

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE PESQUERÍA**



RELACIÓN ENTRE EL GRADO DE MADUREZ SENSORIAL Y  
PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN DE  
ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) EN ANCHOAS.

Presentado por:

VERÓNICA DEL CARMEN VALVERDE VERA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE  
INGENIERO PESQUERO

Lima – Perú

2018

# UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

## FACULTAD DE PESQUERÍA

*“RELACIÓN ENTRE EL GRADO DE MADUREZ SENSORIAL Y  
PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN DE  
ANCHOVETA (*Engraulis ringens*) EN ANCHOAS”*

*Presentado por:*

***Verónica Del Carmen Valverde Vera***

*Tesis para optar el Título de:*

***INGENIERO PESQUERO***

*Sustentado y aprobado por el siguiente jurado*

---

***M. Sc. Raúl Del Carmen Porturas Olaechea***

*Presidente*

---

***Ing. Nancy Martínez Ordinola***

*Miembro*

---

***Mg. Sc. Daniel Percy Rojas Hurtado***

*Miembro*

---

***Dra. Fabiola Otilia Olivares Ponce***

*Asesor*

---

***M. Sc. Víctor Miguel Albrecht Ruiz***

*Co – asesor*

*Lima, 2018*

## **DEDICATORIA**

*A mi familia, por brindarme un hombro para descansar.*

*A mi abuela, por inspirarme.*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por darme la fortaleza y determinación para afrontar las dificultades en mi camino, y por permitirme cumplir mis pequeños pero infinitos sueños.

A mis padres Pedro y Mónica, por su particular apoyo desde siempre y a mi hermana Juana por su incondicional compañía.

A mi abuela Ana, por sus consejos de vida a través de sus relatos.

A la Dra. Fabiola Olivares, asesora de la presente investigación, por su constante apoyo en este proceso, por el aporte de sus conocimientos y por el tiempo brindado en el moldeamiento de la tesis.

Al Mg.Sc. Miguel Albrecht, co-asesor de la presente investigación, por consolidar las bases de esta tesis, por sus acertadas correcciones, por incentivar me a desear más en el ámbito profesional y por su particular amistad.

Al Instituto Tecnológico de la Producción (ITP), en especial al área de Curados y Fermentados y al Laboratorio de Físico Química, por aprobar el desarrollo de la presente investigación en sus instalaciones.

A mis amistades del grupo de investigación, por su complicidad durante la investigación y por sus consejos en todos los ámbitos posibles.

A la empresa APPECA S.R.L., por brindar sus instalaciones para el desarrollo de las pruebas y por apoyar con el financiamiento de la presente investigación.

Al Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT), por el financiamiento al Proyecto N° 226-2015.

# ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN	
SUMMARY	
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Anchoveta peruana ( <i>Engraulis ringens</i> ) .....	3
2.1.1. Características biológicas .....	3
2.1.2. Distribución geográfica .....	4
2.1.3. Explotación .....	5
2.1.4. Composición química y estructura .....	6
2.1.5. Valor nutricional .....	6
2.2. ANCHOAS EN SALAZÓN .....	7
2.2.1. Situación mundial de anchoas .....	7
2.2.2. Mercado de anchoa en base a la anchoveta ( <i>E. ringens</i> ).....	7
2.3. MADURACIÓN DE ANCHOAS .....	9
2.3.1. Proceso de elaboración de anchoas .....	9
2.3.2. Salazón .....	10
2.3.3. Maduración .....	11
2.3.4. Teorías de maduración .....	11
2.3.5. Procesos relacionados con los cambios durante la maduración .....	12
2.4. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN ANCHOAS .....	14
2.5. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE ANCHOAS .....	15

2.5.1. Composición proximal .....	15
2.5.2. Controles de proceso .....	15
2.5.3. Variables de maduración .....	16
2.6. INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES OPERATIVAS DURANTE LA MADURACIÓN .....	18
2.6.1. Temperatura .....	18
2.6.2. Presión .....	19
2.7. INOCUIDAD EN ANCHOAS .....	19
2.7.1. Control de histamina .....	19
2.7.2. Control microbiológico .....	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN .....	21
3.2. MATERIA PRIMA .....	21
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	21
3.4. EVALUACIÓN SENSORIAL .....	26
3.4.1. Preparación de la muestra .....	26
3.4.2. Ensayo .....	26
3.5. ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS .....	28
3.5.1. Preparación de la muestra .....	28
3.5.2. Determinación de Humedad .....	28
3.5.3. Determinación de Cenizas .....	28
3.5.4. Determinación de Proteína Total .....	29
3.5.5. Determinación de Grasas .....	30
3.5.6. Actividad de Agua .....	30
3.5.7. Contenido de NaCl .....	30
3.5.8. pH .....	31

3.5.9. Prueba de Grado de Hidrólisis .....	31
3.5.10. Índice de Proteólisis .....	32
3.5.11. Índice de Esterificación .....	33
3.5.12. Determinación de Ácido Tiobarbitúrico .....	33
3.5.13. Determinación de Bases Volátiles Nitrogenadas .....	34
3.5.14. Determinación de Nitrógeno de Trimetilamina .....	35
3.5.15. Histamina .....	36
3.6. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS .....	38
3.6.1. Preparación de la muestra .....	38
3.6.2. Ensayo de Aerobios Mesófilos .....	38
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	41
4.1. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN ANCHOAS A PARTIR DE ANCHOVETA .....	41
4.2. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EN ANCHOAS A PARTIR DE ANCHOVETA .....	48
4.2.1. Composición proximal .....	48
4.2.2. Controles de proceso .....	49
4.2.3. Variables de Maduración .....	51
4.3. INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES OPERATIVAS DURANTE LA MADURACIÓN .....	66
4.3.1. Temperatura .....	66
4.3.2. Presión .....	67
4.4. INOCUIDAD EN ANCHOAS .....	68
4.4.1. Control de histamina .....	68
4.4.2. Control microbiológico .....	69

V. CONCLUSIONES .....	71
VI. RECOMENDACIONES .....	74
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	75
VIII. ANEXOS .....	83



## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
<b>Cuadro 1.</b> Desembarque por tipo de utilización de la anchoveta en los últimos años .....	5
<b>Cuadro 2.</b> Participación en la exportación de anchoas en salazón y conservas de anchoas en los últimos años .....	8
<b>Cuadro 3.</b> Participación en el desembarque según tipo de utilización para CHD del recurso anchoveta ( <i>E. ringens</i> ) en los últimos años .....	9
<b>Cuadro 4.</b> Tabla modificada y adaptada para la evaluación sensorial de anchoas en salazón ( <i>E. ringens</i> ) .....	27
<b>Cuadro 5.</b> Tabla elaborada para la evaluación sensorial de anchoas en salazón en base a la anchoveta ( <i>E. ringens</i> ) .....	42
<b>Cuadro 6.</b> Condiciones de proceso en las diferentes zonas de maduración .....	51
<b>Cuadro 7.</b> Niveles de Histamina en las diferentes zonas de maduración .....	69
<b>Cuadro 8.</b> Contenido microbiológico en las diferentes zonas de maduración .....	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Anchoveta peruana ( <i>Engraulis ringens</i> ) .....	3
<b>Figura 2.</b> Distribución geográfica de anchoveta.....	4
<b>Figura 3.</b> Diseño Experimental .....	24
<b>Figura 4.</b> Flujo de procesamiento de maduración de anchoas .....	25
<b>Figura 5.</b> Cambios en la coloración durante la maduración de la anchoveta .....	43
<b>Figura 6.</b> Puntaje Sensorial Total en las diferentes Zonas de Maduración .....	44
<b>Figura 7.</b> Evolución de la adherencia (a), color (b), olor (c), consistencia (d) y sabor (e) por semanas en cada zona de maduración .....	45
<b>Figura 8.</b> Composición proximal (a) humedad, (b) ceniza, (c) proteína y (d) grasa por cada zona durante la maduración .....	48
<b>Figura 9.</b> Controles de proceso (a) Actividad de agua, (b) Contenido de NaCl y (c) pH por cada zona durante la maduración .....	50
<b>Figura 10.</b> Relación del grado de madurez sensorial con el grado de hidrólisis en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco .....	52
<b>Figura 11.</b> Relación del grado de madurez sensorial con el índice de proteólisis en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco .....	54

**Figura 12.** Relación del grado de madurez sensorial con el índice de esterificación (g KOH/ 100g mtra seca) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco ..... 57

**Figura 13.** Relación del grado de madurez sensorial con el ácido tiobarbitúrico (mg MAD/ Kg mtra) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco ..... 59

**Figura 14.** Relación del grado de madurez sensorial con el nitrógeno básico volátil total (mg NBV – T/ 100g mtra) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco ..... 62

**Figura 15.** Relación del grado de madurez sensorial con el nitrógeno de trimetilamina (mg N – TMA/ 100g mtra) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco ..... 64

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
<b>Anexo 1.</b> Proceso de Producción .....	83
<b>Anexo 2.</b> Análisis estadístico ensayo grado de hidrólisis .....	88
<b>Anexo 3.</b> Análisis estadístico ensayo índice de proteólisis .....	90
<b>Anexo 4.</b> Análisis estadístico ensayo nitrógeno básico volátil total .....	92
<b>Anexo 5.</b> Análisis estadístico ensayo nitrógeno de trimetilamina .....	94

## RESUMEN

La presente investigación evaluó los cambios sensoriales y fisicoquímicos durante la maduración de anchoveta peruana (*Engraulis ringens*). Las pruebas experimentales se realizaron en diferentes empresas, se evaluaron el grado de maduración sensorial, el grado de hidrólisis, el índice de proteólisis, el índice de esterificación, el contenido de ácido tiobarbitúrico, de bases volátiles nitrogenadas totales y de nitrógeno de trimetilamina. La correlación entre las variables se analizó mediante regresión lineal simple y la diferencia entre pruebas se analizó mediante ANOVA. Se encontró una buena relación entre el grado de maduración sensorial, el grado de hidrólisis, el índice de proteólisis y el contenido de bases volátiles nitrogenadas totales, mostrando que la maduración se rige principalmente por la formación de compuestos nitrogenados, estos parámetros fisicoquímicos no se pueden considerar indicadores de maduración ya que los valores reportados difieren significativamente entre las pruebas estudiadas. Además, se propuso una tabla de evaluación sensorial específica para la anchoveta peruana debido a que el desarrollo de sus características sensoriales difiere de otras anchoas usadas para la maduración.

### **Palabras claves:**

*Engraulis ringens*, anchoveta peruana, anchoas en salazón, maduración, evaluación sensorial, cambios fisicoquímicos.

