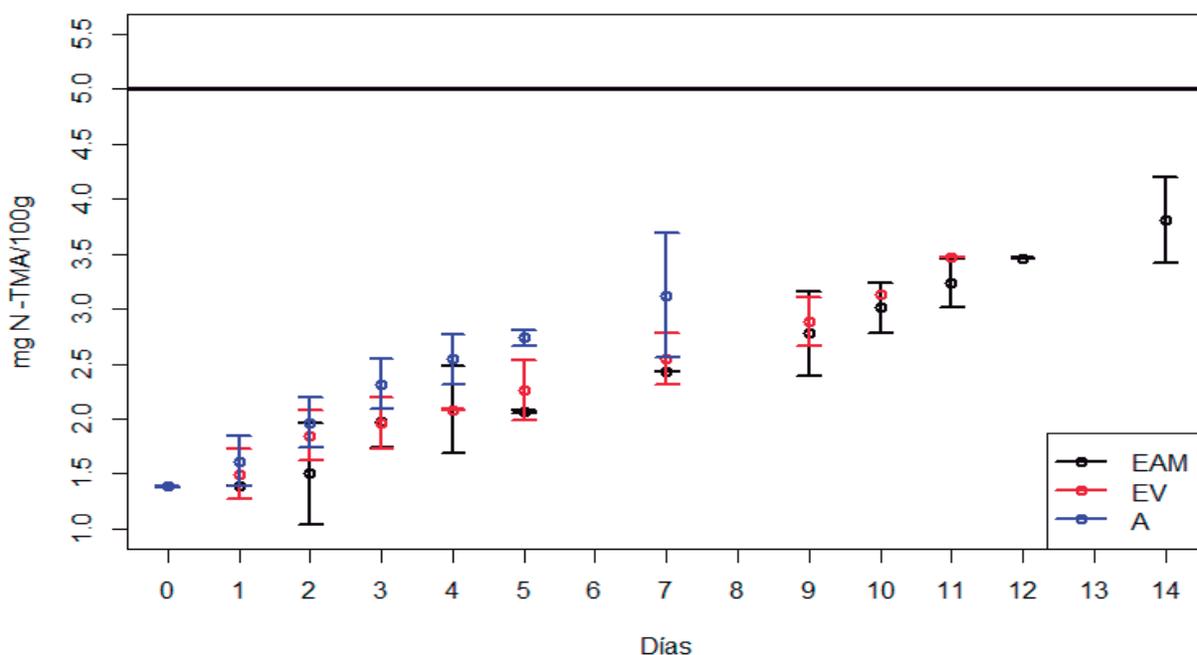


Figura 20: Variación de N-TMA en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C. Se presentan los promedios de las mediciones realizadas donde las barras de error representan $\pm\sigma$.

En Figura 20 se observa que los valores de N-TMA durante el periodo de almacenamiento incrementaron lentamente, obteniendo con ello al final del almacenamiento en cada uno de los tratamientos evaluados, bajos niveles de N-TMA. Según Huss (1995), citado por Pons *et al.* (2005); manifiestan que este hecho podría deberse a que en el caso de los pescados planos y pelágicos (como es el caso de la anchoveta), contienen los niveles más bajos de óxido de

trimetilamina (OTMA), responsable de la formación de TMA. Así mismo, Soudan (1965); citado por Pons (2005) señaló que pH entre 7.2 – 7.4 son los óptimos para la reducción del OTMA; dichos valores son considerablemente mayores que los valores de pH reportados en éste estudio (6.05 – 6.31); por lo tanto, es válido decir que los bajos valores de pH obtenidos en éste trabajo también podrían ser un factor adicional que explica la baja y lenta formación de N-TMA a partir de OTMA.

Se realizó un ANVA de los tratamientos para el indicador N-TMA (ver anexo 3B), en el cual se muestra que con un nivel de significación del 5% al menos uno de los tres tratamientos evaluados produjo un efecto significativo sobre los valores promedio de N-TMA. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (Tabla 18), se observa valores promedio de N-TMA significativamente mayores ($p < 0.05$) en las muestras envasadas con A a comparación de los valores promedio de las muestras envasadas con EAM y EV. Entre EAM y EV no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$); sin embargo EAM reportó los menores valores promedio.

Tabla 18. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para TMA

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
TMA	1.9056b	2.0323b	2.3823a	2.1067	5.7149

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

Ozogul *et al.* (2002a); también reportaron que el nivel de N-TMA en el arenque almacenado a 2 ± 2 °C fue mayor que en el arenque almacenado en atmósfera modificada (60/40: CO₂/N₂), hecho que concuerda con lo obtenido en este trabajo. Estos autores manifiestan que este hecho podría ser debido a que el envasado en atmósfera modificada inhibe el crecimiento bacteriano y por ende reduce la formación de N-TMA, lo que resulta en una extensión de la vida útil de los peces.

Así mismo, Fagan *et al.* (2004) reportaron que los niveles de N-TMA para las especies caballa y salmón envasados en una atmósfera de 60%N₂ : 40%CO₂ y para bacaladilla envasada en una atmósfera de 30%N₂ : 40%CO₂ : 30%O₂, junto con congelación-refrigeración fueron inferiores a los registrados para los filetes de las mismas especies de pescado almacenados sólo en congelación-refrigeración; demostrando con ello la prolongación de la vida útil de dichas especies.

Varios autores han reportado como límites de aceptabilidad para peces grasos; entre ellos, Ozogul *et al.* (2004) un valor de 5 mg N-TMA/100g; afirmando además que las concentraciones de N-TMA en numerosos peces grasos nunca alcanzaron dicho límite. Según Figura 20, se puede observar que al final del periodo de almacenamiento, ninguna muestra en ninguno de los tratamientos superó dicho límite.

4.7 Nitrógeno básico volátil total (N-BVT)

El valor inicial de N-BVT en el tejido muscular de la anchoveta fresca fue 7.84 mg N-BVT/100g de músculo. Ozogul *et al.* (2004) y Pons *et al.* (2005) reportaron un valor inicial de 5 mg N-BVT/100g para sardina y de 11.5 mg N-BVT/100g para muestras de anchoas, respectivamente. Kilinc y Cakli (2005), citados por Sallam (2007), afirma que la variación en los valores de N-BVT se ve afectada por las especies, tipo de alimentación de los peces, temporada de captura, zona de recolección, tamaño del pez, la edad y el sexo de los peces. Botta (1984), sugirió valores de N-BVT para calificar la frescura en el pescado: 5 a 10 mg muy fresco, 10 a 20 mg fresco y a partir de 30 mg mala calidad. Teniendo en cuenta dichos criterios y según el valor inicial de N-BVT obtenido (7.84 mg N-BVT/100g de músculo), se podría afirmar que en este estudio se trabajó con anchoveta muy fresca.

En Figura 21, se observa que los valores de N-BVT para los tres tratamientos evaluados, tienden a incrementar durante el periodo de almacenamiento; lo cual coincide con lo reportado por Ozogul *et al.* (2004) y Sallam (2007), quienes manifiestan que como para muchas especies de peces, la formación de N-BVT aumenta con el tiempo de almacenamiento.

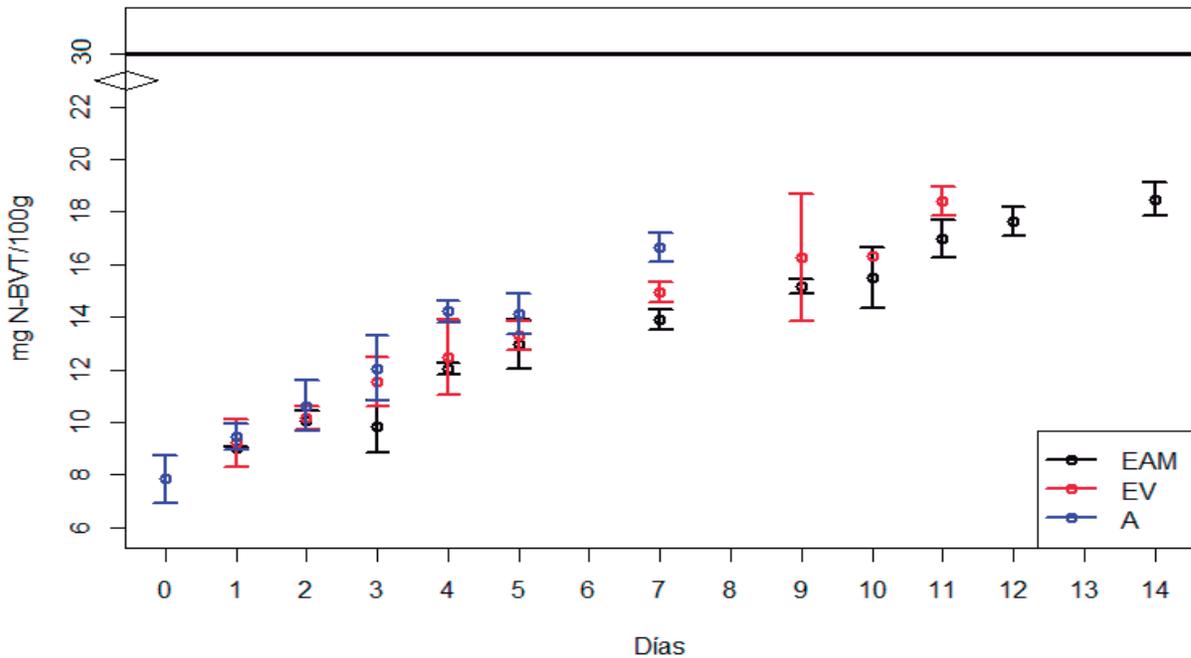


Figura 21: Variación de N-BVT en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C. Se presentan los promedios de las mediciones realizadas donde las barras de error representan $\pm\sigma$.

Se realizó un ANOVA de los tratamientos para el indicador N-BVT (ver anexo 3C), en el cual se muestra que con un nivel de significación del 5% al menos uno de los tres tratamientos evaluados produjo un efecto significativo sobre los valores promedio de N-BVT. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (Tabla 19), se observa valores promedio de N-BVT significativamente mayores ($p < 0.05$) en las muestras envasadas con A a comparación de los valores promedio de las muestras envasadas con EAM y EV. Entre EAM y EV no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$); sin embargo EAM reportó los menores valores promedio. Ozogul *et al.* (2004), reportaron resultados similares para sardina envasada en aire, vacío y EAM (60% CO₂ : 40% N₂) a 4 °C.

Tabla 19. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para BVT

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
BVT	11.2967b	11.94b	12.855a	12.0306	4.4660

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

Los bajos contenidos de N-BVT en las muestras EAM, según Debevere y Boskou (1996); citados por Ozogul *et al.* (2004) se debe a que EAM en general, tiene un efecto inhibitor sobre el crecimiento de la microflora y por ende una limitada producción de N-BVT y N-TMA, lo cual confirma la efectividad del CO₂ en la atmósfera modificada.

En la Figura 21 también se observa que al final del almacenamiento en ninguno de los tratamientos estudiados se llegó al límite de 30 mg N-BVT/100 g de músculo, recomendado anteriormente por Botta (1984); ni tampoco a los establecidos por la Normativa Europea para algunas familias de peces (Reglamento CE 1022/2008 de la Comisión) los cuales fluctúan entre 25 a 35 mg/100g.

4.8 Histamina

El valor inicial de histamina en el tejido muscular de la anchoveta fresca fue 0.45 mg /100g. Ayala *et al.* (2001) y Sánchez *et al.* (2004), ambos para muestras de anchoveta, obtuvieron un valor inicial de 1.8 y 0.46 mg histamina/100g, respectivamente; siendo éste último valor muy similar al obtenido en este estudio. Rossano *et al.* (2006) manifiestan que el pescado fresco contiene cantidades insignificantes de histamina, por lo general < 0.1 mg/100g; sin embargo, estos investigadores y Fernández (2002) sostienen que en el caso de los peces pertenecientes a la orden Clupeiformes como es el caso de la anchoveta, sardinas, anchoas y arenques, tienen niveles relativamente altos de histidina libres en sus músculos en vida; manifestando además que la proteólisis post-mortem libera histidina adicional de la proteína muscular. Estas

afirmaciones podrían explicar el por qué en este estudio se encontró que el contenido inicial de histamina (0.45 mg) fue mayor a 0.1 mg/100 g.

En Figura 22, se observa que los valores de histamina para los tres tratamientos evaluados, tienden a incrementar durante el periodo de almacenamiento, la misma tendencia fue reportada por Ozogul *et al.* (2004) para sardina.