## SUMMARY

The present investigation evaluated the sensory and physicochemical changes during the ripening of Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*). The experimental tests were carried out in different companies, where the degree of sensory ripening, the degree of hydrolysis, the proteolysis index, the ester index, the content of thiobarbituric acid, total volatile basic nitrogen and trimethylamine nitrogen were evaluated. The correlation between variables was analyzed using simple linear regression and the difference between tests was analyzed using ANOVA. A good relationship was found between the degree of sensory ripening, the degree of hydrolysis, the proteolysis index and the content total volatile basic nitrogen, showing that ripening was mainly done by the formation of nitrogen compounds, these physicochemical parameters cannot be considered ripening indicators because the values reported differed between the tests studied. Additionally, a specific sensory evaluation table for the Peruvian anchovy was proposed because the development of its sensory characteristics differs from others anchovies used for ripening.

### **Keywords:**

*Engraulis ringens*, Peruvian anchovy, salted anchovies, ripening, sensory assessment, physicochemical changes.

## I. INTRODUCCIÓN

La anchoa en salazón es un producto original del Mediterráneo definido como la especie *Engraulis spp.* desprovista de cabeza y vísceras debidamente sazonada en sal común, prensada y madurada (BOE 1964, Filsinger *et al.* 1982). Las anchoas se comercializan a partir de diferentes engráulidos, entre ellos la *E. ringens*, la cual registra el mayor nivel de explotación y ocupa el quinto puesto de calidad de anchoas en el ranking mundial (APPAAP, citado por García *et al.* 2008, MAPAMA 2013).

Perú es uno de los principales productores a nivel mundial, según la categoría semiconservas de anchoas en salazón se posiciona en primer puesto con aproximadamente 4 100 toneladas, según las categorías barriles y filetes de anchoas en salazón se posiciona en octavo puesto con aproximadamente 3 100 toneladas. Los principales mercados de exportación para esta industria son España, Estados Unidos e Italia sustentadas por las principales productoras Inversiones PRISCO S.A.C., Compañía Americana de Conservas S.A.C. y Anchoveta S.A.C. (UN Contrade 2017, PROMPERÚ 2017).

La maduración involucra complejas transformaciones fisicoquímicas que incluyen proteólisis, lipólisis y oxidación de lípidos (Czerner 2011). De los diferentes estudios realizados en *E. encrasicolus* y en *E. anchoíta*, se reporta que el índice de proteólisis, el contenido de bases volátiles nitrogenadas totales y el índice de esterificación presentan buena relación ya sea respecto al tiempo de maduración o respecto al grado de madurez sensorial (Filsinger *et al.* 1982, Pérez 1995, Hernández Herrero *et al.* 1999, Czerner 2011), sin embargo, en *E. ringens* aún no se reportan parámetros que presenten buena relación.

La producción de anchoas a partir de anchoveta peruana toma como referencia la producción de otros engraulidos, además la escasa información en la maduración de anchoveta ha ocasionado variabilidad en la calidad del producto terminado, por ello esta investigación tiene como finalidad estudiar la relación del desarrollo de las características sensoriales con los cambios fisicoquímicos durante el proceso de maduración de anchoveta como una alternativa que contribuya con información para mitigar la problemática del sector, por otro lado, debido a las diferencias en el desarrollo de las características sensoriales entre anchoas provenientes de diferentes engraulidos, se propuso una tabla de análisis sensorial específica para la maduración de anchoveta.

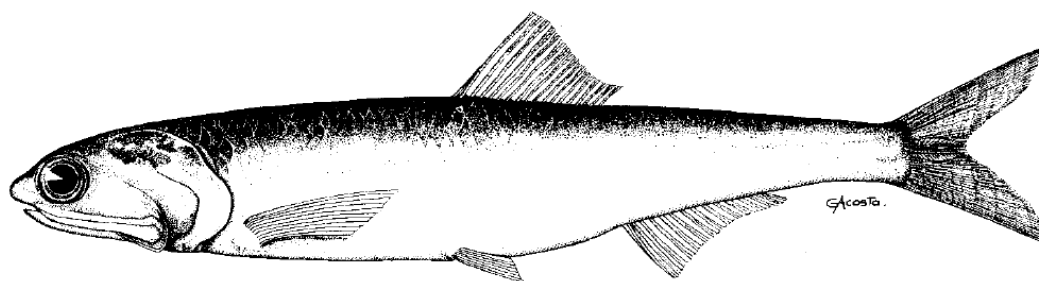


## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ANCHOVETA PERUANA (*Engraulis ringens*)

#### 2.1.1. Características biológicas

La familia *Engraulidae* se caracteriza por su cuerpo alargado y lateralmente comprimido, aleta dorsal única implantada en la parte central del cuerpo y aletas ventrales en posición abdominal, sin línea lateral, de escamas cicloideas, ojos grandes y boca inmensa. El color en el dorso varía entre tonalidades de azul oscuro brillante al verdoso claro brillante, en la zona ventral tonalidad plateada, las aletas caudales varía entre tonalidades claras y negras (**Figura 1**) (Hildebrand 1946).



**Figura 1:** Anchoveta peruana (*Engraulis ringens*)

**FUENTE:** Jordán y Chirinos de Vildoso (1965)

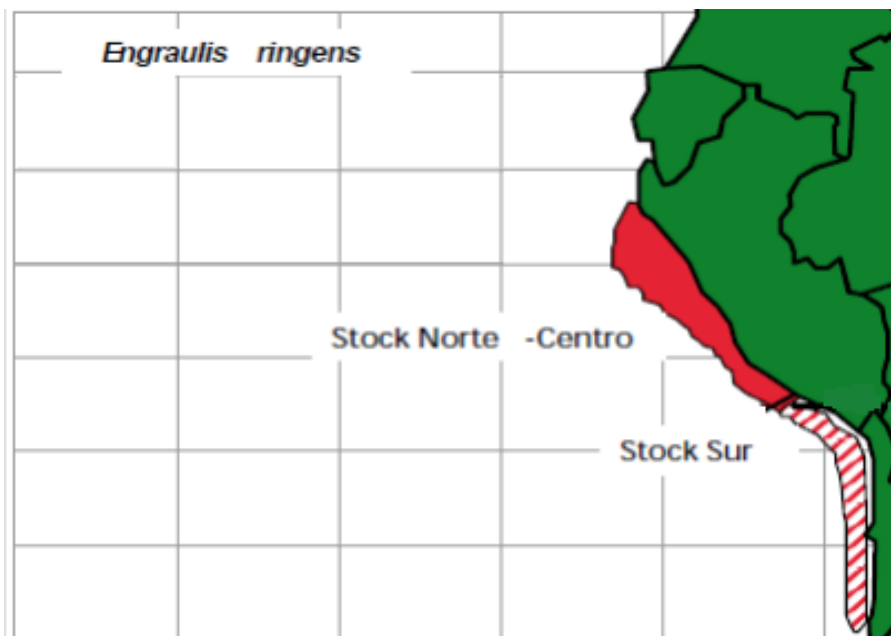
Los cardúmenes de anchoveta no se separan de acuerdo a la edad, su longevidad no sobrepasa los tres años, se considera un individuo adulto aproximadamente al año. (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965).

Las épocas de desove ocurren en dos picos de mayor intensidad, en invierno/primavera (Julio a Septiembre) y en verano (Febrero y Marzo) (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965, Whitehead *et al.* 1988). Se considera una especie desovadora parcial debido a que realizan desoves esporádicos durante el año (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965, Bouchon *et al.* 2010), además la reproducción está sujeta a los cambios ambientales (IMARPE 2014).

La alimentación guarda relación con la madurez sexual y el desove, la anchoveta es principalmente planctófaga (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965), posee predilección por el zooplancton (Bouchon *et al.* 2010).

### 2.1.2. Distribución geográfica

Especie costera distribuida dentro de las 50 millas y ocasionalmente hasta las 100 millas (Jordán 1971). El stock norte - centro está distribuido en el Perú desde Zorritos ( $04^{\circ}30'S$ ) hasta Chala ( $16^{\circ}00'S$ ) y el stock del sur está distribuido desde Chala ( $16^{\circ}00'S$ ) hasta el norte de Chile ( $24^{\circ}00'S$ ) (Jordán 1971, Chirichigno y Vélez, citado por Bouchon *et al.* 2010).



**Figura 2: Distribución geográfica de anchoveta**

**FUENTE:** Bouchon *et al.* (2010)

Las mayores concentraciones de anchoveta se registran en las costas norte y centro del Perú (Jordán 1971) (**Figura 2**), debido a la amplitud continental y a las corrientes ecuatoriales (IMARPE 2014). La biomasa del stock sur representa el 10% de la biomasa del stock norte – centro (IMARPE 2015). Se atribuyen diferencias de carácter bioecológico del stock sur respecto al stock norte – centro puesto que presenta otro tipo de alimentación y un solo pico de desove (IMARPE 2014).

### 2.1.3. Explotación

La flota dedicada a la extracción de anchoveta se conoce como bolicheras, trabajan con red de cerco con abertura de malla de 13 mm (IMARPE 2014). Los principales puertos de desembarque son Pisco, Callao y Chimbote (IMARPE 2016). El desembarque promedio anual es de 4 millones de toneladas. La pesca industrial esta regularizada por temporadas y es principalmente dirigida a consumo humano indirecto (CHI). La pesca artesanal se da durante todo el año puesto que proviene de zonas costeras y es principalmente dirigida a consumo humano directo (CHD) (IMARPE 2014, PRODUCE 2013, 2015a, 2015b, 2016).

Los porcentajes de participación se mantienen tanto para CHI como para CHD a través de los años (**Cuadro 1**). La totalidad del desembarque del recurso varía principalmente por los cambios en las condiciones oceanográficas (PRODUCE 2013, 2015a, 2015b, 2016).

**Cuadro 1: Desembarque por tipo de utilización de la anchoveta en los últimos años**

<i>E. ringens</i>	TOTAL	CONSUMO HUMANO INDIRECTO		CONSUMO HUMANO DIRECTO	
		TM	% Part	TM	% Part
2012	3 776 880	3 693 871	97.8	83 009	2.2
2013	4 859 056	4 754 118	97.8	104 937	2.2
2014	2 322 228	2 263 933	97.5	58 296	2.5
2015	3 769 920	3 686 798	97.8	83 122	2.2

**FUENTE:** Elaborado con base en PRODUCE 2013, 2015a, 2015b, 2016.

#### **2.1.4. Composición química y estructura**

La composición química de la anchoveta se compone por aproximadamente el 72% de humedad, 1.5% de ceniza, 20% de proteína y entre 0.9-14% de grasa (Ayala *et al.* 2003), cabe mencionar que existe diferencias en la composición química del músculo claro y oscuro, ya que, en el último el contenido de grasa y micronutrientes como hierro y cobre es mayor (Albrecht y Salas 2015). La proteína es la que se mantiene relativamente constante y es la grasa la que tiene mayores fluctuaciones. Las variaciones en la composición química de individuos de una misma especie dependen de factores externos como la disponibilidad de plancton, de la alimentación, de la edad, del sexo, de la época de desove, de la salinidad y de la temperatura del agua, de las corrientes marinas, de la estación del año (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965, Ayala 1997, Czerner 2011, Belitz *et al.* 2012).

Las proteínas se dividen en sarcoplásmicas compuestas principalmente de enzimas, las proteínas del sistema contráctil conocidas como proteínas miofibrilares compuestas principalmente por miosina, actina y actomiosina y las proteínas del estroma que constituyen el tejido conjuntivo compuesto principalmente por colágeno (Ayala 1997, Belitz *et al.* 2012). Las sustancias nitrogenadas no proteicas compuestas principalmente por aminoácidos libres, péptidos, bases púricas, óxido de trimetilamina y bases volátiles (De la Torre 1984). Los lípidos se dividen en estructurales compuestos por fosfolípidos que conforman estructuras de membrana y los lípidos de reservas compuestas por triglicéridos que conforman las células grasas (Ayala 1997).

#### **2.1.5. Valor nutricional**

En la anchoveta peruana, las proteínas contienen alto valor nutricional y biológico con todos los aminoácidos esenciales, los lípidos contienen ácidos grasos esenciales como linoleico (omega 6), linolénico (omega 3), en este último, el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexanoico (DHA) además contienen bajos niveles de colesterol (Ayala 1997, Ruiter 1999).

## **2.2. ANCHOAS EN SALAZÓN**

Producto tradicional del Mediterráneo (Filsinger *et al.* 1982), se conoce a la anchoa en salazón como la especie *Engraulis encrasicolus* desprovista de cabeza y vísceras debidamente sazonada en sal común, prensada y madurada (BOE 1964); por normativa se permite la denominación de anchoas a los diferentes engráulidos, siempre y cuando se especifique la especie (MAPAMA 2013). Las anchoas garantizan su estabilidad comercial por la baja actividad de agua ( $a_w$ ) y la alta concentración de sal (Czerner 2011). La exportación de anchoas se registra en tres categorías; barriles de anchoas en salazón, filetes de anchoas en salazón y semiconservas de anchoas en salazón (UN Contrade 2017).

### **2.2.1. Situación mundial de anchoas**

En la época de los 70' se abre el mercado de anchoas elaboradas a partir de otros engráulidos, debido a la sensibilidad biológica del recurso *E. encrasicolus* (Bertolotti y Manca 1986, MAPAMA 2013).

El recurso *E. encrasicolus* es el de mayor reputación entre las anchoas, seguido por *E. japonica*, *E. capensis*, *E. anchoíta*, *E. ringens* en orden de preferencia de calidad de anchoas en el ranking mundial (APPAAP, citado por García *et al.* 2008).

### **2.2.2. Mercado de anchoa en base a la anchoveta (*E. ringens*)**

Perú y Chile son competidores directos ya que ambos producen anchoas en base a la *E. ringens*, los principales mercados para Perú son España, Estados Unidos e Italia, mientras que para Chile son Estados Unidos, Japón y España (García *et al.* 2008, PROMPERÚ 2017).

#### **a. Producción y exportación de anchoas en Perú**

La participación destinada a productos curados del desembarque de CHD es mínimo, sin embargo, se debe tener en cuenta que las semiconservas de anchoas podrían estar contabilizadas en la participación destinada a enlatados, lo que significaría un alza en la producción de anchoas (**Cuadro 3**) (PRODUCE 2013, 2015a, 2015b, 2016).

Por otro lado, la participación en la exportación de anchoas en salazón y de semiconservas de anchoas aumentó en los últimos años (**Cuadro 2**), lo que posiciona a Perú como uno de los principales productores en el mundo (PROMPERÚ 2013, 2014, 2015, 2016, 2017; UN Contrade 2017). Las principales productoras que sustentan este nivel de exportación son Inversiones Prisco S.A.C., Compañía Americana de Conservas S.A.C. y Anchoveta S.A.C. (PROMPERÚ 2017).

#### **b. Productos de competencia**

Existen dos líneas de competencia para el producto. La primera hace referencia a la exportación en el rubro de curados, donde son prioritarias las anchoas en salazón, seguidos por las aletas de tiburón y el pepino de mar (PROMPERÚ 2017). La segunda hace referencia a la producción (**Cuadro 1, Cuadro 3**) y exportación de anchoveta tanto para CHI (harina y aceite de pescado) como para las diferentes presentaciones de CHD (congelados y conservas tipo sardina) (PRODUCE 2013, 2015a, 2015b, 2016, PROMPERÚ 2013, 2014, 2015, 2016, 2017).

**Cuadro 2: Participación en la exportación de anchoas en salazón y conservas de anchoas en los últimos años**

EXPORTACIÓN	CURADOS	ANCHOAS EN SALAZÓN		CONSERVAS	CONSERVAS DE ANCHOAS	
	Mill. US\$	Mill. US\$	% Part	Mill. US\$	Mill. US\$	% Part
2012	48.8	7.4	15.2	112.6	20	17.8
2013	23.3	1.6	7	117.7	27.5	23.4
2014	29.1	4	13.8	102.9	39.4	38.3
2015	33.1	23	70*	77.9	33.3	42.7
2016	28.9	17	59*	58.2	31.4	54

\* Se reestructura la clasificación de productos curados lo que ocasiona un alza en el % Part.

**FUENTE:** Elaborado con base en PROMPERÚ 2013, 2014, 2015, 2016, 2017.

**Cuadro 3: Participación en el desembarque según tipo de utilización para CHD del recurso anchoveta (*E. ringens*) en los últimos años**

CHD	FRESCO		ENLATADO		CONGELADO		CURADO*	
	TM	% Part	TM	% Part	TM	% Part	TM	% Part
2012	231	0.3	64 814	78	9 879	11.9	8 085	9.8
2013	222	0.2	86 785	82.7	5 056	4.8	12 874	12.3
2014	674	1.2	34 825	59.7	2 948	5.1	19 848	34
2015	102	0.1	66 889	80.4	4 314	5.2	11 817	14.2

\* Comprende curado artesanal e industrial.

**FUENTE:** Elaborado con base en PRODUCE 2013, 2015a, 2015b, 2016.

### 2.3. MADURACIÓN DE ANCHOAS

#### 2.3.1. Proceso de elaboración de anchoas

El procesamiento de la anchoa a nivel mundial es básicamente artesanal por la reducida participación de maquinarias (García *et al.* 2008), por lo que la composición química de las especies y las variaciones aplicadas en el flujo de proceso se relacionan con las características sensoriales del producto final.

La etapa de salado presenta diferencias de acuerdo a la especie, las anchoas a partir de *E. encrasicolus* y *E. anchoíta* se salan con ejemplares enteros mientras que las anchoas a partir de *E. ringens* se salan con ejemplares con corte H&G parcialmente eviscerados (De la Torre 1984, Bertolotti y Manca 1986, Maza y Salas 2004, Czerner 2011), ya que el desangrado influye en el color del filete de la anchoa, un menor desangrado presenta una coloración rojiza más pronunciada en la parte central del filete mientras que un mayor desangrado presenta una coloración homogénea del filete (Bertolotti y Manca 1986, Badui 2006), además reduce la cantidad de hemoproteínas ligadas a la oxidación del producto (Ashton y col., citado por Czerner 2011).

La industria decide el tamaño de los cristales de cloruro de sodio (NaCl) que aplica durante la salazón (FAO y OMS 2009), así como los niveles de prensa que aplica durante la maduración, en algunos casos los primeros días aplican una mayor prensa con la finalidad de reducir rápidamente la cantidad de agua del pescado y eliminar la mayor parte de grasa, además de desalojar el aire ocluido (Vásquez 1997, Czerner 2011).

### **2.3.2. Salazón**

Se considera al salado un proceso de deshidratación osmótica debido a que la fuerza impulsora para la remoción de agua se da por la diferencia entre la presión osmótica dentro del músculo y en la salmuera circundante (Czerner 2011), los principales componentes que se transportan son el agua, la sal y las proteínas (Barat y col., citado por Czerner 2011).

Las variables que afectan la velocidad del salado son el estado de *rigor mortis* (Wang y col., Lauritzen y col., citados por Czerner 2011), el contenido de lípidos (Daudin *et al.* 1991, Czerner 2011), el tipo de salazón (pila húmeda o pila seca) (Zugarramurdi y Lupín, citados por Czerner 2011), la temperatura y la concentración de la salmuera (Daudin *et al.* 1991, Czerner 2011).

El cloruro de sodio en concentraciones elevadas provoca un descenso de solubilidad de las proteínas lo que contribuye a su desnaturalización (Hernández Herrero *et al.* 1999, Belitz *et al.* 2012), y extracción de las proteínas miofibrilares, de modo que aumenta la presión osmótica y de esa forma inhibe la alteración de producto (Damodaran *et al.* 2010), una concentración a partir del 10% inhibe el crecimiento de microorganismos (Daudin *et al.* 1991).

El principal cambio para esta etapa se da en la mayor reducción de la humedad, lo que conlleva a un aumento en las cenizas por el contenido de NaCl de modo que estos se estabilizan cuando la humedad permanece constante (Czerner 2011).



La fase de salazón termina cuando la concentración de la sal en los tejidos es igual a la de la salmuera de los alrededores (Del Valle and Nickerson, Zugarramurdi and Lupin, citados por Stefánsson y Guðmundsdóttir 1995).

### **2.3.3. Maduración**

La maduración involucra una serie de complejas transformaciones fisicoquímicas que incluyen proteólisis, lipólisis y oxidación de lípidos (Czerner 2011). Inicialmente predominan reacciones de hidrólisis responsables de la digestión de proteínas, luego estas son superadas por reacciones de degradación de los productos hidrolizados (Gutiérrez *et al.* 1980), los procesos oxidativos son potenciados por sistemas enzimáticos endógenos y bacterianos, presencia de sangre, alta concentración de NaCl, baja actividad de agua (Czerner *et al.* 2009).

La velocidad de maduración se relaciona con la composición química del pescado con sus variaciones en el estado nutricional o en la alimentación, puesto que se asocia al nivel de estímulo de las enzimas proteolíticas (Pérez 1995, Maza y Salas 2004, Czerner 2011). También se relaciona con las condiciones del proceso (Vásquez 1997).