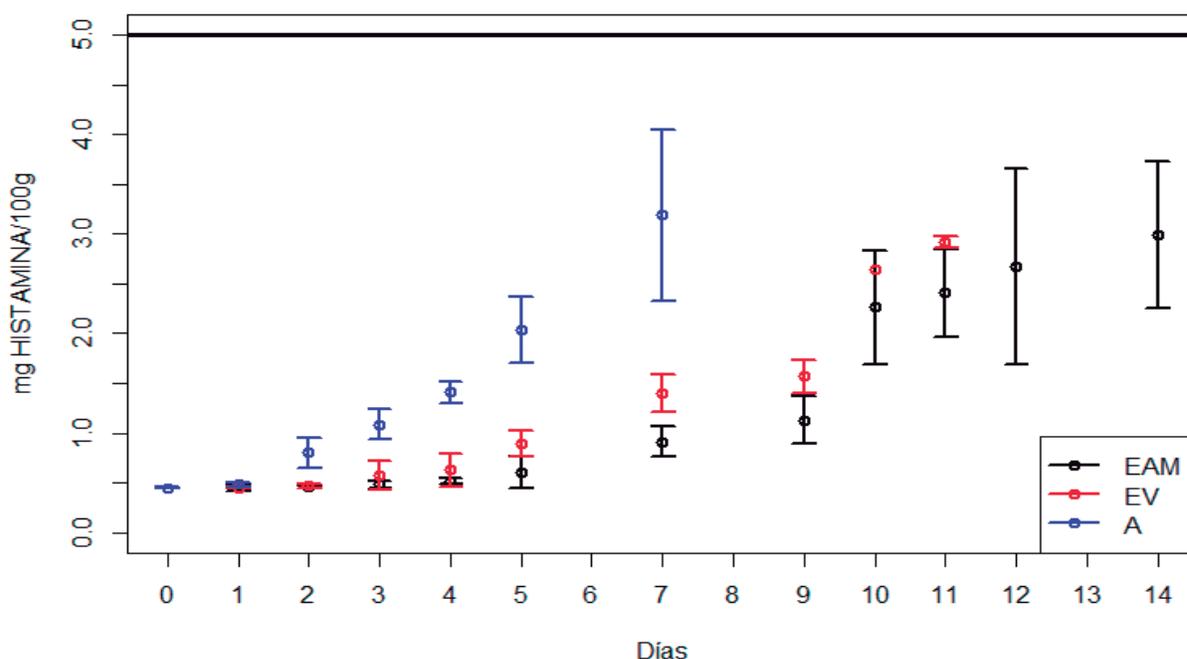


Figura 22: Variación de histamina en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C. Se presentan los promedios de las mediciones realizadas donde las barras de error representan $\pm\sigma$.

Se realizó un ANVA de los tratamientos para histamina (ver anexo 3D), en el cual se muestra que con un nivel de significación del 5% al menos uno de los tres tratamientos evaluados produjo un efecto significativo sobre los valores promedio de histamina. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (Tabla 20), se observa valores promedio de histamina significativamente mayores ($p < 0.05$) en las muestras envasadas con A a comparación de los valores promedio de las muestras envasadas con EAM y EV. Entre EAM

y EV no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$); sin embargo EAM reportó los menores valores promedio. Resultados similares fueron reportados por Ozogul *et al.* (2004) para sardina; manifestando que en EV y EAM el crecimiento bacteriano se inhibió, la flora aeróbica no puede crecer en este tipo de embalaje debido a la exclusión del O_2 . Así mismo, Ozogul *et al.* (2002a) y Ozogul *et al.* (2002b); también reportaron la misma tendencia para arenque envasado con aire, vacío y EAM (60% CO_2 y 40% N_2) a 2 ± 2 °C; manifestando que el menor nivel de histamina en EAM se debe a que el CO_2 inhibe el crecimiento de bacterias con actividad histidina descarboxilasa; por lo que Ozogul, F. y Ozogul, Y. (2006) afirman que el uso de una atmósfera modificada (EAM) con CO_2 ha demostrado que prolonga la vida útil en diferentes especies de pescado.

Tabla 20. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para histamina

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
Histamina	0.5701b	0.7369b	1.4998a	0.9356	45.7122

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

En relación a los límites permitidos de esta amina biógena, dentro de los criterios de inocuidad que establecen los organismos internacionales, estos refieren la tolerancia de 5 mg histamina/100g para consumo humano (FDA, 1997). Murray *et al.* (1982), citado por Ozogul *et al.* (2002a), también sostienen que para propósitos de calidad en peces pelágicos el límite recomendado debe ser menor a 5 mg /100g. En Figura 22, se observa que no se ha llegado en ninguno de los tratamientos al final del periodo de almacenamiento a los límites establecidos por FDA.

Rossano *et al.* (2006); manifestaron que la formación de histamina se incrementa en gran medida a temperaturas de almacenamiento superiores a 4 °C. Por otro lado, Silla (1996); citado por Pons (2005) señaló que el pH óptimo para que se produzca una mayor actividad

aminoácido descarboxilasa se encuentra entre 4.0- 5.5. Teniendo en cuenta que en este estudio los valores de pH alcanzados estuvieron entre 6.05 – 6.31 y además se trabajó con una temperatura menor a 4 °C, se podría justificar las bajas concentraciones de histamina reportadas al final del almacenamiento.

4.9 Frescura química del pescado (valor K)

Se obtuvo que el valor K inicial en las muestras de anchoveta fresca fue 7.74%. Ayala *et al.* (2001) para anchoveta peruana, Ozogul *et al.* (2004) para sardina y Ozogul *et al.* (2000) para arenque; reportaron un valor K inicial de 5.8%, 12% y 23%, respectivamente. Por otro lado, Castillo *et al.* (2007) reportaron un valor K inicial de aproximadamente 7% para la especie sierra manipulada bajo buenas practicas postcaptura y un valor K inicial de 10.5% para la misma especie manipulada por pescadores artesanales siguiendo sus propias prácticas de manipulación postcaptura. Sallam (2007), sostiene que son muchos los factores que afectan el valor de K de los peces: tipo de especies, el tipo de músculo (oscuro o blanco), la madurez del pescado, el estrés de los peces durante la captura, la manipulación, la temporada y la temperatura de almacenamiento. Según los criterios de frescura dados por Ehira (1976) para valor K: < 20%, pescado muy fresco; 20-40%, pescado fresco; 40-60%, pescado no fresco / inicios del deterioro y > 60%, totalmente deteriorado; y teniendo en cuenta el valor K inicial obtenido (7.74%), se podría afirmar que las muestras de anchoveta utilizadas en este estudio fueron muy frescas.

En Figura 23, se observa que los valores K para los tres tratamientos evaluados, tienden a incrementar durante el periodo de almacenamiento; similar tendencia fue reportada por varios investigadores, entre ellos: Ozogul *et al.* (2000) para arenque del Atlántico, Ozogul *et al.* (2004) para sardina y por Kalleda *et al.* (2013) para camarones.

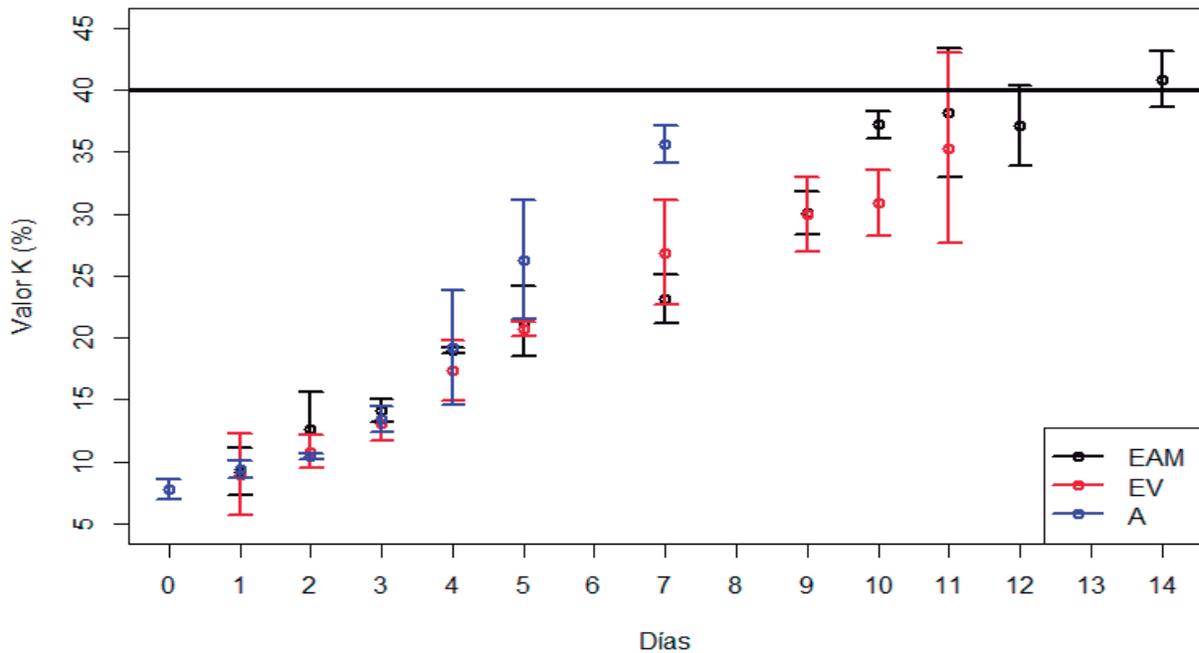


Figura 23: Variación del valor K en anchoveta envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C. Se presentan los promedios de las mediciones realizadas donde las barras de error representan $\pm\sigma$.

Se realizó un ANVA de los tratamientos para valor K (ver anexo 3E), en el cual se muestra que los tres tratamientos evaluados produjeron el mismo efecto sobre los valores promedio del valor K ($P \geq 0.05$). Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos con un nivel de significación del 5% (Tabla 21), se observa que las diferencias entre los valores promedio del valor K de los tratamientos, no son significativas; sin embargo, las muestras envasadas con A presentaron los mayores valores promedio. Ozogul *et al.* (2000) en un estudio sobre evaluación del arenque del Atlántico almacenado en hielo, atmósfera modificada (EAM) y vacío (EV); encontraron que existía diferencias significativas entre el tratamiento en hielo y EAM mas no entre EV y EAM; sin embargo, éstos investigadores manifiestan que sus resultados difieren de los resultados obtenidos por López *et al.* (1998) para filetes de lenguado; quienes reportaron ningún efecto de la atmósfera en los valores de K.

Tabla 21. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para valor K

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
Valor K	16.5385a	16.3148a	19.0558a	17.3031	16.1865

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

Por otro lado, Ozogul *et al.* (2004) para sardinas y Kalleda *et al.* (2013) para camarones; también manifestaron que las muestras envasadas con aire presentaron los mayores valores de K a comparación de las muestras envasadas con EAM. Ellos explicaron que éstos resultados se deben a que EAM retrasa la velocidad de degradación de nucleótidos para varias especies de peces debido a la inhibición de la actividad enzimática por el CO_2 .

Huss (1998) también manifiesta que el índice de frescura K proporciona una puntuación de frescura relativa, basada principalmente en los cambios autolíticos que tienen lugar durante el almacenamiento post mortem del músculo; además argumenta que para algunas especies de pescado, como el bacalao del Atlántico, alcanzan un valor K máximo mucho antes que la vida en anaquel, según lo determinado por jueces entrenados. Por lo tanto, K no puede ser considerado como un índice confiable de frescura para todos los peces marinos con aletas; y que además la degradación de nucleótidos es sólo coincidental con los cambios percibidos en la frescura y no está necesariamente relacionada con su deterioro.

En este estudio, el límite de aceptabilidad sensorial no coincidió con el criterio dado por Ehira (1976) para valor K (40-60%, pescado no fresco / inicios del deterioro); ya que según la evaluación sensorial las muestras EAM, EV y A llegaron al límite de aceptabilidad en el día 10, 7 y 4 respectivamente, correspondiendo a valores K de 37.2%, 26.9% y 19.2%, respectivamente. Esto también coincide con lo reportado por Sivertsvik *et al.* (2002); quienes manifestaron que los valores K fueron independientes del deterioro sensorial y correlacionaron sólo con el tiempo de almacenamiento para filetes de tilapia envasados en EAM a 4 °C.

4.10 Recuentos microbiológicos de la anchoveta

En Tabla 22, se observa que el contenido inicial de *Aerobios mesófilos* viables en el músculo de la anchoveta fresca fue 5×10^2 ufc/g, y en comparación con el límite de aceptabilidad establecido para el pescado fresco (5×10^5 ufc/g) (Norma Sanitaria- MINSa, 2008), es un indicativo que las especies de anchoveta utilizadas fueron de buena calidad. Ozogul *et al.* (2000), para arenque y Mendes y Goncalves (2008), para filetes de dorada y lubina reportaron contenidos iniciales de 10^4 y de 10^3 y 6.31×10^2 ufc/g, respectivamente. Ambos autores también manifestaron que dichos contenidos eran indicativos de un pescado de buena calidad.

Tabla 22. Recuentos microbiológicos de la anchoveta fresca (*Engraulis ringens*), al inicio del almacenamiento.

Agente microbiano	Recuento microbiológico (UFC/g)	Límite (UFC/g)
Enterobacterias	10	10^3 (norma sanitaria- MINSa, 2008)
<i>Aerobios mesófilos</i>	5×10^2	5×10^5 (norma sanitaria- MINSa, 2008)
<i>Pseudomonas</i>	< 10	10^7 (ICMSF, 2002)
Psicrófilos	40	10^6 a 10^7 (FAO, 1995)

Con respecto a enterobacterias, éstas han sido descritas como grandes formadoras de histamina en pescado (Chen *et al.* 1989 y Beutling, 1996; citados por Pons, 2005). En Tabla 22, se muestra que el contenido inicial fue muy bajo, 10 ufc/g; valor que está muy lejano al límite de aceptabilidad de 10^3 ufc/g dado por Norma Sanitaria- MINSa, 2008. En este estudio no se realizó el recuento total de enterobacterias durante el periodo de almacenamiento, sin embargo se podría asumir que dichos recuentos fueron muy bajos, debido a los bajos contenidos de histamina reportados en este estudio (2.98 mg histamina/100g en el día 14 en muestras EAM, 2.92 mg histamina/100g en el día 11 en EV, 3.19 mg histamina/100g en el día 7 en A). Arkoudelos *et al.* (2007) para anguilla envasada con aire, vacío y EAM a 0 °C,

también reportaron un contenido inicial de enterobacterias menor de 10 ufc/g y Pantazi *et al.* (2008) para el pez espada envasado con aire, vacío y EAM a 4 °C, reportaron un contenido inicial de 1.26×10^2 ufc/g. Ambos investigadores, manifestaron un leve incremento de enterobacterias con respecto al tiempo de almacenamiento; y además que dichos recuentos fueron menores en comparación con los de otras especies microbianas al final de la vida útil.