### **2.3.4. Teorías de maduración**

La naturaleza de las reacciones del madurado es sumamente complicada, se considera que la maduración es provocada por acción de enzimas musculares (Lepierre y Mercier, Establier y Gutiérrez, citados por Pérez 1995, Vásquez 1997), por enzimas proteolíticas digestivas (Gutiérrez *et al.* 1980, Pons-Sánchez *et al.* 2003) y aparentemente por participación microbiana (Durand, citado por Pérez 1995, Vásquez 1997).

Cabe mencionar que en el proceso de maduración predominan reacciones de proteólisis y lipólisis (Hall 2001). Se asocia principalmente al proceso enzimático proteolítico la autólisis de las sustancias proteicas, es decir, la disminución progresiva de las proteínas y sus derivados solubles (Gutiérrez *et al.* 1980, De la Torre 1984), mientras se asocia al proceso de lipólisis y oxidación el bouquet típico de los compuestos generados (Czerner 2011).

Durante la maduración las enzimas cumplen un rol fundamental (Pérez 1995). La hidrólisis enzimática es un proceso complejo dado que involucra reacciones simultáneas de ruptura de enlaces (Guadix *et al.* 2000, Benítez *et al.* 2008), las enzimas proteolíticas como tripsina y pepsina se encuentran en las paredes del estómago (Ayala 1997), mientras la catepsina se encuentra en el músculo y las enzimas lipolíticas como lipasas se encuentran en las vísceras (Badui 2006), las enzimas mencionadas son las que forman péptidos, degradan trimetilamina e hidrolizan lípidos (Ayala 1997). La tripsina y pepsina hidrolizan rápidamente las proteínas miofibrilares, actúan en el enlace peptídico de las proteínas y poseen grado de especificidad (Badui 2006, Belitz *et al.* 2012), la actividad pepsínica puede ser la principal enzima responsable del proceso de maduración (Gutiérrez *et al.* 1980), la catepsina hidroliza las proteínas a polipéptidos, aunque se debe considerar que su acción se reduce a concentraciones de sal superior al 15% (Fernández y Vitancurt 1999), las lipasas actúan en la interfase aceite-agua liberando ácidos grasos desde diglicéridos hasta glicerol (Badui 2006).

Además, la maduración podría asociarse a un proceso microbiológico ya que la microflora presente ocasionaría cambios fisicoquímicos al descomponer las proteínas y los lípidos del pescado (Czerner 2011). Sin embargo, la acción de los microorganismos se ve limitada debido a alta mortandad a causa de la elevada concentración de sal, se cree que las enzimas de estos microorganismos pueden seguir funcionando (Bostock y Coulter 1989).

### **2.3.5. Procesos relacionados con los cambios durante la maduración**

Los procesos que involucran cambios durante la maduración son la proteólisis, lipólisis, oxidación de lípidos y variaciones en los componentes volátiles.

La proteólisis es el rompimiento irreversible de enlaces covalentes de la proteína, fragmenta el esqueleto polipeptídico (Badui 2006). Cuando la degradación proteolítica se da por acción de proteasas, la estructura proteínica es afectada severamente; el grado de hidrólisis, así como el tipo de péptido producido depende de la enzima específica que fragmente a la

proteína (Badui 2006, Benítez *et al.* 2008). La hidrólisis del enlace peptídico es favorable en un entorno acuoso (Badui 2006).

La lipólisis es la hidrólisis del enlace éster de los triacilglicéridos y de los fosfolípidos catalizado por lipasas donde se liberan ácidos grasos, se efectúa incluso con una baja actividad de agua (Badui 2006). En la maduración, los productos de la lipólisis se relacionan con las características sensoriales de las anchoas, en especial con el atributo aroma (Gandemer, Toldrá, citados por Czerner 2011).

La oxidación de lípidos es la interacción de los lípidos con el oxígeno (O<sub>2</sub>), el mecanismo de la oxidación se da en la alteración de los ácidos grasos insaturados de la materia grasa. La primera fase llamada iniciación consiste en la formación de radicales libres que se estabilizan por descolocación con un enlace insaturado luego de sustraer un hidrógeno de un carbono, la segunda fase llamada propagación consiste en la formación de productos primarios inestables como hidroperóxidos por la fijación del oxígeno a los radicales libres, y la tercera fase llamada terminación consiste en la formación de productos secundarios estables dado que los radicales libres reaccionan entre sí y con productos oxidados resultantes de la escisión de los ácidos grasos iniciales (Adrian *et al.* 2000, Damodaran *et al.* 2010). Estos productos secundarios intervienen en la desnaturalización de las proteínas, ocasionando que pierdan sus propiedades funcionales y nutricionales (Ayala 1997). En las anchoas, los lípidos son susceptibles a la oxidación por poseer ácidos grasos de cadenas largas y altamente insaturadas (De la Torre 1984, Ayala 1997), además el NaCl tiene efecto prooxidante por su capacidad de desplazar al ion ferroso ligado a las macromoléculas (Kanner y col., Ashton y col., citados por Czerner 2011). La oxidación es catalizada por la enzima lipooxigenasa, por el ion ferroso libre y por las hemoproteínas (Czerner 2011), siendo esta última un potente catalizador (Ashton y col., citado por Czerner 2011).

Las variaciones en los componentes volátiles se dan por la actividad enzimática y bacteriana durante la maduración, se forman compuestos nitrogenados no proteicos como nitrógeno básico volátil total (NBV-T) y nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) (Mattos *et al.* 1976, Hernández-Herrero, citado por Czerner 2011). Los valores reportados en el contenido de

éstos estarían condicionados por la materia prima debido al contenido inicial de óxido de trimetilamina (O-TMA) (Huss, citado por Czerner 2011). La descomposición del O-TMA se acelera por la presencia de hemoproteínas, se reduce a N-TMA, dimetilamina y formaldehído (Aleman 1997).

#### **2.4. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN ANCHOAS**

La evaluación sensorial aún es la herramienta más útil para evaluar el proceso pese a que varios índices químicos hayan sido propuestos para valorar la progresión de la maduración (Triqui y Zouine 1999).

Es de gran importancia la calidad de la materia prima ya que influye en el producto final (Vásquez 1997). Por lo general, el producto madurado se caracteriza por un color rosado uniforme, sabor ajamonado, aroma agradable a ésteres volátiles, consistencia firme y baja adherencia de la carne al espinazo (Czerner 2011). El desarrollo de las características sensoriales está influenciado por la presencia de las vísceras, una rigurosa evisceración y limpieza implica una maduración más lenta con un producto que no adquiere el bouquet característico (Stefánsson y Guðmundsdóttir 1995), dicho bouquet está relacionado con los compuestos de la degradación de los productos hidrolizados, especialmente aminoácidos y péptidos (Gutiérrez *et al.* 1980, Stefánsson y Guðmundsdóttir 1995), y con los productos derivados de la oxidación (Czerner *et al.* 2009), además debe considerarse productos de la lipólisis como ácidos grasos y otros compuestos como nucleótidos (Maza y Salas 2004, Czerner 2011).

En la evolución del madurado, el atributo sensorial que presenta mayor velocidad es la adherencia al espinazo (Vásquez 1997, Czerner 2011), este se asocia a la hidrólisis de las proteínas miofibrilares que provocan ablandamiento del músculo, por lo que un exceso de hidrólisis daría como resultado una anchoa pastosa y desgranada (Sánchez Molinero, citado por Czerner 2011); y el atributo sensorial que presenta menor velocidad es el color (Vásquez 1997), determinado por el contenido de hemoproteínas con énfasis en la mioglobina (Czerner 2011) que repercute en la apariencia y aceptabilidad.

## **2.5. CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS EN ANCHOAS**

### **2.5.1. Composición proximal**

La humedad disminuye significativamente durante la salazón y permanece constante durante la maduración (Pérez 1995, Hernández Herrero *et al.* 1999, Maza y Salas 2004, Czerner 2011). Se reduce en *E. encrasicholus* hasta 48.4% (Pérez 1995), en *E. anchoíta* hasta 55% (Czerner 2011) y *E. ringens* hasta 50% (Vásquez 1997).

La ceniza aumenta significativamente durante la salazón y permanece constante durante la maduración luego de encontrar el equilibrio entre la humedad y la sal (Hernández Herrero *et al.* 1999, Czerner 2011). Aumenta en *E. encrasicholus* hasta 21% (Hernández Herrero *et al.* 1999) y en *E. anchoíta* hasta 19,5% (Czerner 2011).

La proteína disminuye gradualmente durante el proceso, aunque no significativamente, se asocia durante la salazón al paso de las proteínas solubles hacia la salmuera y durante el proceso a la proteólisis de músculo (Czerner 2011).

La grasa depende del contenido inicial, en *E. encrasicholus* se reporta una tendencia constante a lo largo del proceso (Hernández Herrero *et al.* 1999) mientras que en *E. anchoíta* se reporta fluctuaciones a lo largo del proceso (Czerner 2011).

### **2.5.2. Controles de proceso**

La actividad de agua determina el grado de interacción del agua con los demás constituyentes de un alimento, es una medida del agua libre por lo que mide indirectamente la disponibilidad para realizar diferentes reacciones químicas y bioquímicas que puedan suscitarse en el alimento (Colina 2010), guarda relación con la humedad y con el NaCl (Czerner 2011). Disminuye en la salazón y permanece constante durante la maduración (Czerner 2011). El valor reportado en *E. encrasicholus* es 0.8 (Hernández Herrero *et al.* 1999), en *E. anchoíta* es 0.75 (Czerner 2011) y en *E. ringens* es 0.74 (Vásquez 1997).

El contenido de NaCl determina el grado de salinidad de una sustancia, aumenta significativamente en la salazón. Los valores reportados en *E. encrasicholus* incrementaron progresivamente hasta 19% (Pérez 1995, Hernández Herrero *et al.* 1999), en *E. anchoíta* hasta 20,8% (Czerner 2011) y en *E. ringens* hasta 20% (Vásquez 1997).

El pH determina el grado de acidez o alcalinidad de una sustancia, se reduce en los primeros días de maduración, luego mantiene una tendencia constante (Hernández Herrero *et al.* 1999, Czerner 2011). Los valores reportados en *E. encrasicholus* es de 5.4 a 5.72 (Pérez 1995, Hernández Herrero *et al.* 1999), en *E. anchoíta* es de 5.63 a 5.74 (Czerner 2011) y en *E. ringens* es de 5.6 a 5.85 (Vásquez 1997, Maza y Salas 2004).