Huss (1995), citado por Pons (2005); manifiesta que *Pseudomonas sp.* y *Alteromonas sp.* pueden llegar a ser los géneros dominantes responsables de los olores y sabores desagradables asociados con el deterioro de pescados de mar mantenidos a bajas temperaturas. Es así que, se realizó el recuento inicial de *Pseudomonas* el cual fue menos de 10 ufc/g (Tabla 22), coincidiendo con lo reportado por Arkoudelos *et al.* (2007) para anguila. En este estudio no se realizaron recuentos microbiológicos de *Pseudomonas* durante el tiempo de almacenamiento, debido al bajo contenido inicial; por lo que no se podría precisar con certeza dicha evolución. Sin embargo, podríamos tener en cuenta lo reportado por Arkoudelos *et al.* (2007) y por Pantazi *et al.* (2008) quienes manifiestan que el contenido de *Pseudomonas* aumentó con el tiempo de almacenamiento y que EAM fue el tratamiento más efectivo para la inhibición de *Pseudomonas* y bacterias productoras de H₂S. Además Arkoudelos *et al.* (2007) reportaron que dichos contenidos siguieron el mismo patrón que para *Aerobios mesófilos*, pero con recuentos inferiores al final del almacenamiento.

Con respecto a los microorganismos Psicrófilos, el contenido inicial fue 40 ufc/g, valor que es menor al recomendado por la FAO (1995) (10^6 a 10^7 ufc/g) para pescado fresco.

En Tabla 23, se observa que el contenido de *Aerobios mesófilos* y Psicrófilos incrementaron lentamente durante el periodo de almacenamiento en todos los tratamientos evaluados sin alcanzar los límites de aceptabilidad de 5×10^5 ufc/g (Norma Sanitaria- MINSa, 2008) y 10^6 a 10^7 (FAO, 1995), respectivamente.

Tabla 23. Resultados del análisis microbiológico (ufc/g) de la anchoveta fresca envasada en aire, vacío y atmósfera modificada a una temperatura de 1-1.5 °C.

Tiempo (días)	Tratamiento	<i>Aerobios mesófilos</i>	Psicrófilos	<i>St. aureus</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Shigella</i>
1	T ₁	54 x 10	5.5 x 10	0 ≈ < 10	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₂	55 x 10	5.5 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₃	58 x 10	11 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
2	T ₁	59 x 10	8.2 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₂	64 x 10	8.5 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₃	72 x 10	11 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
3	T ₁	65 x 10	9 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₂	70 x 10	9.4 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₃	97 x 10	13 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
4	T ₁	81 x 10	11 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₂	85 x 10	12 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₃	15 x 10 ²	20 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
5	T ₁	12 x 10 ²	13 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₂	13 x 10 ²	14 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₃	24 x 10 ²	28 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
7	T ₁	18 x 10 ²	13 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₂	21 x 10 ²	17 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g
	T ₃	32 x 10 ²	35 x 10	0	Ausencia/25g	Ausencia/25g

T₁= Tratamiento envasado con atmósfera modificada (EAM).

T₂= Tratamiento envasado al vacío (EV).

T₃= Tratamiento envasado en condiciones atmosféricas normales /Aire (A).

Se realizó un ANVA de los tratamientos para *Aerobios mesófilos* y Psicrófilos (ver anexo 3F y 3G), en el cual se muestra que con un nivel de significación del 5% al menos uno de los tres tratamientos evaluados produjo un efecto significativo sobre los valores promedio de ambos microorganismos. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (Tabla

24), se observa valores promedio para *Aerobios mesófilos* y Psicrófilos significativamente mayores ($p < 0.05$) en las muestras envasadas con A a comparación de los valores promedio de las muestras envasadas con EAM y EV. Entre EAM y EV no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$); sin embargo EAM reportó los menores valores promedio para ambos microorganismos. Ozogul *et al.* (2004) reportaron la misma tendencia para sardina.

Tabla 24. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para *Aerobios mesófilos* y Psicrófilos

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
<i>Aerobios mesófilos</i>	9.32 x 10 ² b	10.23 x 10 ² b	15.62 x 10 ² a	11.72 x 10 ²	26.3203
Psicrófilos	9.95 x 10 b	11.1 x 10 b	19.7 x 10 a	13.6 x 10	29.4370

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

Huss (1972), citado por Ozogul *et al.* (2004) y por Arkoudelos *et al.* (2007) manifestaron que el CO₂ tiene un efecto importante en el crecimiento microbiano, ejerciendo una acción inhibitoria selectiva sobre microorganismos psicrótrofos, aeróbicos y gramnegativos. Los microorganismos aeróbicos son generalmente sensibles al CO₂; por lo tanto, EAM retrasa la descomposición del pescado; dicho fundamento, justifica los resultados obtenidos en este trabajo.

Con respecto a los microorganismos patógenos, en Tabla 23, se muestra ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Shigella* durante el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos evaluados. No se realizó el análisis de *Clostridium Botulinum*. Barriga *et al.* (2006) en un estudio sobre evaluación de filetes de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) envasados en atmósfera modificada (T1: 40%CO₂/30%O₂/30%N₂ y T2: 60%CO₂/40%N₂) durante 22 días; también manifestaron que hubo ausencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Clostridium botulinum*, en todas las muestras evaluadas.

Silva y White (1994) citados por Heidmann y Oetterer (2003), en un estudio sobre cambios en el color y en el pH de filetes de bagre (*Ictalurus punctatus*) mantenidos bajo atmósferas de 25%CO₂ y 80%CO₂, así como en condiciones atmosféricas normales (aire) a temperaturas de 2 °C y 8 °C durante 4 semanas; manifestaron que *Clostridium botulinum* no fue observado en ninguna de las atmósferas evaluadas a las 2 temperaturas antes mencionadas durante el periodo de almacenamiento; concluyendo que el mejor tratamiento fue el de 80%CO₂ a 2 °C. Así mismo, Lilly y Kautter (1990); citado por Sivertsvik *et al.* (2002) reportaron que en un estudio de 1074 muestras de ensayo comerciales de pescado fresco envasado al vacío, ninguna de las muestras organolépticamente aceptables fue positiva para toxina de *C. botulinum* después de 12 días a 12 °C. Los autores concluyeron que, o bien el pescado no contenía esporas de *C. botulinum*, o las esporas eran incapaces de crecer y producir la toxina antes de que el pescado llegue a deteriorarse.

4.11 Evaluación sensorial

En Tabla 25, se observa que las calificaciones promedio de los atributos sensoriales (apariencia, textura, olor y sabor) por cada tratamiento evaluado, tienden a disminuir durante el periodo de almacenamiento, la misma tendencia fue reportada por Sallam (2007) para rebanadas de salmón, por Mendes y Goncalves (2008) para filetes crudos de dorada y lubina y por Ozugul *et al.* (2004) para sardina. Todas las muestras al inicio del periodo de almacenamiento presentaron una calificación promedio de aproximadamente 5 en cada uno de los atributos sensoriales y por cada tratamiento estudiado; por lo que, según criterios de puntuación dados, se podría afirmar que la calidad organoléptica de las muestras de anchoveta empleadas, correspondió a un producto muy fresco; dicha calificación coincide con la calidad de frescura físico-química inicial (pH, BVT y valor K) reportados en este estudio.

Tabla 25. Resultados de la evaluación sensorial para anchoveta fresca en corte HGT envasada con Aire (A), Vacío (EV) y Atmósfera Modificada (EAM) a una temperatura de 1-1.5 °C (Se presentan los promedios de las calificaciones, $\pm\sigma$).

días	TRATAMIENTO ATMÓSFERA MODIFICADA (EAM)				TRATAMIENTO CON VACÍO (EV)				TRATAMIENTO CON AIRE (A)			
	APARIENCIA	TEXTURA	OLOR	SABOR	APARIENCIA	TEXTURA	OLOR	SABOR	APARIENCIA	TEXTURA	OLOR	SABOR
0	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4	4.9±0.4
1	4.8±0.4	4.9±0.4	4.8±0.4	4.8±0.4	4.0±0.0	4.2±0.5	4.6±0.5	4.7±0.5	4.4±0.5	4.5±0.5	4.5±0.5	4.5±0.5
2	4.6±0.5	4.8±0.4	4.7±0.5	4.7±0.5	4.0±0.0	4.1±0.4	4.5±0.5	4.4±0.5	4.1±0.4	4.2±0.5	4.3±0.5	4.3±0.5
3	4.3±0.5	4.6±0.5	4.4±0.5	4.4±0.5	3.5±0.5	3.8±0.4	4.1±0.4	4.1±0.4	3.7±0.5	3.7±0.5	3.9±0.4	3.8±0.4
4	4.1±0.4	4.3±0.5	4.3±0.5	4.3±0.5	3.3±0.5	3.3±0.5	3.8±0.4	3.7±0.5	3.3±0.5	3.5±0.5	3.3±0.5	3.2±0.5
5	3.8±0.4	4.2±0.4	4±0.0	4.0±0.0	3.2±0.4	3.3±0.5	3.5±0.5	3.5±0.5	2.5±0.5	2.8±0.4	2.6±0.5	2.7±0.5
7	3.7±0.5	4.0±0.0	3.8±0.4	3.8±0.4	3±0.0	3.1±0.4	3.4±0.5	3.3±0.5	-	-	-	-
9	3.5±0.5	3.7±0.5	3.5±0.5	3.5±0.5	2.6±0.5	2.8±0.4	3.0±0.0	3±0.0	-	-	-	-
10	3.1±0.4	3.3±0.5	3.3±0.5	3.3±0.5	2.0±0.4	2.2±0.4	2.9±0.4	2.9±0.4	-	-	-	-
11	2.8±0.4	2.8±0.4	3±0.0	3±0.0	1.6±0.5	2.0±0.0	2.3±0.5	2.4±0.5	-	-	-	-
12	2.4±0.5	2.3±0.5	2.6±0.5	2.7±0.5	-	-	-	-	-	-	-	-
14	2.1±0.4	2.1±0.4	2.3±0.5	2.4±0.5	-	-	-	-	-	-	-	-

*Criterios de puntuación: 5 producto “muy fresco”, 4 producto “fresco”, 3 producto en el “límite de aceptabilidad”, 2 producto “ligeramente desagradable” y 1 producto “Inaceptable”.

Hasta el día 2 de almacenamiento todas las muestras de anchoveta recibieron calificaciones medias entre 5 a 4 (Tabla 25), manteniendo aún la calidad de pescado fresco en todos los atributos evaluados y para cada uno de los tratamientos; sin embargo, a partir de los días 10, 5 y 4 las muestras envasadas con EAM, EV y A, respectivamente, en cada uno de los atributos evaluados, bordearon el límite de aceptabilidad de 3. Las muestras EAM, llegaron a ser rechazadas a partir del día 11 para apariencia y textura y del día 12 para olor y sabor; para muestras EV a partir del día 9 para apariencia y textura y del día 10 para olor y sabor y las muestras A a partir del día 5 en todos los atributos evaluados; es por ello que las muestras EAM, EV y A sólo fueron evaluadas por un periodo de 14, 11 y 5 días, respectivamente. Ozogul *et al.* (2004) reportaron que para sardina el mal olor fue evidenciado después de 3 días

en las muestras envasadas con aire, 9 días en EV y 12 días en EAM, siendo dichos resultados muy similares a los obtenidos en este trabajo.

Se realizó un ANVA de los tratamientos para apariencia, textura, olor y sabor (ver anexo 3H al 3K), en el cual se muestra que con un nivel de significación del 5% al menos uno de los tres tratamientos evaluados produjo un efecto significativo sobre las calificaciones promedio en cada uno de los atributos sensoriales. Al realizar la prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (Tabla 26) se observa para apariencia y textura, calificaciones promedio significativamente mayores ($p < 0.05$) en las muestras envasadas con EAM a comparación de las calificaciones promedio de las muestras envasadas con EV y A. Entre EV y A no se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$); sin embargo A reportó las menores calificaciones promedio. Torrieri *et al.* (2006) para lubina, también manifestaron que las muestras envasadas con EAM, presentaron mejor textura que aquellas envasadas con aire.

Tabla 26. Prueba de comparaciones múltiples de Duncan al 5% de significación para apariencia, textura, olor y sabor

INDICADOR	Tratamientos				
	T1(EAM)	T2(EV)	T3(A)	Promedio	CV %
Apariencia	4.43 a	3.81 b	3.81 b	4.02	7.07
Textura	4.60 a	3.95 b	3.93 b	4.16	6.69
Olor	4.52 a	4.21 ab	3.90 b	4.21	6.28
Sabor	4.52 a	4.21 ab	3.90 b	4.21	6.22

Promedios con la misma letra no presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p \geq 0.05$).

Promedios con diferente letra si presentan diferencias significativas en ese par de tratamientos ($p < 0.05$).

Así mismo, en Tabla 26 también se observa que no hubo diferencias significativas entre las calificaciones promedio para el olor y sabor por tratamiento evaluado, lo cual es un indicativo que ambos atributos mostraron un patrón similar de disminución de la aceptabilidad. Las muestras envasadas con EAM presentaron calificaciones promedio significativamente

mayores ($p < 0.05$) a comparación de las calificaciones promedio de las muestras envasadas con A, EV no presentó diferencias significativas ($P \geq 0.05$) con EAM y A; sin embargo A reportó las menores calificaciones promedio.

En Tabla 26 se observa que en promedio, la apariencia fue el atributo que obtuvo las calificaciones más bajas a comparación de los otros atributos evaluados; por lo que, se podría considerar a la apariencia como el atributo sensorial más relevante para la evaluación de la calidad de la anchoveta fresca. Pons (2005) también determinó que los primeros cambios sensoriales del boquerón (especimen muy similar a la anchoveta) durante el almacenamiento están relacionados con la apariencia general.

Ozogul, F. y Ozogul, Y (2006) también consideraron a la apariencia de los productos de la pesca en EAM / EV como el atributo más importante, ya que influye en la aceptabilidad del producto por los consumidores; además puede ser evaluada visualmente, incluyendo el colapso del envase, la producción de exudado, y la decoloración; así como también propiedades organolépticas del producto pueden ser evaluados por el color, olor y textura. Por otro lado Pons (2005), también reportaron que la apariencia es el atributo que nos da una valoración inicial global del alimento; manifestando que frecuentemente es el que determina su aceptación o el rechazo y que al analizar la apariencia, se evalúan a la vez otras propiedades más concretas como son el color, la forma, el tamaño, el brillo, etc.

4.12 Determinación del tiempo de vida útil

En Tabla 27, se muestra el tiempo de vida útil estimado de la anchoveta fresca en corte HGT envasada con atmósfera modificada, vacío y en condiciones atmosféricas normales (aire) bajo almacenamiento refrigerado a $1-1.5$ °C; según el análisis físico-químico, microbiológico y sensorial. Los cálculos respectivos se muestran en los anexos del 4 al 9.

Tabla 27. Tiempo de vida útil estimado para la anchoveta fresca en corte HGT envasada con aire (A), vacío (EV) y atmósfera modificada (EAM) bajo almacenamiento refrigerado a 1-1.5 °C; según análisis físico-químico, microbiológico y sensorial.

Envasado en atmósfera protectora	Tiempo de vida útil (días)/ Análisis		
	Físico-químico	Microbiológico	Sensorial
Atmósfera Modificada (EAM) (60%CO ₂ : 40%N ₂)	12	27	10
Vacío (EV)	12	25	7
Condiciones atmosféricas normales/ Aire (A)	7	18	4

La frescura química del pescado (valor K) y *Aerobios mesófilos*, fueron los indicadores físico-químico y microbiológico, respectivamente, que limitaron el tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT envasada en EAM, EV y A; ya que dichos índices reportaron el menor tiempo de vida en comparación a los otros índices evaluados (ver anexos del 4 al 9). Así mismo, la apariencia, fue el atributo que limitó el tiempo de vida útil sensorial en los tres tratamientos evaluados; ya que dicho atributo llegó al límite de aceptabilidad de 3 antes que los otros atributos evaluados (Tabla 25).

El análisis sensorial, es el que reportó los menores tiempos de vida en los tres tratamientos evaluados (4 días para A, 7 días para EV y 10 días para EAM) (Tabla 27); por lo que se podría considerar éste análisis como el principal criterio para la evaluación de la calidad de la anchoveta fresca. Pantazi *et al.* (2008) Hernández (2011) también sostienen que el principal criterio de evaluación de la calidad del pescado fresco, es la evaluación sensorial. Ozogul *et al.* (2000) manifestaron que la vida útil del arenque almacenado a 2±2 °C, según el análisis sensorial, fue de 10 días para EAM, 8 días para EV y de 4 días para muestras control. En otro estudio, Ozogul *et al.* (2004) reportaron que la evaluación sensorial a comparación de la

evaluación química y microbiológica, también determinó la vida útil de la sardina y fue 3 días en aire, 9 días en EV y 12 días en EAM. Estos resultados son muy similares a los resultados de vida útil sensorial reportados en este estudio

En Tabla 27 se observa que la vida útil estimada según los análisis físico-químicos y microbiológicos en cada uno de los tratamientos evaluados, fue superior a la vida útil sensorial; coincidiendo con otros investigadores, entre ellos Arkoudelos *et al.* (2007) quienes reportaron que para la anguila la vida útil encontrada según el criterio microbiológico fue de 18, 28 y 34 días para muestras envasadas con aire, EV y EAM, respectivamente; sin embargo, en las mismas condiciones de envasado, la evaluación sensorial indicó una vida útil más corta de 11, 11 y 18 días, respectivamente; manifestando que éstos hallazgos indican que el proceso de deterioro parece estar dominado por procesos autolíticos hasta llegar al rechazo, antes que se dé el crecimiento microbiano.

Así mismo, en Tabla 27 se observa que el envasado de la anchoveta fresca en corte HGT en atmósfera modificada, prolongó el tiempo de vida útil, según el análisis físico-químico, microbiológico y sensorial en 71.43%, 50% y en 150%, respectivamente; con respecto al envasado en condiciones aerobias. Reddy *et al.* (1992), citados por Ozogul *et al.* (2004), afirmaron que el porcentaje de aumento de la vida útil en EAM va de 0 a 280%, en comparación con el almacenamiento aeróbico.

V. CONCLUSIONES

1. Según indicadores físico-químicos, las muestras de anchoveta en corte HGT envasadas con aire (A), obtuvieron los valores promedio significativamente más altos para TMA (2.38 mg/100g), BVT (12.86 mg/100g) e histamina (1.50 mg/100g), a comparación de las muestras envasadas con atmósfera modificada (EAM) (1.91 mg/100g para TMA, 11.30 mg/100g para BVT y 0.57 mg/100g para histamina) y vacío (EV) (2.03 mg/100g para TMA, 11.94 mg/100g para BVT y 0.74 mg/100g para histamina). Entre EAM y EV, las diferencias no fueron significativas. Para valor K, los tres tratamientos evaluados produjeron el mismo efecto, obteniendo valores promedio de 19.06% para muestras con A, 16.31% para muestras EV y 16.54% para muestras EAM.
2. Según indicadores microbiológicos, las muestras con A obtuvieron los valores promedio significativamente más altos para *Aerobios mesófilos* y Psicrófilos (15.62×10^2 ufc/g y 19.7×10 ufc/g, respectivamente) a comparación de las muestras con EAM (9.32×10^2 ufc/g y 9.95×10 ufc/g, respectivamente) y EV (10.23×10^2 ufc/g y 11.1×10 ufc/g, respectivamente). Entre EAM y EV, las diferencias no fueron significativas.
3. El contenido de Enterobacterias y *Pseudomonas sp.* al inicio del almacenamiento, fue menor de 10 ufc/g y hubo ausencia de *St. Aureus*, *Salmonella spp.* y *Shigella*. Éstos resultados microbiológicos indican que la actividad bacteriana no fue significativa durante el tiempo de almacenamiento.
4. Sensorialmente, las muestras envasadas con EAM, obtuvieron en promedio las mejores calificaciones (4.43 para apariencia, 4.59 para textura, 4.52 para olor y 4.52 para sabor) seguidas por las muestras envasadas con EV (3.81 para apariencia, 3.95 para textura, 4.21

para olor y 4.21 para sabor) y finalmente las más bajas calificaciones fueron para las muestras envasadas con A (3.81 para apariencia, 3.93 para textura, 3.90 para olor y 3.90 para sabor).

5. La evaluación sensorial fue el principal índice para la estimación del tiempo de vida útil de la anchoveta fresca en corte HGT, ya que dicha evaluación reportó el menor tiempo de vida (10 días para EAM, 7 días para EV y 4 días para A) a comparación de la evaluación físico-química y microbiológica. La apariencia fue el atributo que limitó el tiempo de vida útil sensorial.

6. El envasado de anchoveta fresca HGT en atmosfera modificada (60%CO₂ y 40%N₂) fue el tratamiento más eficaz, ya que mantuvo por mayor tiempo la calidad físico-química, microbiológica y sensorial; prolongando el tiempo de vida del producto hasta por 2.5 veces con respecto al envasado en condiciones aeróbicas. El envasado de anchoveta fresca HGT al vacío, prolongó el tiempo de vida del producto 1.75 veces más que el envasado en condiciones aeróbicas.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andino, F; Castillo, Y. 2010. Microbiología de los alimentos: Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Universidad Nacional de Ingeniería. UNI-Norte. Disponible en: <https://avdiaz.files.wordpress.com/2010/02/documento-microbiologia.pdf>. Consultado el 2 de diciembre del 2015.

Andrés N, AI; Gutiérrez C, JI; Parra T, V. 2008. Avances en la investigación sobre el envasado de productos cárnicos en atmósferas modificadas. Cap. 5. pp. 91-105.

AOAC. (Association of Official analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis of AOAC Internacional. 15th edition, volume two, Arlington, Virginia 2220p.

APHA. (American Public Health Association). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Fourth Edition. Chapter 13.

Arkoudelos, J; Stamatis, N; Samaras, F. 2007. Quality attributes of farmed eel (*Anguilla anguilla*) stored under air, vacuum and modified atmosphere packaging at 0°C. Food Microbiology 24: 728-735.

Ayala, ME; Salas, A; Carbajal, M; Plácido, M; Albrecht-Ruiz, M. 2001. Patrón de deterioro de Anchoqueta Peruana (*Engraulis ringens*) almacenada a temperatura de refrigeración. Cienc. Tecnol. Aliment. 3(3): 161-168.

Barriga, M; Cueto, M; LLave, Y; Romero, E. 2006. Evaluación de filetes de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) envasados en atmósfera modificada. Bol. Invest. Inst. tecnol. pesq. Peru.7: 91-100.

Botta, J; Lauder, J; Jewer, M. 1984. Effect of Methodology on total Volatile Basic (TVB-N). Determination as an index of Quality of fresh Atlantic Cod (*Gadus morhua*). J. Food Sci. 49: 734-750.

Bouchon, M; Ayón, P; Mori, J; Peña, C; Espinoza, P; Hutchings, L; Buitrón, B; Perea, A; Goicochea, C; Messie, M. 2010. Biología de la anchoveta peruana, *Engraulis ringens* Jenyns. Bol Inst. Mar Perú 25(1-2): 23-30.

Carbajal, G. 1991. Microbiología de los Alimentos Marinos. Concytec.

Casp, A; Abril, J. 2003. Procesos de conservación de alimentos. 2ª edición, Editorial Mundi-Prensa. Navarra, España. Pp. 54 – 61.

Castillo, FJ; Pacheco, R; Marquez, E; Lugo, ME; Lozano, J. 2007. Freshness loss in sierra fish (*Scomberomorus sierra*) muscle stored in ice as affected by postcapture handling practices. Journal of Food Biochemistry 31: 56-67.

Catalog of Fishes. 2004. Disponible en:

<http://www.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/>. Consultado el 22 de Abril del 2014.

Catálogo Pamolsa, 2015. Disponible en:

<http://www.pamolsa.com.pe/archivos/generales/Catalogo-Pamolsa-2015.pdf>. Consultado el 2 de diciembre del 2015.

CBT (Compendio Biológico Tecnológico). 1996. De las principales especies hidrobiológicas comerciales del Perú. Instituto del Mar del Perú – Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. Pp. 23 - 28. Disponible en:

<http://www.imarpe.gob.pe/paita/especies/pelagicos/anchoveta/anchoveta.htm>. Consultado el 23 de Abril del 2014.

Choubert, G; Baccaunaud, M. 2006. Colour changes of fillets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) fed astaxanthin or canthaxanthin during storage under controlled or modified atmosphere. LWT 39: 1203-1213.

Choubert, G; Brisbarre, F; Parfouru, D; Baccaunaud, M. 2008. Argon Modified Atmosphere Packaging for Fillets of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed Astaxanthin or Canthaxanthin. Journal of Aquatic Food Product Technology 17(2): 117-136.

Conway, E. 1933. An Absorption apparatus for the micro determination of certain volatile substances. Biochem. J. 27: 419-429.

Dávalos, S; Zamora, D; Natividad, B; Tercero, J; Vasquez, C; Quiñones, E. 2005. Alimentos marinos: Tipificación y proceso de almacenamiento. Revista Digital Universitaria. ISSN: 1067-6079. 6 (9): 1-14.

EcuRed. Conocimiento con todos y para todos. 2014. Anchoqueta. Disponible en: <http://www.ecured.cu/index.php/Anchoqueta>. Consultado el 23 de Abril del 2014.

Ehira. 1976. A biochemical study on the freshness of fish. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. N°88.

Fagan, J; Gormley, T; Mhuircheartaigh, M. 2004. Effect of modified atmosphere packaging with freeze-chilling on some quality parameters of raw whiting, mackerel and salmon portions. Innovative Food Science and Emerging Technologies 5: 205- 214.

FAO, Fisheries Technical Paper 348. 1995. Quality and quality changes in fresh fish, pag.: 68-162. Huss H. Edited. Technological Laboratory. Ministry of Agriculture and Fisheries. Denmark.

FAO, Food and Nutrition Paper, 14/7. 1986. Manuals of food quality control. 7. Food Analysis: General Techniques, Additives, Contaminants and Composition, pag. 200-236. Swedish international development authority (sida). Rome.

FDA. (Food and Drugs Administration). 1995. Aerobic Plate Count. A-D Bacteriological Analytical Manual on Line. January 2001. Edition 8 Revisión A Chapter 3.

FDA. (Food and Drugs Administration). 1997. Fish and Fishery Products Hazard and Control Guide.

Fernández J, A. 2002. Control de la producción de histamina durante el deterioro del pescado. Pp. 1-10

Fiallos, CE. 2009. Estudio comparativo de la influencia del empaque, en la tilapia fresca; almacenado a temperaturas de refrigeración”. Tesis de Grado, previo a la obtención del título de Ingeniero de Alimentos. Escuela superior politécnica del litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil-Ecuador. Pp. 77.

Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance (2011). Department of health and human services. Public health service. Food and drug administration. Center for food safety and applied nutrition. Office of food safety. Fourth Edition. APPENDIX 4: Bacterial Pathogen Growth and Inactivation. Pp. 420 y 421.

García de Fernando, G; Gañán, M; Rodríguez, MR; Aguirre, J. 2011. Envasado de alimentos en atmósferas modificadas. EQUIPACK. Alimentación, equipos y tecnología. 258: 44–49.

García I, E; Gago C, L; Fernández N, JL. 2006. Tecnologías de envasado en atmósfera protectora. Informe de vigilancia Tecnológica. Circulo de innovación en biotecnología- Cibt. Confederación Empresarial de Madrid - CEOE. Dirección General de Universidades e Investigación. España. pp. 1-141. Disponible en: <http://www.madrimasd.org>.

García I, E; Gago C, L; Fernández N, JL. 2013. Envasado en atmósfera protectora para productos de la pesca. Seguridad Alimentaria. Mundo lácteo y cárnico pp. 9-13.

Giménez, S; Melgarejo, P. 2010. Envases plásticos en el envasado en atmósfera modificada. Interempresas net. Envase y Embalaje. Disponible en: <http://www.interempresas.net/Envase/Articulos/44932-Envases-plasticos-en-el-ensado-en-atmosfera-modificada.html>. Consultado el 5 de diciembre del 2015.

Global Packaging. Disponible en: <http://www.ulmapackaging.com/packaging-solutions/fresh-food-packaging/meat/tray-of-meat/fresh-meat-expanded-material-trays-map-packaging-in-tray-sealing>. Consultado el 10 de diciembre del 2015.

Gobantes, I; Gómez, R. 2007. Envasado de Alimentos. Aspectos técnicos del envasado al vacío y bajo atmósfera protectora. Alimentación, Equipos y Tecnología 1: 9-15.

Goulas, AE; Kontominas, MG. 2007. Combined effect of light salting, modified Xatmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry 100: 287-296.

Graciano, AZ; Peralta, E; Soto-Valdez, H. 2006. Permeabilidad y Vida Útil de los Alimentos. Tecnología-Permeabilidad. Alfa Editores Técnicos. ALIMENPack. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Son. México. pp. 15-19.

Guía Carburos Metálicos. Grupo Air Products. La guía más práctica del Envasado en Atmósfera Protectora (EAP). pp 1-80. Disponible en: <http://www.zeremat.es/wp-content/uploads/2014/04/Gu%C3%ADa-de-Envasado-en-EAP-Carburos-Metalicos.pdf>. Consultado el 22 de Abril del 2015.

Guía Índice - UPCCommons. Disponible en: <http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/5361/annex.pdf?sequence=2>

Hansen, A; Morkore, T; Rudi, K; Olsen, E; Eie, T. 2007. Quality changes during refrigerated storage of MA-Packaged pre-rigor fillets of farmed Atlantic Cod (*Gadus morhua* L.) using traditional MAP, CO₂ Emitter, and Vacuum. *Journal of food science* 72(9): 423-430.

Heidmann, MC; Oetterer, M. 2003. Use of Modified Atmosphere in Seafood. Preservation. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 46(4): 569-580.

Hernández H, M. 2011. Calidad del pescado: fresca y métodos de evaluación. Eroski Consumer. Ciencia y tecnología de los alimentos. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2005/07/20/19214.php/>. Consultado el 16 de diciembre del 2014.

Huss, HH. 1998. Cambios Post-Mortem en el Pescado. En *El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad*. FAO Documento Técnico de Pesca 348. Roma. Cap. 5. pp 64 -65.

ICMSF. (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 1998. *Microorganismos de los alimentos. Características de los patógenos microbianos*. Vol. 5. Ed. Acribia, S.A., Zaragoza. 620p.

ICMSF. (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2002. *Microorganisms in Foods 7, Microbiological Testing in Food Safety Management*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Springer, London.

IFFO (International Fishmeal and Fish Oil Organization). 2007. *La Producción de harina y aceite de pescado de la Ancholeta Peruana*. Disponible en: <http://www.iffonet.net>. Consultado el 20 de Octubre del 2008.

Illanes, JF. 2004. *Envases flexibles plásticos: Uso y aplicación en la industria alimentaria*. 2. Revisión Bibliográfica. Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de licenciado en ingeniería de alimentos. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de ingeniería de Alimentos.

IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2008. Anchoqueta. Disponible en: http://www.imarpe.pe/imarpe/index.php?id_detalle=000000000000000000302. Consultado el 22 de Abril del 2014.

ION. 2010. Estudio de Impacto Ambiental: Proyecto levantamiento sísmico 2D y 3D regional de la franja costera del Perú Tumbes – Tacna. Capítulo III: Línea base físico biológico económico social. Parte B: Medio biológico. ION-GX-TECHNOLOGY. GEOLAB SRL. pp. 471.

ISO 6579: 2002. Microbiología de los alimentos para consumo humano y alimentación animal - Método horizontal para la detección de *Salmonella spp.*

ISO 6888-1: 1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) – Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.

Junger, A; Castello, E; Borges, S. 2007. Avaliação da utilização de embalagem em atmosfera modificada sobre a conservação (*Sardinella brasiliensis*). Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas 27(1): 158-161.

Kalleda, RK; Han, IY; Toler, JE; Chen, F; Kim, HJ; Dawson, PL. 2013. Shelf Life Extension of Shrimp (White) Using Modified Atmosphere Packaging. Pol. J. Food Nutr. Sci. 63(2): 87-94.

Lerke, P; Bell, L. 1976. A Rapid Fluorometric Method for the Determination of Histamine in Canned Tuna. Journal of Food Science 1(48): 155-157

Martínez, L; Djenane, D; Cilla, I; Beltrán, JA; Roncalés, P. 2005. Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. Meat Science 71: 563–570.

Maza, S; Solari, A; Salas, A. 2008. Cambios en la Calidad de Anchoveta Entera y HG durante el almacenamiento en congelación. Bol Invest Inst tecnol pesq Perú 8: 37-44.

McDowell, D; Coles, R; Kirwan, MJ. 2004. Manual del envasado de alimentos y bebidas. A. Madrid Vicente y Mundi-Prensa Ediciones. Madrid-España. 311p.

Mendes, R; Goncalves, A. 2008. Effect of Soluble CO₂ Stabilization on the Quality of Fillets from Farmed Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) and European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). Journal of Aquatic Food Product Technology. 17(4): 342-366.

Microbiología de los alimentos, 2009. Microbiología de pescados y mariscos. Disponible en:<http://es.slideshare.net/SHAKAROON/microbiologia-de-pescados-y-mariscos>. Consultado el 6 de diciembre del 2015.

Mori, J; Buitrón, B; Perea, A; Peña, C; Espinoza, C. 2011. Variabilidad interanual en la estrategia reproductiva de la anchoveta peruana en la región norte-centro del litoral del Perú. Ciencias Marinas 37(4B): 513-525.

Multivac. Disponible en:

http://mues.multivac.com/fileadmin/PDF/2014/Chamber_Machines/Maquinas_de_campanas_ES.pdf. Consultado el 2 de diciembre del 2015.

Muratore, G; Licciardello, F. 2005. Effect of Vacuum and Modified Atmosphere Packaging on the Shelf-life of Liquid-smoked Swordfish (*Xiphias gladius*) Slices. Journal of food science 70(5): 359-363.

Norma sanitaria – MINSa. 2008. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. R.M. N° 591-2008-MINSa-27/06/2008.

Ospina M, SM; Cartagena V, JR. 2008. La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. Revista Lasallista de Investigación 5(2): 112-123. Corporación Universitaria Lasallista. Colombia.

Ozogul, F; Ozoğul, Y; Kuley, E. 2007. Nucleotide degradation in sardine (*Sardina pilchardus*) stored in different storage condition at 4°C. Journal of Fisheries Sciences.com. 1 (1):13-19.

Ozogul, F; Ozogul, Y. 2006. Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardines (*Sardina pilchardus*) stored in modified atmosphere packaging and vacuum. Food Chemistry 99: 574-578.

Ozogul, F; Polat, A; Ozogul, Y. 2004. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). Food Chemistry 85: 49-57.

Ozogul, F; Taylor, K; Quantick, P; Ozogul, Y. 2000. Chemical, microbiological and sensory evaluation of Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored in ice, modified atmosphere and vacuum pack. Food Chemistry 71: 267-273.

Ozogul, F; Taylor, K; Quantick, P; Ozogul, Y. 2002a. Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. International Journal of Food Science and Technology 37: 515-522.

Ozogul, F; Taylor, KDA; Quantick, P; Ozogul, Y. 2002b. Changes in biogenic amines in herring stored under modified atmosphere and vacuum pack. Journal of Food Science 67: 2497-2501.

Paine, FA; Paine, HY. 2009. Empaque de atmósfera modificada. Disponible en: <http://www.industriaalimenticia.com/articles/84200-empaque-de-atmosfera-modificada>
Consultado el 26 de Agosto del 2015.

Pantazi, D; Papavergou, A; Pournis, N; Kontominas, M; Savvaidis, I. 2008. Shelf-life of chilled fresh Mediterranean swordfish (*Xiphias gladius*) stored under various packaging conditions: Microbiological, biochemical and sensory attributes. *Food microbiology*. 25: 136-143.

Parry, RT. 1993. Principles and applications of Modified Atmosphere Packaging of foods, Chapman and Hall, London.

Pescados y mariscos. Manual de microbiología de los alimentos – capítulo 12. Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/12%20pescados%20y%20mariscos.pdf>. Consultado el 6 de diciembre del 2015.

Poli, BM; Messini, A; Parisi, G; Scappini, F; Vigiani, V; Giorgi, G; Vincenzini, M. 2006. Sensory, physical, chemical and microbiological changes in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets packed under modified atmosphere/air or prepared from whole fish stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology* 41: 444-454.

Pons, S; Veciana, MT; Bover, S; Marine, A; Vidal, MC. 2005. Use of volatile and non-volatile amines to evaluate the freshness of anchovies stored in ice. Departament de Nutrició i Bromatologia. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.

Pons, S. 2005. Estudio de alternativas para la evaluación de la frescura y la calidad del Boquerón (*Engraulis encrasicolus*) y sus derivados. Tesis Doctoral para optar el grado de doctor en Farmacia. Programa de doctorado Nutrición, Tecnología e Higiene de los Alimentos. Universitat de Barcelona.

Prentice, C; Sainz, RL. 2005. Cinética de deterioração apresentada por filés de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) embalados a vácuo sob diferentes condições de refrigeração. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(1): 127-131.

Reglamento (CE) N° 1022/2008 de la comisión por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 2074/2005 en lo que respecta a los valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT).

Rossano, R; Mastrangelo, L; Ungaro, N; Riccio, P. 2006. Influence of storage temperature and freezing time on histamine level in the European anchovy *Engraulis encrasicolus* (L., 1758): A study by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B* 830: 161-164.

SAINT-GOBAIN. Disponible en :

<http://www.biopharm.saint-gobain.com/en/Products.asp?ID=84>. Consultado el 2 de diciembre del 2015.

Saito, T; Arai, K; Matsuyoshi, M. 1959. A new method for estimating the freshness of fish. *Bull Japan Soc Sci Fish* 24: 749-750.

Salas, A; Ayala, ME; Albrecht-Ruiz, M. 2003. Cuantificación de ácidos grasos omega 3 en aceite crudo de pescado producido en el Perú durante los años 1996 al 2000. *Bol Inv. Ins. Tec. Pes. Perú* 5: 1-2.

Salas, A; Maza R, S; Barriga, M. 2008. Efecto de antioxidantes sobre la estabilidad de la pulpa de anchoveta durante el almacenamiento en congelación. *Bol. invest. Inst. tecnol. pesq. Perú* 8: 75-83.

Sallam, KI. 2007. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids. *Food Chemistry* 101: 592-600.

Sánchez; Sosa; Chavez. 2004. Manipuleo y conservación de la Anchoveta peruana para consumo humano directo. *Boletín de Investigación del Instituto Tecnológico Pesquero del Perú* 6: 39-46

Sanjuás R, M. 2012. Aplicación de sistemas avanzados para la mejora de la calidad de productos marinos refrigerados de interés comercial. Tesis para optar el grado de doctor.

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Santiago de Compostela. Pp. 235.

Sanjuás, M; Garcia, B; Fuertes, JR; Aubourg, S; Barros, J. 2012. Effect of a natural organic acid-icing system on the de sardinhas microbiological quality of commercially relevant chilled fish species. *LWT - Food Science and Technology* 46: 217-223.

SIICEX (Sistema Integrado de Información de Comercio Exterior). 2014. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/anchoveta.pdf>. Consultado el 22 de Abril del 2014.

Sivertsvik, M; Jeksrud, W; Rosnes, T. 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products-significance of microbial growth, activities and safety. *Int. J. Food Sci. Tech.* 37: 107-127.

Tejada, M; Huidobro, A. 2002. Quality of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*) during ice storage related to the slaughter method and gutting. *European Food Research and Technology* 215: 1-7.

Tornadijo, ME; Fresno, JM. 2004. Fundamento, tecnología y aplicaciones del envasado de los alimentos en atmósfera modificada. *Alimentación, equipos y tecnología* 189: 101-109.

Torrieri, E; Cavella, S; Villani, F; Masi, P. 2006. Influence of modified atmosphere packaging on the chilled shelf life of gutted farmed bass (*Dicentrarchus labrax*). *J. Food Eng.* 77(4): 1078-1086.