### **2.5.3. Variables de maduración**

#### **a. Grado de Hidrólisis**

Determina la relación del porcentaje de enlaces peptídicos hidrolizados respecto a los enlaces peptídicos totales de la proteína original, se analiza mediante la reacción de los grupos  $\alpha$ -aminos liberados con un reactivo que les dé coloración, adolece de falta de especificidad dado que no todos los grupos  $\alpha$ -aminos reaccionan completamente (Guadix *et al.* 2000, Benítez *et al.* 2008). Los cambios importantes de la hidrólisis proteica se dan en los primeros meses de maduración (Pérez 1995), un mayor grado de hidrólisis indica un mayor tiempo de reacción (Benítez *et al.* 2008).

#### **b. Índice de proteólisis**

Este índice explica la relación entre el contenido de nitrógeno no proteico (NNP) y el contenido de nitrógeno total (NT), en la fracción no proteica encontramos principalmente péptidos, aminoácidos, bases púricas y pirimídicas, creatina y creatinina, urea y amoníaco (Adrian *et al.* 2000). Se atribuye diferentes relaciones de proteólisis para las diferentes especies debido a la variación en la actividad enzimática (Maza y Salas 2004). En *E. encrasicholus* se evidencia que los niveles de nitrógeno proteico disminuyen mientras que los de nitrógeno no proteico aumentan, el índice de proteólisis presenta crecimiento lineal y una buena relación respecto al tiempo donde el punto de maduración reporta un valor de 40

(Pérez 1995). En *E. anchoíta* el índice de proteólisis aumenta y presenta una buena relación respecto al tiempo (Czerner 2011) donde el punto de maduración reporta un valor de 33 (Mattos *et al.* 1976). En *E. ringens* el índice de proteólisis aumenta de manera constante donde el punto de maduración reporta un valor de 20 (Maza y Salas 2004) aunque también se indica que no existe una relación del índice de proteólisis con el tiempo debido a que mantiene un valor constante antes de alcanzar el punto de maduración (Vásquez 1997).

### **c. Índice de Esterificación**

Análogo al índice de saponificación proporciona información sobre la longitud de las cadenas de los ácidos grasos puesto que es inversamente proporcional con el peso molecular de éstos, consiste en transformar en jabones solubles la totalidad de los ácidos grasos presentes en estado esterificado y en regenerar el glicerol en caso de los triglicéridos (Adrian *et al.* 2000). En *E. anchoíta* se reporta un aumento y buena relación respecto al tiempo, pero no durante la primera etapa de maduración dado que los valores fluctúan en un amplio rango, asimismo se reporta en escala logarítmica una buena relación del índice respecto al grado de madurez (Filsinger *et al.* 1982, Filsinger 1987), aunque también se reporta que los valores del índice no presentan la misma tendencia en diferentes experiencias por lo que no se considera un indicador de calidad (Filsinger *et al.* 1987).

### **d. Ácido Tiobarbitúrico**

Determina el estado de enranciamiento de un producto, valora los productos secundarios de la oxidación como aldehídos (principalmente malondialdehído) y detecta los ácidos grasos con tres o más dobles enlaces, adolece de falta de especificidad dado que reacciona con carbonilos no lipídicos (De la Torre 1984, Adrian *et al.* 2000, Damodaran *et al.* 2010). En *E. encrasicholus* se reporta fluctuaciones de manera acentuada sin apreciarse una tendencia (Pérez 1995) aunque también se reporta un incremento inicial para disminuir posteriormente (Hernández Herrero *et al.* 1999). En *E. anchoíta* se reporta un comportamiento similar donde se incrementa gradualmente manifestando la ocurrencia de oxidación para disminuir posteriormente debido a la formación de productos terciarios (Czerner *et al.* 2009).

#### **e. Nitrógeno Básico Volátil Total**

Determina la putrefacción formada por descomposición bacteriana, compuesto principalmente por amoníaco y N-TMA, las cuales se producen por la actividad de las enzimas bacterianas como tisulares (Sikorski 1994). En *E. encrasicholus* se reporta en el músculo una disminución inicial para luego presentar un aumento, mientras que en la salmuera se presenta un aumento continuo. Existe una alta relación entre NBV-T con el tiempo en las primeras semanas (Hernández Herrero *et al.* 1999). En *E. anchoíta* de igual modo se reporta en el músculo una disminución inicial por el traspaso a la salmuera debido al arrastre de las bases por la importante cantidad de agua que es expulsada, luego presenta un aumento continuo (Mattos *et al.* 1976, Czerner 2011). También existe una alta relación entre NBV-T con el tiempo (Filsinger *et al.*, citado por Hernández Herrero *et al.* 1999). La producción de NBV-T debe considerar las variaciones operativas del proceso (Czerner 2011).

#### **f. Nitrógeno de Trimetilamina**

Formada por la reducción del óxido de trimetilamina por acción bacteriana y enzimática (Bertullo 1975), el contenido inicial de este óxido en peces marinos es alrededor de 40-120 mg/Kg (Belitz *et al.* 2012). Si bien no existe en literatura información disponible respecto a este ensayo como índice de maduración, este se estudió en los otros engráulidos con la finalidad de determinar la calidad final de las anchoas, en *E. encrasicholus* y en *E. anchoíta* se reporta una ligera evolución a través del tiempo (Mattos *et al.* 1976, De la Torre 1984).

## **2.6. INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES OPERATIVAS DURANTE LA MADURACIÓN**

### **2.6.1. Temperatura**

Ejerce influencia de acuerdo al rango de temperatura que se aplica en el proceso de maduración. El incremento en la temperatura produce mayor activación de las reacciones degradativas del músculo por lo que influye en la digestión de las proteínas como en el tiempo de maduración, esto debido a que las enzimas proteolíticas trabajan en un rango de temperaturas favorables para dicha activación (Gutiérrez *et al.* 1980, Pérez 1995, Vásquez



1997, Badui 2006, Czerner 2011). Así pues, al disminuir la temperatura en el proceso, se lentifica la actividad de las enzimas, lo que lentifica la evolución del índice de proteólisis y del NBV-T (Czerner 2011).

### **2.6.2. Presión**

Ejerce influencia de acuerdo al rango de presión que se aplica en el proceso de maduración. Un nivel de presión insuficiente acelera la maduración, mientras que un nivel de presión excesivo no permite la maduración, una mayor presión aumenta el contenido de sal y reduce la  $a_w$  en el músculo (Filsinger 1987). El índice de proteólisis es afectado por valores de prensa entre 19-30 gf/cm<sup>2</sup>, mientras que valores mayores no ejercen diferencias significativas (Czerner 2011). El índice de esterificación disminuye cuando aumenta la presión (Filsinger 1987). El contenido de ácido tiobarbitúrico disminuye durante las primeras semanas, esto se asocia al nivel de prensa ya que el músculo al perder agua, lípidos y compuestos solubles (Hernández Herrero *et al.* 1999, Boeri y col., Durand, citados por Czerner 2011) podría perder productos secundarios de la oxidación (Czerner 2011). El contenido de NBV-T disminuye con un mayor nivel de prensa, ya que la presión disminuiría la disponibilidad de oxígeno del barril lo que condiciona la actividad microbiana de los grupos bacterianos participantes como aerobios y anaerobios facultativos (Hernández Herrero *et al.* 1999, Pons Sánchez-Cascado, citado por Czerner 2011).

## **2.7. INOCUIDAD EN ANCHOAS**

### **2.7.1. Control de histamina**

La histidina es un aminoácido esencial presente en los engráulidos y es la principal fuente para la formación de histamina, esta se da por la descarboxilación enzimática bacteriana (Yeannes, citado por Czerner 2011). La acumulación de las aminas puede deberse al contenido libre de histidina, la calidad de la materia prima, el incorrecto manipuleo, una lenta producción, la actividad enzimática de los microorganismos y las condiciones de maduración. La mayor formación de aminas ocurre antes que el pescado sea saturado en sal, posteriormente disminuye su producción (Pons-Sánchez *et al.* 2003), se recomienda que la etapa previa a salazón se realice hasta los 5°C para evitar el desarrollo de microorganismos

que puedan elevar de forma considerable el contenido de bases volátiles e histamina (FAO y OMS 2009, INDECOPI 2013).

El contenido de histamina permitido por la Unión Europea y por la norma técnica peruana debe ser como promedio del lote menor a 200 mg/Kg, pudiendo admitir dos muestras entre 200 a 400 mg/Kg (DOUE 2007, INDECOPI 2013), se reporta durante el proceso de maduración en *E. Encrasicolus* un contenido máximo de 20 mg/Kg (Pons-Sánchez *et al.* 2003) y en *E. ringens* un contenido máximo de 5.8 mg/Kg (Maza y Salas 2004).

### **2.7.2. Control microbiológico**

La calidad en salazón se puede perjudicar por la presencia de bacterias halófilas, la flora característica de las anchoas tolera altas concentraciones salinas y valores entre 0.74-0.78 de actividad de agua, se debe considerar bacterias que crecen en concentraciones entre 10-20% (Hall 2001, FAO y OMS 2009). De acuerdo a la norma técnica peruana, en las anchoas en salazón (producto terminado), los aerobios mesófilos tendrán como límite un recuento de  $1 \times 10^5$  UFC/g (INDECOPI 2013).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

La investigación se ejecutó en tres fases. La primera se realizó en Chimbote (APPESCA S.R.L.) con la producción de los barriles en salazón, la segunda se realizó en diferentes zonas, Parachique (MARINE FEEDS PERÚ), Chimbote (APPESCA S.R.L.), Lima (ITP) y Pisco (CONSERVAS CDF), con el almacenamiento de los barriles durante el período de maduración y la tercera se realizó en Lima (ITP) con el desarrollo de los análisis sensoriales, fisicoquímicos y microbiológicos de las anchoas.

#### **3.2. MATERIA PRIMA**

La anchoveta peruana (*Engraulis ringens*) se capturó en la zona de pesca FAO 87, en el puerto de Chimbote (09°04'S – 78°36'O) en mayo del 2016. En esta investigación se procesaron aproximadamente 3.5 TN de pescado almacenados en bodega a una temperatura próxima a 0°C con la finalidad de que preserve la calidad.

#### **3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL**

En la **Figura 3** se presenta el diseño experimental que se desarrolló en la investigación, se realizó el seguimiento a cuatro zonas debido a la importancia de acercar el estudio a las condiciones reales en las que se encuentran sometidos los barriles de anchoas durante la maduración.

En la **Figura 4** se presenta el diagrama de flujo utilizado en la producción de anchoas. Con la finalidad de eliminar la influencia de otros factores (composición química inicial de la materia prima, tipo de corte, tipo y tamaño de sal) se realizó desde la etapa de recepción de materia prima hasta la etapa de llenado de los barriles solamente en la procesadora APPECA. S.R.L. – Chimbote, posteriormente se realizó la etapa de maduración en las diferentes zonas propuestas.