Wang, T; Sveinsdóttir, K; Magnússon, H; Martinsdóttir, E. 2008. Combined Application of Modified Atmosphere Packaging and Superchilled Storage to Extend the Shelf Life of Fresh Cod (*Gadus morhua*) Loins. *Journal of Food Science S: Sensory and Food Quality* 73(1): 11-18.

WITT-GASETECHNIK GmbH & Co KG. Disponible en:

<http://www.geminibv.nl/labware/witt-oxybaby-v/witt-oxybaby-v-instruction-manual-eng.pdf>.

Consultado el 28 de febrero del 2015.

VII. ANEXOS

ANEXO 1.

FICHA TÉCNICA DE LÁMINA COEXTRUIDA DE ALTA BARRERA (FOR POUCHES/ P7340B).

Sealed Air
CRYOVAC
Food Packaging Systems

P73xxB
Laminates - Coex. High Barrier (For Pouches)

bolso
banda
capa
oxígeno

GENERAL DESCRIPTION: A Coextruded Web with a Nylon Skin, a LLDPE Sealant, and an EVOH Barrier. Structure Can Be Used as a Non-Forming Web, Forming Web, or a Uniweb.

APPLICATION PROPERTIES:

lado termico Heat Seal Range: 100 - 200°C (230 - 325°F)
de soldadura Nominal Seal Strength: 8 lbs. / linear inch
Core Diameter: 76 or 152 mm (3 or 6 inch)
Storage Conditions (Rolls): 25°C, 80% R.H. maximum, up to one year.

PERMEABILITY PROPERTIES OF AVAILABLE GAUGES (Typical Values):
disponible, medida

Structure	Gauge (mils)	OTR at 23°C, 0% R.H.		MVTR at 38°C, 90% R.H.	
		cc/m ² /day	cc/100 Sq. In./day	g/m ² /day	g/100 Sq. In./day
P7325B	2.5	5	0.3	14	0.9
P7330B	3.0	4	0.2	11	0.7
P7335B	3.5	3	0.2	9	0.6
P7340B	4.0	3	0.2	7	0.5
P7350B	5.0	2	0.1	6	0.4
P7360B	6.0	2	0.1	4	0.2
P7370B	7.0	1	0.1	3	0.2
P7380B	8.0	1	0.1	3	0.2

ASTM Method: D-3985 (left side), F-1249 (right side)

FOOD LAW APPROVAL: In compliance with Federal Food, Drug, and Cosmetic Act as amended and all applicable regulations for the packaging of all foods, with the possible exception of high alcoholic, at 212°F (100 °C) or below. Although in compliance with the above, additional Fitness For Use Restrictions may be placed on these structures by the Laminates Technical Support Group.

LETTER OF GUARANTEE: This statement is not intended to be used as a USDA Letter of Guarantee. Contact Customer Service for a Letter of Guarantee.

DISCLAIMER: This information represents our best judgment based on work done, but the company assumes no liability whatsoever in connection with the use of information or findings contained herein.

ANEXO 2.

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO PARA INDICADORES FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y SENSORIALES

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA INDICADOR pH.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.3396

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demas $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.3155

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA INDICADOR TMA.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1764

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.7457

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA INDICADOR BVT.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1916

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.3852

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA INDICADOR HISTAMINA.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.7895

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.0722

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA INDICADOR Valor K.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.6337

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.07881

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA *Aerobios mesófilos*.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.6787

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores**.

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1554

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas**.

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA Psicrófilos.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.8409

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demas $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1245

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA APARIENCIA.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1061

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.61811

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA TEXTURA.

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.2788

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.8551

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA OLOR

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.9461

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1147

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

SUPUESTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO: PARA SABOR

Prueba de Shapiro (Normalidad de Errores)

- Planteamiento de Hipótesis:

H_0 : Los errores se distribuyen normalmente

H_1 : Los errores no se distribuyen normalmente

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.7905

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de normalidad de errores.**

Prueba de Bartlett (Homogeneidad de Varianzas)

- Planteamiento de Hipótesis:

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2$

H_1 : Al menos un σ_i^2 es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Nivel de Significación: 5%

- Prueba Estadística: p-value = 0.1409

- Criterio de Decisión:

P-value > 0.05, No se Rechaza la hipótesis planteada.

P-value <= 0.05, Se Rechaza la hipótesis planteada.

- Conclusión: A un nivel de significación del 5% no existe evidencia estadística para rechazar la hipótesis planteada. Por lo tanto **se cumple con el supuesto de homogeneidad de Varianzas.**

ANEXO 3.

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANVA) DE LOS TRATAMIENTOS (EAM, EV, A) PARA INDICADORES FÍSICO-QUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS.Y SENSORIALES

A. ANVA PARA pH

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

H_1 : Al menos un μ_i es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	0.01554	0.007772	14.07	0.001238	**
Bloques	5	0.04164	0.008329	15.08	0.000221	***
Error experimental	10	0.00552	0.000552			
Total	17	0.0627				

Leyenda	Nivel de Significación
.	10% ó 0.1
*	5% ó 0.05
**	1% ó 0.01
***	0.10% ó 0.001

- Conclusión:

Con un $P_{valor} = 0.0012$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando el nivel promedio de pH.

B. ANVA PARA TRIMETILAMINA (TMA)

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

H_1 : Al menos un μ_i es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	0.7318	0.3659	25.24	0.000124	***
Bloques	5	2.7341	0.5468	37.73	3.56E-06	***
Error experimental	10	0.145	0.0145			
Total	17	3.6109				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.00012$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando el nivel promedio de TMA.

C. ANVA PARA BASES VOLÁTILES TOTALES (BVT)

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

H_1 : Al menos un μ_i es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	7.36	3.68	12.75	0.00178	**
Bloques	5	73.05	14.61	50.61	8.87E-07	***
Error experimental	10	2.89	0.289			
Total	17	83.3				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.0018$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando el nivel promedio de BVT.

D. ANVA PARA HISTAMINA

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es diferente a los demás } i = 1,2,3$$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	2.948	1.4742	8.06	0.00822	**
Bloques	5	3.819	0.7637	4.175	0.02611	*
Error experimental	10	1.829	0.1829			
Total	17	8.596				

- Conclusión: con un $P_{\text{Valor}} = 0.008$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando el nivel promedio de histamina.

E. ANVA PARA FRESCURA QUÍMICA (Valor K)

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es diferente a los demás } i = 1,2,3$$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	27.8	13.9	1.772	0.219	ns
Bloques	5	824.8	164.96	21.03	5.18E-05	***
Error experimental	10	78.4	7.84			
Total	17	931				

- Conclusión: con un $P_{\text{Valor}} = 0.219$, se puede afirmar que entre los tratamientos evaluados no existe diferencias significativas, analizando el nivel promedio de valor K.

F. ANVA PARA *Aerobios mesófilos*

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

H_1 : Al menos un μ_i es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	1390211	695106	7.302	0.01109	*
Bloques	5	7392578	1478516	15.532	1.95E-04	***
Error experimental	10	951922	95192			
Total	17	9734711				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.011$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando el nivel promedio de *Aerobios mesófilos*.

G. ANVA PARA Psicrofilos

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

H_1 : Al menos un μ_i es diferente a los demás $i = 1,2,3$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	33924	16962	10.64	0.00334	**
Bloques	5	46848	9370	5.88	8.66E-03	**
Error experimental	10	15936	1594			
Total	17	96708				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.0033$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando el nivel promedio de Psicrofilos.

H. ANVA PARA APARIENCIA

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es diferente a los demás } i = 1,2,3$$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	1.5317	0.76585	9.4921	0.0048886	**
Bloques	5	5.7434	1.14868	14.237	0.0002828	***
Error experimental	10	0.8068	0.08068			
Total	17	8.0819				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.005$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando la calificación promedio de apariencia

I. ANVA PARA TEXTURA

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es diferente a los demás } i = 1,2,3$$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	1.7166	0.85828	11.1	0.0028891	**
Bloques	5	4.771	0.9542	12.34	0.0005144	***
Error experimental	10	0.7732	0.07732			
Total	17	7.2608				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.003$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando la calificación promedio de textura.

J. ANVA PARA OLOR

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es diferente a los demás } i = 1,2,3$$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	1.1497	0.57483	8.2039	0.0077865	**
Bloques	5	4.8946	0.97891	13.9709	0.0003063	***
Error experimental	10	0.7007	0.07007			
Total	17	6.745				

- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.008$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando la calificación promedio de olor.

K. ANVA PARA SABOR

Prueba de igualdad de medias

- Planteamiento de Hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1: \text{Al menos un } \mu_i \text{ es diferente a los demás } i = 1,2,3$$

- Prueba estadística:

Fuente de variación	G.L	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Fcal.	Prob. Pr>F	Signif.
Tratamiento	2	1.1497	0.57483	8.3663	0.0073247	**
Bloques	5	5.1531	1.03061	15	0.0002265	***
Error experimental	10	0.6871	0.06871			
Total	17	6.9899				

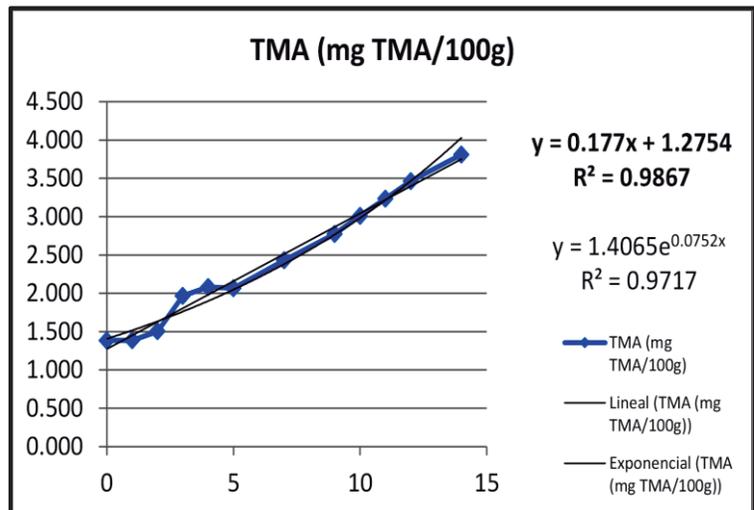
- Conclusión: con un $P_{\text{valor}} = 0.007$, se puede afirmar al 5% de significación que al menos un tratamiento es diferente a los demás, analizando la calificación promedio de sabor.

ANEXO 4.

CÁLCULO DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA ANCHOVETA FRESCA EN CORTE HGT ENVASADA CON ATMÓSFERA MODIFICADA, SEGÚN ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

➤ Índice de calidad evaluado: Trimetilamina(TMA)

Tiempo (días)	TMA (mg TMA/100g)
0	1.384
1	1.386
2	1.504
3	1.967
4	2.081
5	2.066
7	2.430
9	2.774
10	3.010
11	3.235
12	3.463
14	3.811



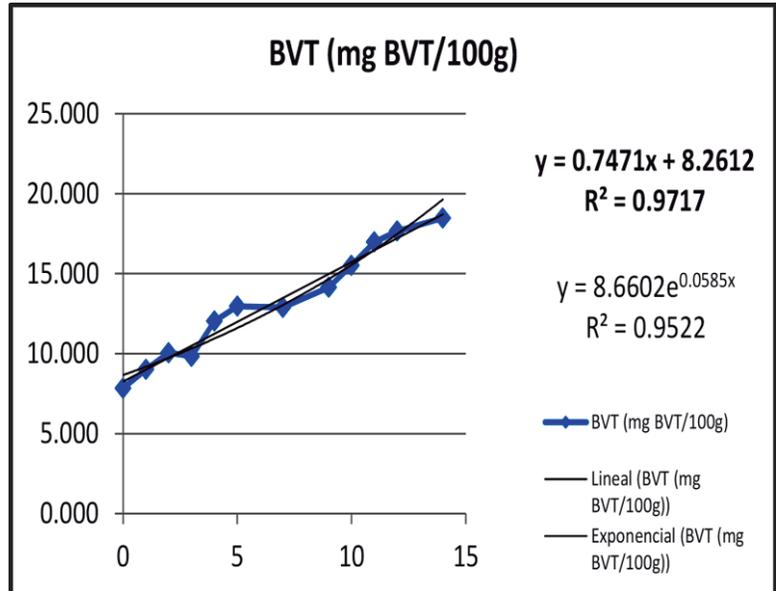
Límite crítico para TMA= 5 mg TMA/100g

Reacción de orden cero

Tiempo = 21.0429379 = 21 días

➤ Índice de calidad evaluado: Bases volátiles totales (BVT)

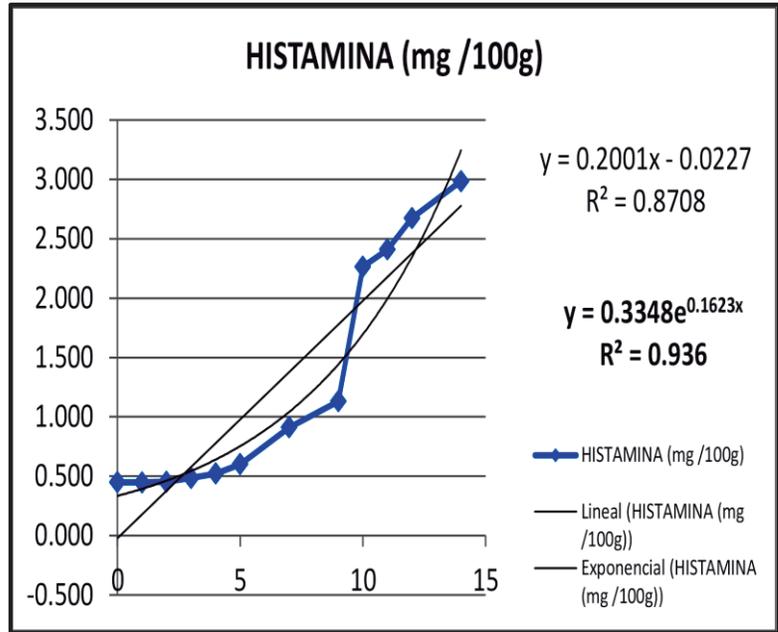
Tiempo (días)	BVT (mg BVT/100g)
0	7.840
1	9.009
2	10.061
3	9.833
4	12.028
5	12.965
7	12.886
9	14.147
10	15.515
11	16.982
12	17.662
14	18.479



Límite crítico para BVN= 20 mg BVT/100g
 Reacción de orden cero
 Tiempo = 15.7124883 = **15 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Histamina

Tiempo (días)	HISTAMINA (mg /100g)
0	0.449
1	0.448
2	0.454
3	0.485
4	0.522
5	0.601
7	0.911
9	1.131
10	2.264
11	2.409
12	2.675
14	2.985



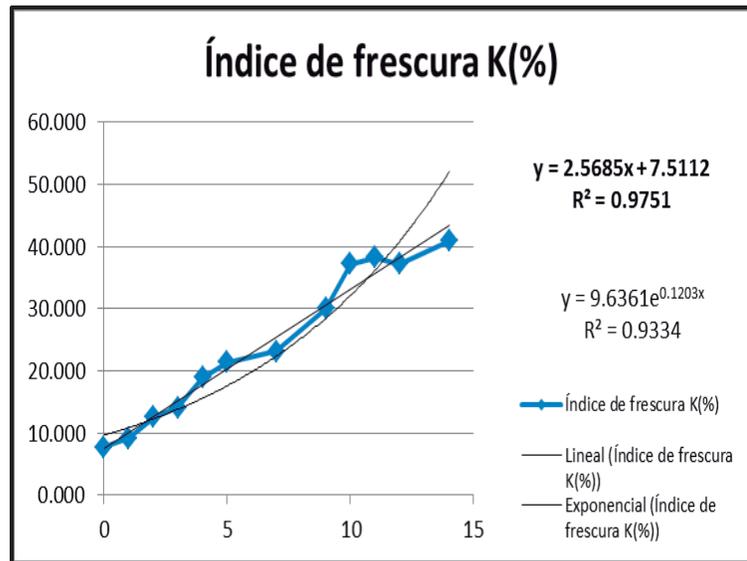
Límite crítico para HISTAMINA= 5 mg histamina/100g

Reacción de orden 1

Tiempo = 16.6584094 = 16 días

➤ Índice de calidad evaluado: Índice de frescura K

Tiempo(días)	Índice de frescura K(%)
0	7.741
1	9.182
2	12.553
3	14.113
4	18.924
5	21.340
7	23.119
9	30.042
10	37.207
11	38.191
12	37.165
14	40.897



Límite crítico para valor K= 40%

Reacción de orden cero

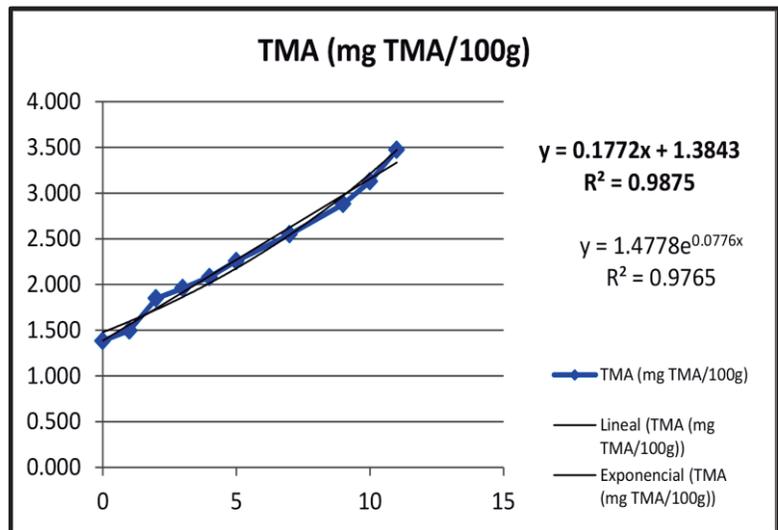
Tiempo = 12.6489391 = 12 días

ANEXO 5.

CÁLCULO DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA ANCHOVETA FRESCA EN CORTE HGT ENVASADA AL VACÍO, SEGÚN ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

➤ Índice de calidad evaluado: Trimetilamina(TMA)

Tiempo (días)	TMA (mg TMA/100g)
0	1.384
1	1.497
2	1.849
3	1.961
4	2.082
5	2.257
7	2.549
9	2.881
10	3.128
11	3.473



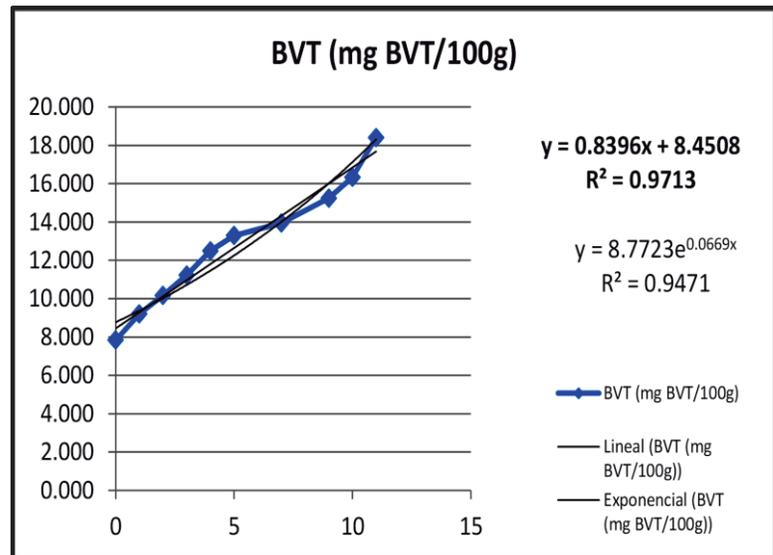
Límite crítico para TMA= 5 mg TMA/100g

Reacción de orden cero

Tiempo = 20.4063205 = **20 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Bases volátiles totales (BVT)

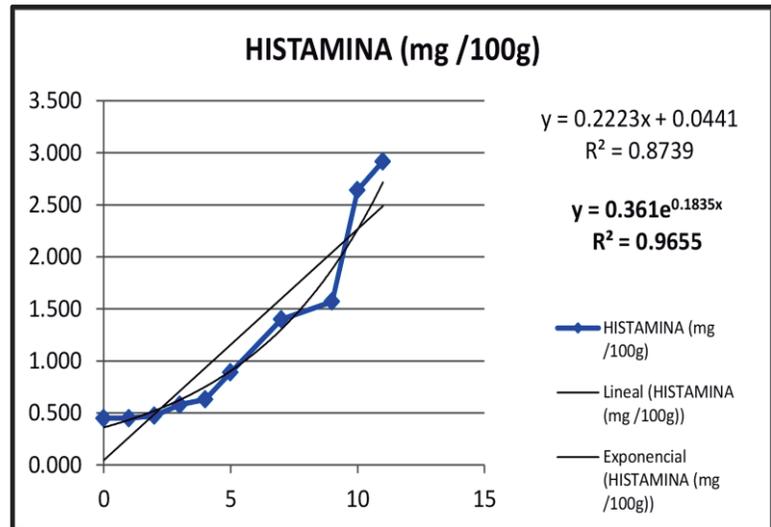
Tiempo (días)	BVT (mg BVT/100g)
0	7.840
1	9.211
2	10.169
3	11.233
4	12.490
5	13.289
7	13.947
9	15.246
10	16.336
11	18.405



Límite crítico para BVN= 20 mg BVT/100g
 Reacción de orden cero
 Tiempo = 13.7555979 = **13 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Histamina

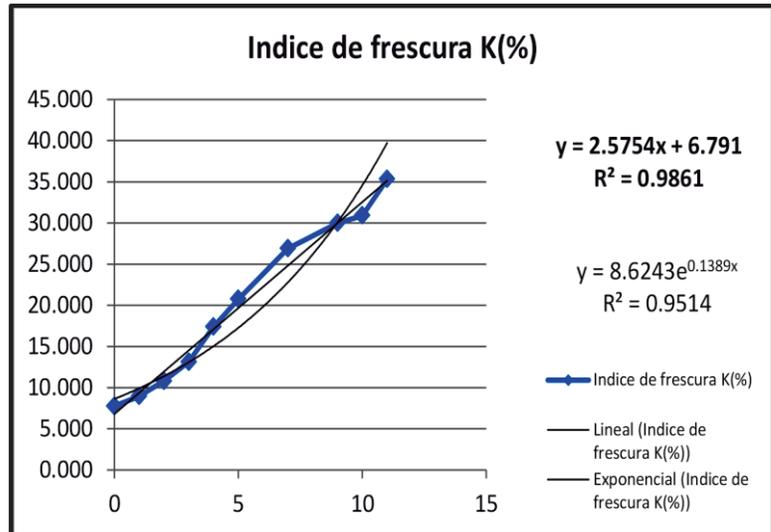
Tiempo (días)	HISTAMINA (mg /100g)
0	0.449
1	0.450
2	0.473
3	0.579
4	0.630
5	0.890
7	1.400
9	1.570
10	2.642
11	2.917



Límite crítico para HISTAMINA= 5 mg histamina/100g
 Reacción de orden 1
 Tiempo = 14.3232438 = **14 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Índice de frescura K

Tiempo (días)	Índice de frescura K(%)
0	7.741
1	8.955
2	10.794
3	13.112
4	17.394
5	20.743
7	26.891
9	29.986
10	30.899
11	35.316



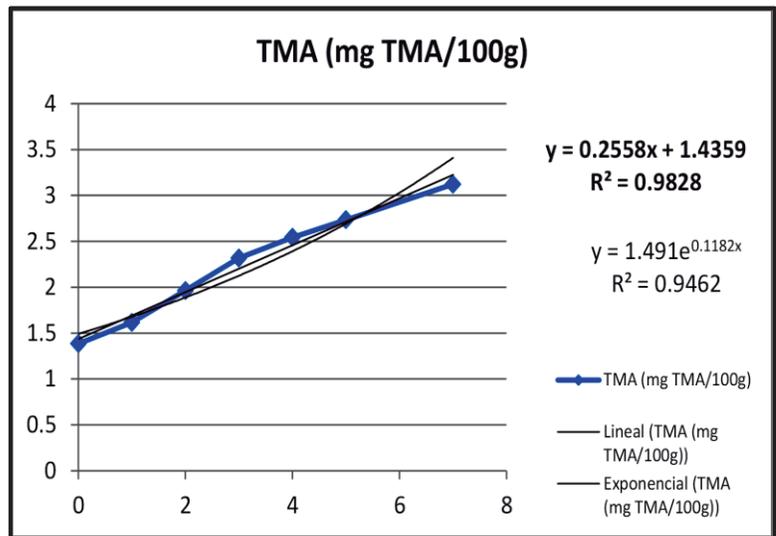
Límite crítico para valor K= 40%
 Reacción de orden cero
 Tiempo = 12.894696 = **12 días**

ANEXO 6.

CÁLCULO DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA ANCHOVETA FRESCA EN CORTE HGT ENVASADA EN CONDICIONES ATMOSFÉRICAS NORMALES (AIRE), SEGÚN ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

➤ Índice de calidad evaluado: Trimetilamina(TMA)

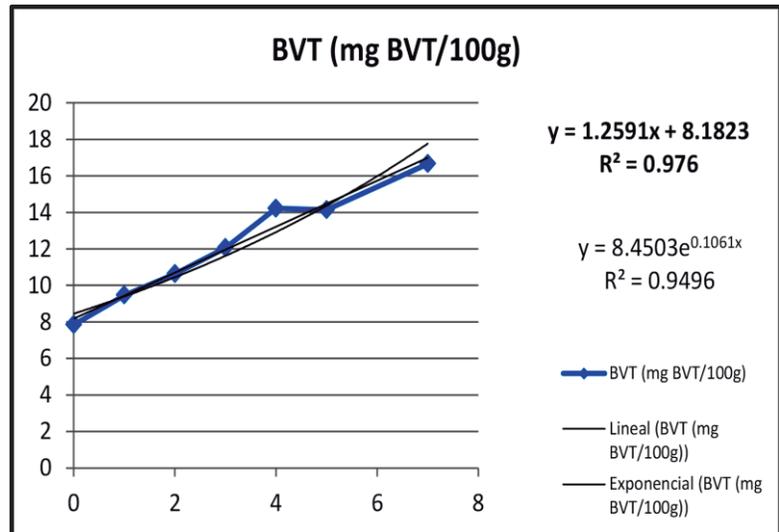
Tiempo (días)	TMA (mg TMA/100g)
0	1.384
1	1.615
2	1.963
3	2.317
4	2.542
5	2.735
7	3.122



Límite crítico para TMA= 5 mg TMA/100g
Reacción de orden cero
Tiempo = 13.9331509 = **13 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Bases volátiles totales (BVT)