Los análisis se desarrollaron desde la semana 0 hasta la semana 32; el análisis sensorial y las variables de estudio fueron analizados en todas las semanas propuestas, la composición proximal, la actividad de agua, los cloruros y el pH fueron analizados en semanas intercaladas, los niveles de histamina y los ensayos microbiológicos fueron analizados solo en la última semana propuesta. La cantidad de muestreo fue de 2 Kg/barril.

A continuación, se detallan las operaciones unitarias seguidas para la producción de anchoas:

- (a) **Recepción de materia prima.** La recepción de las anchovetas frescas se realizó en jabas con hielo (0°C) para mantener la cadena de frío. Además, se verificó que cumpla con las características sensoriales especificadas en los criterios físico organolépticos de los pescados grasos de acuerdo a la categoría de frescura para la anchoveta (*Engraulis ringens*) (ITP 2010).
  
- (b) **Corte.** Las anchovetas enteras se llevaron a las mesas de manipulación donde mediante corte manual se separaron cabeza, abdomen y cola, dejando la gónada y el apéndice pilórico, es importante conservar las vísceras ya que más adelante contribuirán en el proceso de maduración.
  
- (c) **Lavado.** El lavado se realizó en contenedores con agua donde las anchovetas se colocaron en canastillas que se sumergieron y agitaron vigorosamente por 15 segundos.

**(d) Desangrado.** Se acondicionó un contenedor de 700 litros de capacidad para el desangrado, se colocó el pescado en salmuera al 5% (sal molida refinada-gruesa sin yodo) alrededor de 10 a 15 minutos.

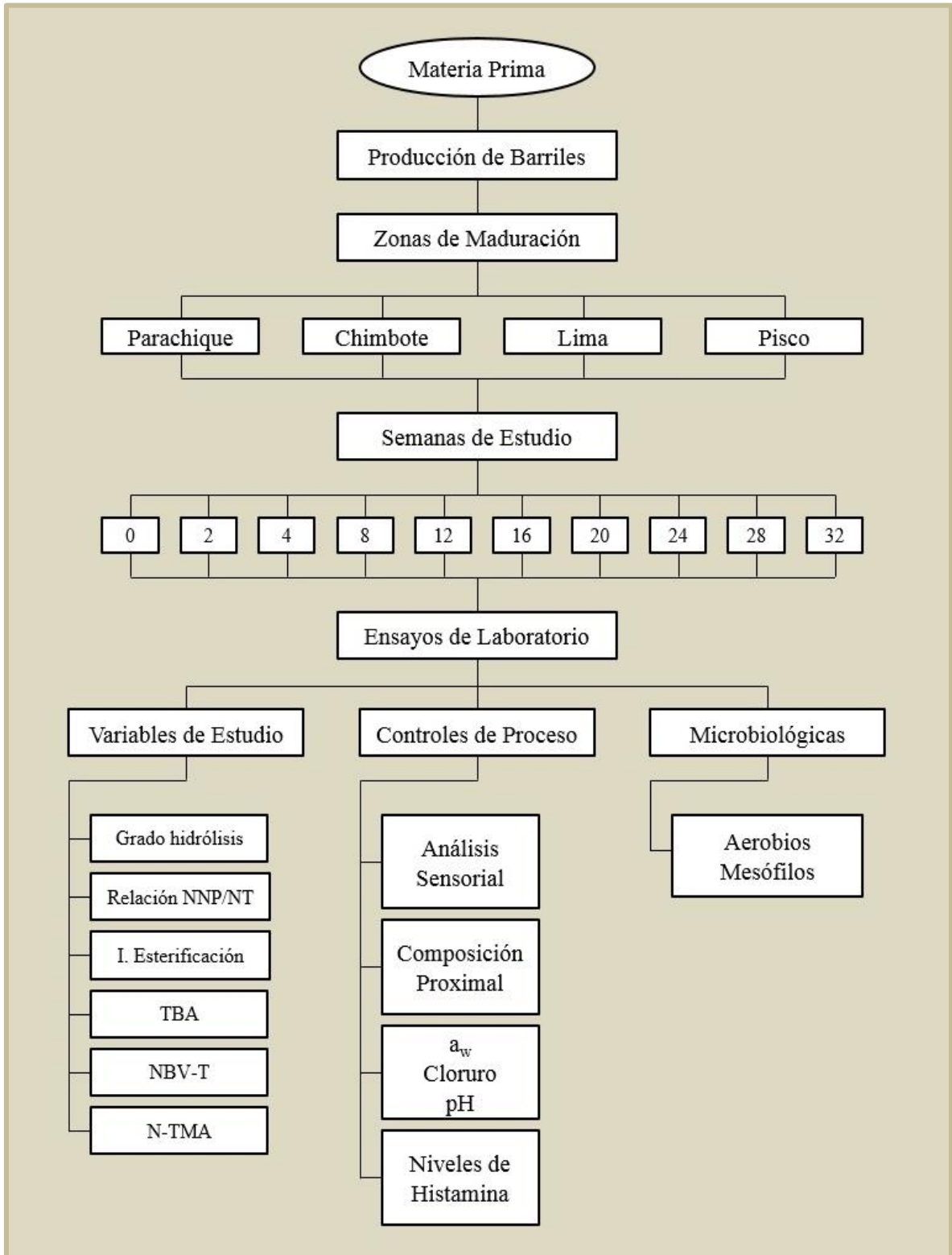
**(e) Salazón.** La operación de salazón se realizó en un contenedor de 700 litros de capacidad con salmuera a 24°Bé (sal molida refinada - gruesa sin yodo) durante 12 horas.

**(f) Llenado de barriles.** Se dispuso de barriles de polietileno de 250Kg de capacidad para el llenado de anchovetas, colocando alternativamente capas de pescado y sal. La proporción de pescado a sal fue de 5 a 1.

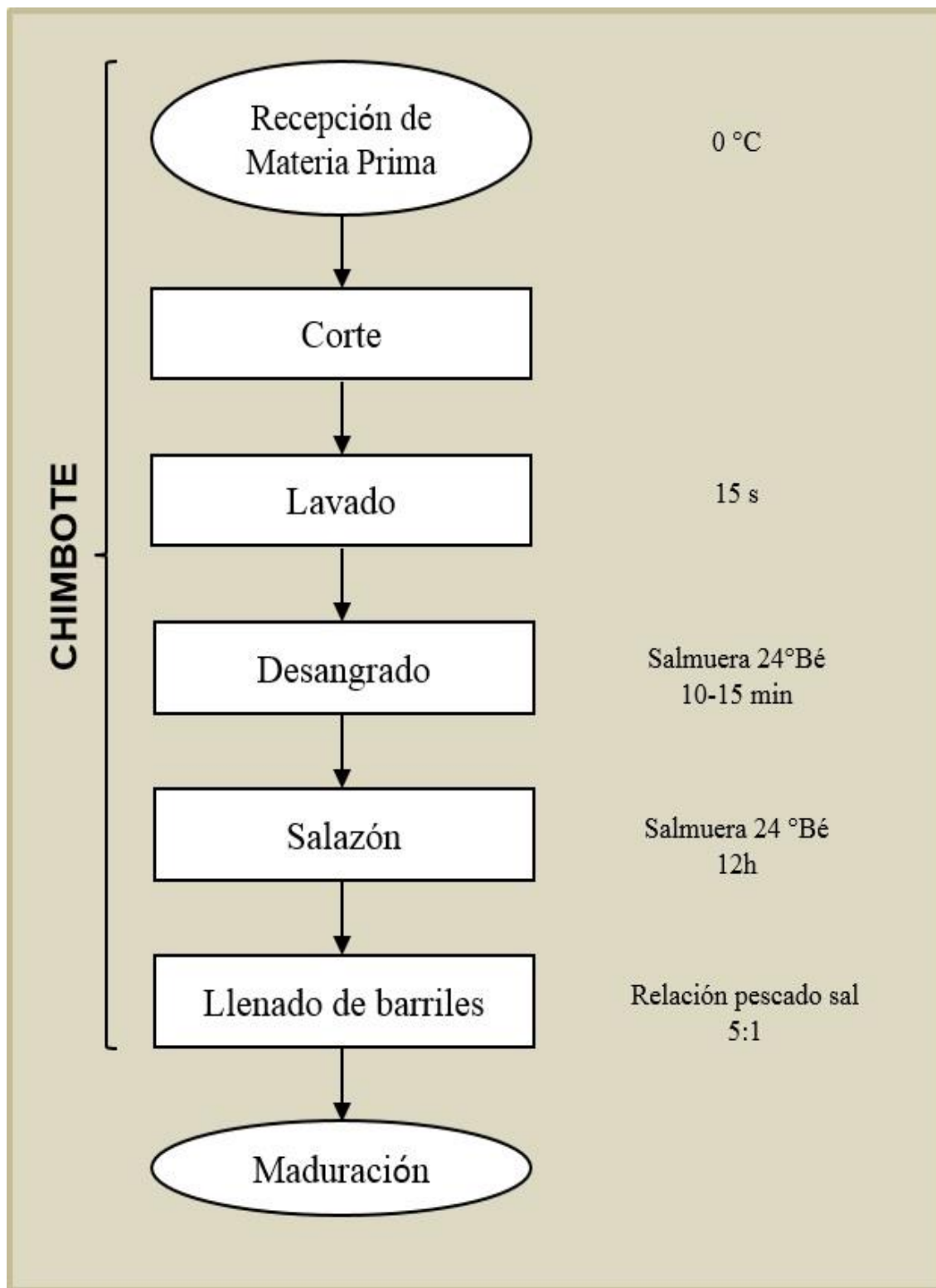
Las anchovetas salazonadas se colocaron en el cilindro por puñados en forma radial, se sometió a presión con ayuda de un disco de aluminio por intervalos para el acomodo durante el llenado, se colocó un cuello de prolongación de polietileno para acondicionar el sobrellenado del barril con la finalidad de obtener el peso adecuado después del prensado.

**(g) Maduración.** Se acondicionó niveles de presión a lo largo del proceso. La maduración se llevó a cabo a una temperatura ambiente en cada área de estudio durante aproximadamente ocho meses.

Ver **Anexo 1.**



**Figura 3: Diseño Experimental**



**Figura 4: Flujo de procesamiento de anchoas**

### **3.4. EVALUACIÓN SENSORIAL**

El grado de madurez sensorial se estudió con la finalidad de seguir las variaciones que sufren los atributos durante la etapa de maduración para luego relacionarlos con las variables fisicoquímicas.

#### **3.4.1. Preparación de la muestra**

Las muestras de anchoas descabezadas y evisceradas se lavaron en salmuera saturada frotando suavemente la superficie del pescado, de modo que se descarte el exceso de sal típico del proceso de maduración y parte de la piel y escamas. El exceso de agua se eliminó mediante presión con papel absorbente.