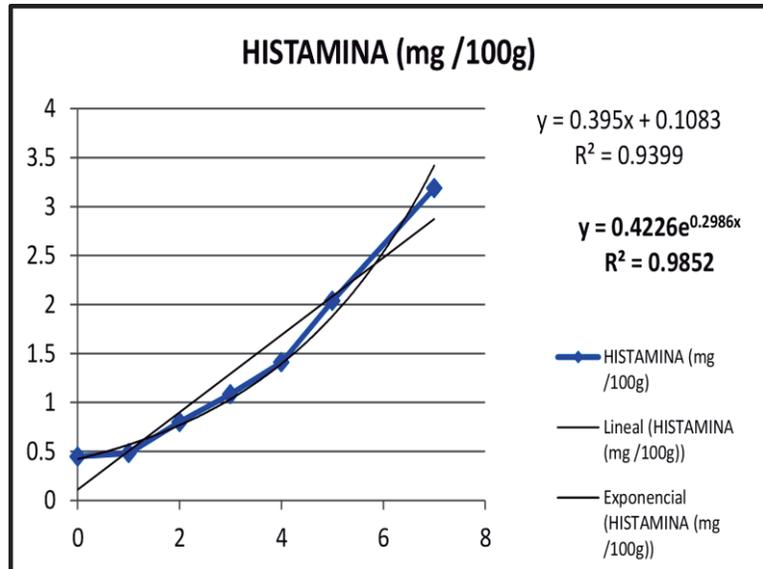
Tiempo (días)	BVT (mg BVT/100g)
0	7.84
1	9.46
2	10.625
3	12.049
4	14.215
5	14.135
7	16.652



Límite crítico para BVN= 20 mg BVT/100g
 Reacción de orden cero
 Tiempo = 9.38583115 = **9 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Histamina

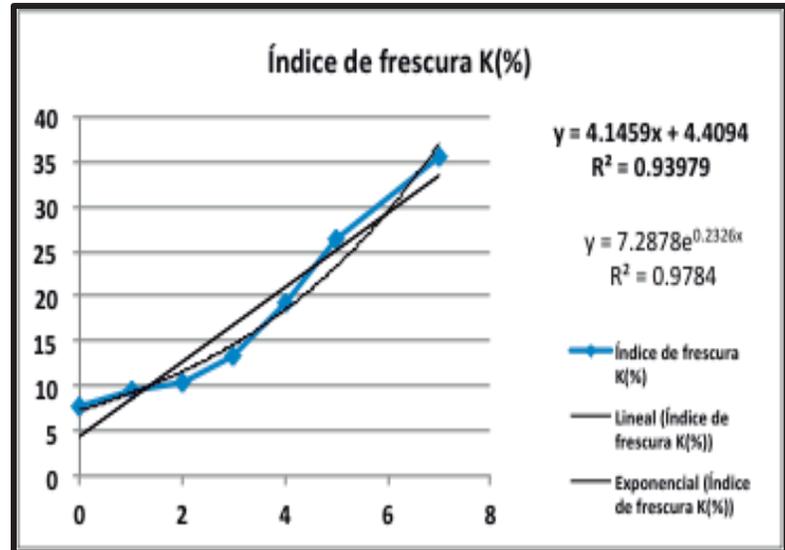
Tiempo (días)	HISTAMINA (mg /100g)
0	0.449
1	0.482
2	0.8
3	1.085
4	1.409
5	2.037
7	3.187



Límite crítico para HISTAMINA= 5 mg histamina/100g
 Reacción de orden 1
 Tiempo = 8.27450464 = **8 días**

➤ Índice de calidad evaluado: Índice de frescura K

Tiempo (días)	Índice de frescura K(%)
0	7.741
1	9.393
2	10.403
3	13.387
4	19.226
5	26.282
7	35.644



Límite crítico para valor K= 40%

Reacción de orden 1

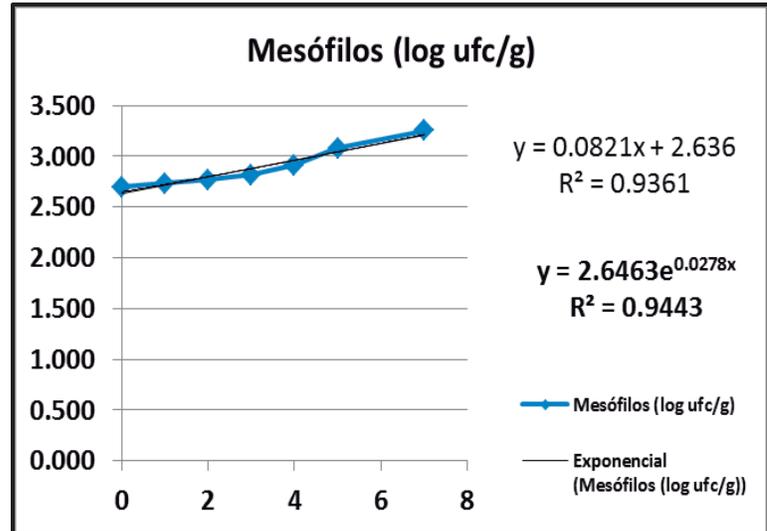
Tiempo = 7.3201966 = 7 días

ANEXO 7.

CÁLCULO DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA ANCHOVETA FRESCA EN CORTE HGT ENVASADA CON ATMÓSFERA MODIFICADA, SEGÚN ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

- Índice de calidad evaluado: *Aerobios mesófilos*

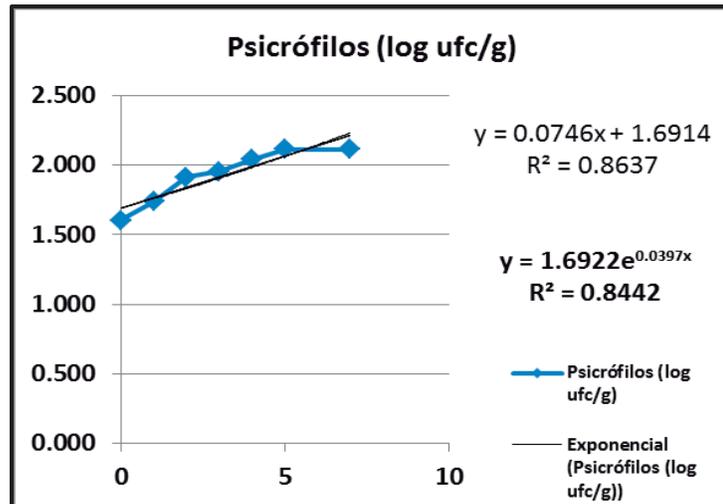
Tiempo (días)	Mesófilos (log ufc/g)
0	2.699
1	2.732
2	2.771
3	2.813
4	2.908
5	3.079
7	3.255



Límite crítico para mesófilos= 5.699 log ufc/g
Reacción de orden 1
Tiempo = 27.59454255 = 27 días

➤ Índice de calidad evaluado: Psicrófilos

Tiempo (días)	Psicrófilos (log ufc/g)
0	1.602
1	1.740
2	1.914
3	1.954
4	2.041
5	2.114
7	2.114



Límite crítico para psicrófilos= 6 log ufc/g

Reacción de orden 1

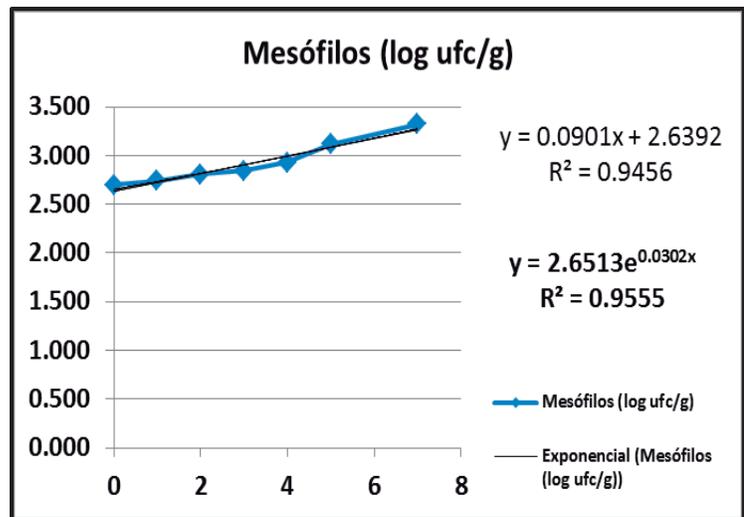
Tiempo = 31.882368 = 31 días

ANEXO 8.

CÁLCULO DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA ANCHOVETA FRESCA EN CORTE HGT ENVASADA AL VACÍO, SEGÚN ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

➤ Índice de calidad evaluado: *Aerobios mesófilos*

Tiempo (días)	Mesófilos (log ufc/g)
0	2.699
1	2.740
2	2.806
3	2.845
4	2.929
5	3.114
7	3.322



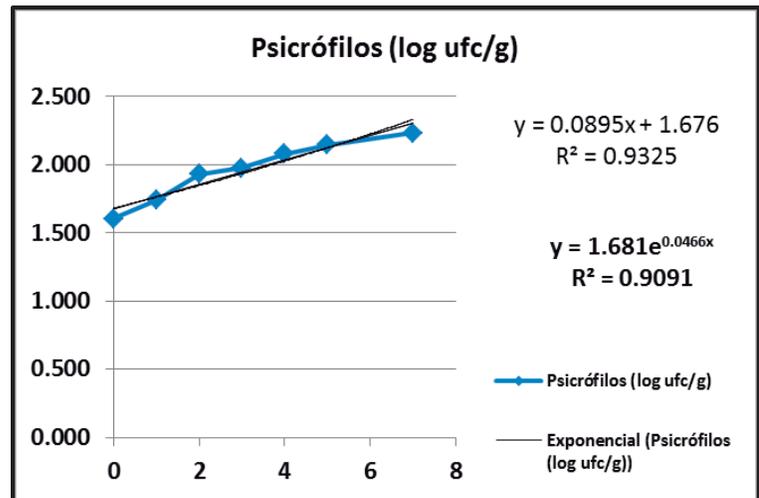
Límite crítico para mesófilos= 5.699 log ufc/g

Reacción de orden 1

Tiempo = 25.339094 = 25 días

➤ Índice de calidad evaluado: Psicrófilos

Tiempo (días)	Psicrófilos (log ufc/g)
0	1.602
1	1.740
2	1.929
3	1.973
4	2.079
5	2.146
7	2.230



Límite crítico para psicrófilos= 6 log ufc/g

Reacción de orden 1

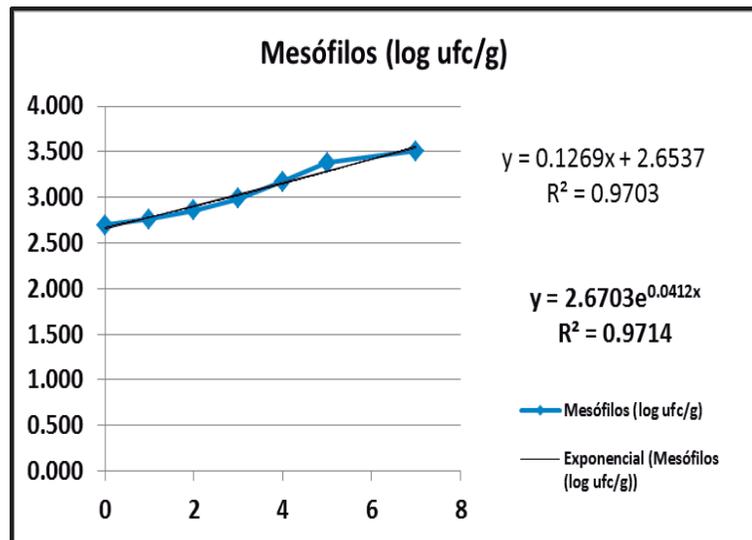
Tiempo = 27.3040904 = 27 días

ANEXO 9.

CÁLCULO DEL TIEMPO DE VIDA ÚTIL DE LA ANCHOVETA FRESCA EN CORTE HGT ENVASADA EN CONDICIONES ATMOSFÉRICAS NORMALES (AIRE), SEGÚN ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

➤ Índice de calidad evaluado: *Aerobios mesófilos*

Tiempo (días)	Mesófilos (log ufc/g)
0	2.699
1	2.763
2	2.857
3	2.987
4	3.176
5	3.380
7	3.505



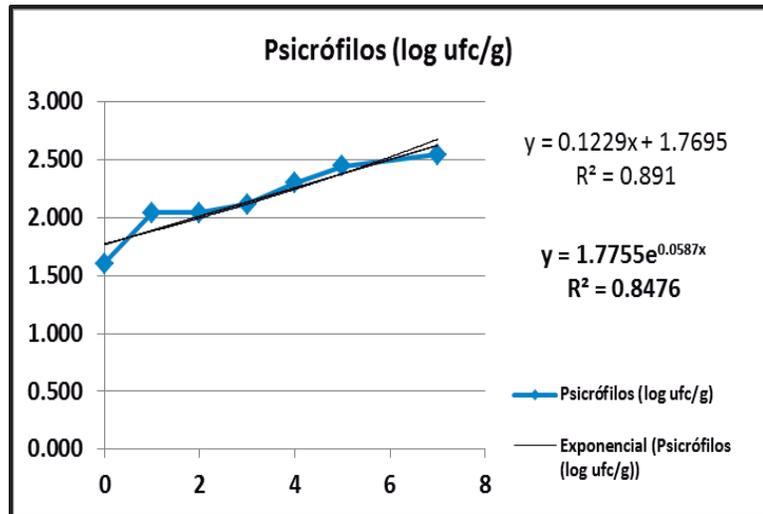
Límite crítico para mesófilos= 5.699 log ufc/g

Reacción de orden 1

Tiempo = 18.40048289 = 18 días

➤ Índice de calidad evaluado: Psicrófilos

Tiempo (días)	Psicrófilos (log ufc/g)
0	1.602
1	2.041
2	2.041
3	2.114
4	2.301
5	2.447
7	2.544



Límite crítico para psicrófilos= 6 log ufc/g

Reacción de orden 1

Tiempo = 20.744078 = 20 días