#### **3.4.2. Ensayo**

La tabla de evaluación sensorial (**Cuadro 4**) fue modificada y adaptada de Filsinger *et al.* (1982) y Vásquez (1997), considera los atributos adherencia al espinazo, color, olor, consistencia y sabor (superpuesto a la sal) de la carne, la escala sensorial se encuentra en un rango de 0 a 8, a medida que está aumentando aparecerán las características de maduración, la puntuación 0 indica un producto fresco, la puntuación 6 indica un producto maduro y la puntuación 8 indica un producto sobremadurado. La calificación final es la sumatoria de los atributos sensoriales, un producto madurado se encuentra en el rango de 28 a 32.

Las muestras de anchoas se evaluaron en una sala sensorial acondicionada con cabinas iluminadas y ventiladas, el producto se entregó codificado a fin de evitar prejuicios. Se trabajó con un panel conformado por 6 catadores entrenados para el uso de la tabla empleada.



**Cuadro 4: Tabla modificada y adaptada para la evaluación sensorial de anchoas en salazón (*E. ringens*)**

<b>PUNTAJE</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>ADHERENCIA DE LA CARNE AL ESPINAZO</b>	Muy adherente. Bastante resistencia de filetes al desprendimiento. Fileteado muy complicado.	Bastante adherente. Regular resistencia de filetes al desprendimiento. Fileteado difícil e incompleto.	Adherente. Resistencia parcial de filetes al desprendimiento. Fileteado regular, restos de músculo en cola.	Poco adherente. Desprendimiento de filetes sencillo. Fileteado adecuado.	No existe adherencia. Filetes se desgarran. Fileteado inadecuado.
<b>COLOR DEL MÚSCULO DE LA CARNE (Evaluar el lado interno de filetes)</b>	Color natural. Rosado translúcido a los bordes. Rojo translúcido en la línea central.	Beige claro a los bordes. Ligeramente rojiza en la línea central.	Distribución no uniforme. Beige claro a los bordes. Marrón y/o rojo oscuro en la línea central.	Distribución uniforme. Beige a los bordes. Rojo oscuro en la línea central.	Distribución no uniforme. Coloración café oscuro, marrón verdoso.
<b>OLOR</b>	Pescado neutro y/o fresco.	Pescado salado. Olor de salmuera. Aroma no intenso.	Ligero a carne curada. Aroma suave.	Característico y agradable de las anchoas maduradas. Aroma suave, agradable.	Rancio, ácido, amoniacal y olores sulfurosos. Aroma intenso.
<b>CONSISTENCIA DE LA CARNE</b>	Característico de pescado fresco. Alta elasticidad. Músculo húmedo y firme.	Ligeramente elástico. Músculo regularmente húmedo y firme.	Poca elasticidad. Músculo ligeramente húmedo y firme.	No elástico. Músculo ligeramente húmedo y resistente.	Elástico. Músculo húmedo. Flácido, endeble y blando.
<b>SABOR (Superpuesto a la sal)</b>	Pescado crudo.	Pescado seco salado fuerte.	Ligeramente característico a carne curada (ajamonada).	Característico a carne curada-madurada (jamón).	Rancio, desagradable.

**FUENTE:** Modificado y Adaptado de Filsinger *et al.* 1982 y Vásquez 1997.

### **3.5. ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS**

Los análisis fisicoquímicos se estudiaron con la finalidad de seguir el comportamiento del músculo del producto durante el proceso de maduración. Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

#### **3.5.1. Preparación de la muestra**

Las muestras de anchoas descabezadas y evisceradas se lavaron en salmuera saturada frotando suavemente la superficie del pescado de modo que se descarte el exceso de sal típico del proceso de maduración, luego manualmente se retiró totalmente piel y escamas, se separó las piezas por la zona ventral con el propósito de obtener filetes, se retiró la espina vertebral, se desechó restos de vísceras, de piel y de escamas, el exceso de agua se eliminó mediante presión con papel absorbente, se llevó los filetes a una máquina homogeneizadora de cuchillas RETSCH modelo GM-200 con la finalidad de obtener una pasta.

#### **3.5.2. Determinación de Humedad**

Se determinó mediante el método de secado en estufa AOAC 1984 24.003. (FAO y SIDA 1986). Aproximadamente 2g de muestra homogenizada se secó en estufa a  $101 \pm 1^\circ\text{C}$  hasta peso constante. El resultado se expresó en g/100g.

$$\text{Humedad} \left( \frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{Peso de la muestra húmeda} - \text{Peso de la muestra seca}}{\text{Peso de la muestra húmeda}} \times 100$$

#### **3.5.3. Determinación de Cenizas**

Se determinó mediante AOAC 1984 14.006. (FAO y SIDA 1986). Aproximadamente 2g de muestra homogeneizada se calcinó en estufa hasta que no desprendió humo, luego se calcinó en mufla a  $500^\circ\text{C}$  hasta cenizas blancas. El resultado se expresó en g/100g.

$$\text{Cenizas} \left( \frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{Peso de cenizas}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

### 3.5.4. Determinación de Proteína Total

El contenido de nitrógeno total se determinó mediante el método de Kjeldahl (FAO y SIDA 1986). Para la digestión, en un tubo Kjeldahl se adicionó 0.5g de muestra homogeneizada en 15mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado con sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) y sulfato de potasio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) como catalizadores, se llevó al equipo de digestión GERHARDT modelo KJELDHATHERM con la finalidad de descomponer por calentamiento los compuestos que contienen nitrógeno fijándose en forma de sulfato de amonio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a una temperatura ascendente de 200°C a 400°C hasta que el líquido tomó una coloración verde esmeralda, luego que el extracto obtenido se enfriará se llevó a fiola de 100mL. Para la destilación, en un tubo Kjeldahl se tomó una alícuota de 5mL del extracto de digestión y en un erlenmeyer se adicionó 5mL de una solución de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0.1N con unas gotas de TASHIRO como indicador, ambos instrumentos se llevaron al equipo de destilación de arrastre de vapor GERHARDT modelo VAPODEST 10 aproximadamente 5 min con la finalidad de arrastrar por vapor de agua el amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) descompuesto por acción del calor y del hidróxido de sodio (NaOH). Para la titulación, el remanente de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) captado en el erlenmeyer se valoró con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.02N hasta virar de color rosa claro a incoloro. Se realizó un blanco bajo la misma metodología.

El resultado se expresó en g/100g, se utilizó el factor 6.25 para transformar el nitrógeno total en proteína total.

$$N \left( \frac{g}{100g} \right) = \frac{(Bl-G) \times f \times N \times d \times 0.014}{W} \times 100$$

Donde:

Bl = Gasto del blanco (mL)

G = Gasto de la muestra (mL)

f = Factor de corrección de hidróxido de sodio (NaOH)

N = Normalidad de hidróxido de sodio (NaOH)

d = Proporción tomada del volumen de muestra digerida y diluida

W = Peso de la muestra (g)

### 3.5.5. Determinación de Grasas

Se determinó mediante la adaptación del método AOAC 1984 7.060 - .062. en un equipo automático de extracción rápida de grasas GERHARDT modelo SE-416 (FAO y SIDA 1986). Se acondicionó la muestra para su aplicación en los vasos de extracción. En un balón Soxleth se adicionó 2g de muestra homogenizada en 20mL de solución de ácido clorhídrico (HCl) 6N, se llevó a ebullición con línea de refrigerante por 30 min, se captó la grasa en papel filtro, se secó a 100°C por 2 h. En los vasos de extracción se colocó la muestra con 120mL de hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) concentrado, el equipo extrajo la grasa en un promedio de 5 h, si hubo remanente del solvente se eliminó por evaporación. El resultado se expresó en g/100g.

$$\text{Grasa cruda} \left( \frac{\text{g}}{100\text{g}} \right) = \frac{\text{Peso de la grasa extraída}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

### 3.5.6. Actividad de Agua

Se determinó mediante un higrómetro digital Aqualab modelo PRE (Decagon® Devices).

### 3.5.7. Contenido de NaCl

Se determinó mediante el método de Mohr (Nielsen 2010). En un vaso metálico se adicionó 1g de muestra homogeneizada en 100mL de agua destilada, se llevó a un homogeneizador NISSEI modelo AM-9 de alta velocidad por 2 min, se filtró. En un erlenmeyer se tomó una alícuota de 25mL, se valoró con una solución de nitrato de plata (AgNO<sub>3</sub>) 0.1N y con unas gotas de cromato de potasio (K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub>) como indicador hasta que apareció un precipitado rojo ladrillo. El resultado se expresó en g/100g.

$$\text{ClNa} \left( \frac{\text{g}}{100 \text{ g}} \right) = \frac{G \times f \times 0.005845 \times 100}{W \times \left( \frac{\text{mL}}{V} \right)}$$

Donde:

G = Gasto de solución de Nitrato de Plata (AgNO<sub>3</sub>) (mL)

f = Factor de corrección de la solución de Nitrato de Plata ( $\text{AgNO}_3$ )

W = Peso de la muestra (g)

58.45 = p.m. del NaCl; 99.98% pureza

mL / V = Volumen de alícuota sobre el volumen total (mL)

### 3.5.8. pH

Se determinó mediante un potenciómetro convencional METTLER – TOLEDO modelo SEVEN EASY utilizando un electrodo de vidrio.

### 3.5.9. Prueba de Grado de Hidrólisis

Esta prueba explica la relación entre los enlaces peptídicos escindidos por proteólisis y los enlaces peptídicos totales, se determinó mediante la modificación del método colorimétrico del reactivo de Sanger (Sanger 1949, Dumay *et al.* 2004).

Para la determinación de enlaces peptídicos escindidos por proteólisis, en un vaso metálico se adicionó 1g de muestra homogeneizada en 50mL de agua destilada, se llevó a un homogeneizador NISSEI modelo AM-9 de alta velocidad por 5 min, se transfirió a una fiola de 100mL sin filtrar, se agitó vigorosamente, inmediatamente se transfirió 50mL en tubo FALCOM, se llevó a la centrífuga THERMO modelo CENTRA CL-2 a una velocidad de 2 500rpm durante 25 min. En un tubo de ensayo, se adicionó 0.5mL de la parte superficial del extracto anterior, 0.5mL de agua destilada, 1mL de tetraborato de sodio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) al 2%, 0.25mL de dinitrofluorobenceno ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_4$ ) al 1.3% en etanol, se llevó al baño termostático MEMMERT modelo RCRF252A14 a 60°C por 10 min, se adicionó 2mL de ácido clorhídrico (HCl) 6N con la finalidad de detener la reacción, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS PERKIN ELMER modelo LAMBDA-950 a 410 nm.

Para la determinación de enlaces peptídicos totales, en un envase resistente al calor se adicionó 0.5g de muestra homogeneizada en 25mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 7N, se llevó a una estufa esterilizadora modelo UE-500 a 100°C por aproximadamente 24 h, se enfrió, se

filtró a fiola de 100mL, se llevó a dilución de 1 a 100. En un tubo de ensayo, se adicionó 1mL del extracto obtenido, 1mL de tetraborato de sodio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) al 2%, 0.25mL de dinitrofluorobenceno ( $\text{C}_6\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_4$ ) al 1.3% en etanol, se llevó al baño termostático MEMMERT modelo RCRF252A14 a 60°C por 10 min, se adicionó 2mL de ácido clorhídrico (HCl) 6N con la finalidad de detener la reacción, se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS PERKIN ELMER modelo LAMBDA-950 a 410 nm.

El resultado para grupo de enlaces peptídicos se expresó en mg Gly/g mtra, para ello se elaboró una curva de calibración estándar utilizando una solución stock de glicina con una concentración de 0.15  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . En los casos en que la lectura de absorbancia de la muestra no se encontró en el rango de lectura de la curva de calibración, se corrigió los volúmenes de alícuotas de los extractos.

### **3.5.10. Índice de proteólisis**

Este índice explica la relación existente entre el nitrógeno no proteico y el nitrógeno total (NNP/NT), se determinó por el cálculo independiente del nitrógeno total mediante el método de Kjeldahl (FAO y SIDA 1986) y el nitrógeno no proteico mediante tratamiento previo con ácido para luego aplicar el método de Kjeldahl (FAO y SIDA 1986).

Para determinar el nitrógeno total se desarrolló la metodología de la **Sección 3.5.4**. Para determinar el nitrógeno no proteico, en un vaso metálico se adicionó 5g de muestra homogeneizada con 50 mL de ácido tricloroacético ( $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ ) al 5%, se llevó a un homogeneizador NISSEI modelo AM-9 de alta velocidad por 2 min, se filtró a fiola de 50mL. Para la digestión, en un tubo Kjeldahl se tomó 25mL del extracto obtenido en 15mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado con sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) y sulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) como catalizadores, se llevó al equipo de digestión GERHARDT modelo KJELDHATHERM con la finalidad de descomponer por calentamiento los compuestos que contienen nitrógeno fijándose en forma de sulfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) a una temperatura ascendente de 200°C a 400°C hasta que el líquido tomó una coloración verde esmeralda, luego que el extracto de digestión se enfriará se llevó a fiola de 50mL. La etapa de destilación y titulación se desarrollaron bajo la misma metodología de la **Sección 3.5.4**.

### 3.5.11. Índice de Esterificación

Se determinó mediante la modificación del método de la AOAC 1970 9.125. (Filsinger *et al.* 1982). En un balón Soxhlet se adicionó 2g de muestra homogeneizada con 10mL de hidróxido de sodio (KOH) 0.5N etanólica, se llevó a ebullición con línea de refrigerante por 60 min. Aún caliente, se valoró el extracto obtenido con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.5N y con unas gotas de fenolftaleína (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>) al 1% como indicador. Se realizó un blanco bajo la misma metodología. El resultado se expresó en mg KOH/g mtra en base seca.

$$IE \left( \frac{\text{mg KOH}}{\text{g mtra seca}} \right) = \frac{(\text{Bl}-\text{G}) \times \text{N} \times \text{f} \times 56.1}{\text{W}}$$

Donde:

Bl = Gasto de la solución de ácido clorhídrico (mL) en el ensayo en blanco

G = Gasto de la solución de ácido clorhídrico (mL) en el ensayo de la muestra

N = Normalidad de ácido clorhídrico (HCl)

f = Factor de corrección de ácido clorhídrico (HCl)

56.1 = Peso molecular de KOH

W = Peso seco de la muestra (g)

### 3.5.12. Determinación de Ácido Tiobarbitúrico

Se determinó mediante la modificación del método colorimétrico de extracción ácida (Vyncke 1970). En un vaso metálico se adicionó 1g de muestra homogeneizada con 25mL de solución de ácido tricloroacético (C<sub>2</sub>HCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) al 5%, se llevó a un homogeneizador NISSEI modelo AM-9 de alta velocidad por 2 min, se filtró. En tubos de tapa rosca se tomó alícuotas del filtrado y si fue necesario se adicionó agua destilada hasta un volumen de 2.5mL, luego se adicionó 2.5mL del reactivo de ácido tiobarbitúrico 0.02M. Los tubos cerrados se llevaron al baño termostático MEMMERT modelo RCRF252A14 a 90°C por 40

min en oscuridad. Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/VIS PERKIN ELMER modelo LAMBDA-950 a 538 nm.

Para preparar el reactivo de ácido tiobarbitúrico se mezcló 1g de propilen galato ( $C_{10}H_{12}O_5$ ), 1g de EDTA ( $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ) y 2.88g de ácido tiobarbitúrico ( $C_4H_4N_2O_2S$ ) en un litro de agua destilada, se dejó en reposo 24 h, finalmente se filtró la solución.

El resultado se expresó en mg MAD/100g mtra, para ello se elaboró una curva de calibración utilizando el 1-1-3-3- tetraepoxiporpano como estándar de malonaldehído (aldehído malónico). En los casos en que la lectura de absorbancia de la muestra no se encontró en el rango de lectura de la curva de calibración, se corrigió los volúmenes de alícuotas del filtrado.

### **3.5.13. Determinación de Bases Volátiles Nitrogenadas**

Se determinó mediante el método de destilación de un extracto desproteinizado mediante ácido del Comité del Codex Alimentarius (DOUE 2005). En un vaso metálico se adicionó 10g de muestra homogeneizada con 90mL de solución de ácido perclórico ( $HClO_4$ ) al 6%, se llevó a un homogeneizador NISSEI modelo AM-9 de alta velocidad por 2 min, se filtró a fiola de 100mL. En un tubo Kjeldahl se adicionó 25mL del extracto obtenido con unas gotas de fenolftaleína ( $C_{20}H_{14}O_4$ ) al 1% como alcalinizador y unas gotas de antiespumante, en un erlenmeyer se adicionó 50mL de ácido bórico al 3% con unas gotas de TASHIRO como indicador, ambos instrumentos se llevaron equipo de destilación de arrastre de vapor GERHARDT modelo VAPODEST 10 aproximadamente 7 min con la finalidad de arrastrar por vapor de agua las bases volátiles. Se valoró con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.05N hasta virar de color verde a rosa claro. Se realizó un blanco bajo la misma metodología.

El resultado se expresó en mg/100g. El método aplicado será correcto si la diferencia entre los duplicados no es superior a 2 mg/100 g.



$$\text{NBVT} \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{(\text{G}-\text{Bl}) \times \text{N} \times \text{f} \times 14 \times 2 \times 100}{\text{W}}$$

Donde:

Bl = Gasto de la solución de ácido clorhídrico (HCl) (mL) en el blanco

G = Gasto de la solución de ácido clorhídrico (HCl) (mL) en la muestra

N = Normalidad de ácido clorhídrico (HCl)

f = Factor de corrección de ácido clorhídrico (HCl)

14 = Peso molecular de N

2 = Dilución de la muestra

W = Peso de la muestra (g)

#### **3.5.14. Determinación de Nitrógeno de Trimetilamina**

Se determinó mediante la modificación del método de microdifusión de Conway (Conway y Byrne 1933). En un vaso metálico se adicionó 10g de muestra homogeneizada con 50mL de solución de ácido tricloroacético ( $\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$ ) al 5%, se llevó a un homogeneizador NISSEI modelo AM-9 de alta velocidad por 2 min, se filtró a fiola de 50mL. La placa Conway se colocó en un soporte inclinada de manera estable, se adicionó parafina a los bordes de la tapa y base para generar hermeticidad, se adicionó 1mL del extracto obtenido y 0.5mL de formol ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) al 20% a un extremo de la placa, se adicionó 1mL del reactivo de ácido bórico en el centro de la placa, se adicionó 1mL de carbonato de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) al 50% al otro extremo de la placa con la finalidad de volatilizar los compuestos nitrogenados procedentes del N-TMA, se cerró inmediatamente de manera suave, se agitó suavemente con movimientos rotatorios, se colocó un gancho metálico para asegurar la tapa. Se llevó a una estufa esterilizadora modelo UE-500 a  $37^\circ\text{C}$  por 2.5 h. Se valoró con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.05N hasta virar de color rojo grosella a verde. Se realizó un blanco bajo la misma metodología. El resultado se expresó en mg/100g.

Para preparar el reactivo de ácido bórico se adicionó 10g de este en 200mL de alcohol absoluto, se adicionó 100mL de agua destilada, se homogeneizó hasta solubilizarlo, se

agregó 10mL del reactivo indicador, se agregó unas gotas de hidróxido de sodio (NaOH) al 10% hasta la coloración rojo concho de vino, se completó a un 1L. Para preparar el reactivo indicador, se mezcló 5mL de rojo de metilo ( $C_{15}H_{15}N_3O_2$ ) al 0.066% con 5mL de verde de bromocresol ( $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ ) al 0.066%.

$$N - TMA \left( \frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{(g - bk) \times 14 \times N \times Fc \times 100 \times Vf}{Wm \times Val}$$

Donde:

g = Gasto de ácido clorhídrico (HCl) (mL)

bk = Gasto de blanco (mL)

14 = Factor nitrógeno

N = Normalidad de ácido clorhídrico (HCl)

Fc = Factor de corrección de ácido clorhídrico (HCl)

Vf = Volumen de fiola (mL)

Wm = Peso de la muestra (g)

Val = Volumen de alícuota (mL)

### **3.5.15. Histamina**

Se determinó mediante la modificación del método de HPLC con detector UV de la Norma Chilena Oficial NCh 2637 (ISP 2014). En un tubo FALCOM se adicionó 1g de muestra homogenizada en 10mL de ácido tricloroacético ( $C_2HCl_3O_2$ ) al 5%, se agitó durante 1.5 min en un vortex BARNSTEAD INTERNATIONAL modelo M16710-33, se llevó a la centrífuga THERMO modelo CENTRA CL-2 a una velocidad de 3 000rpm durante 15 min. En un tubo eppendorf se adicionó 100 $\mu$ L del sobrenadante del extracto obtenido, del mismo modo se adicionó en tubos eppendorf 100 $\mu$ L de cada uno de los estándares para la curva de calibración, luego se adicionó en cada uno de los tubos 400 $\mu$ L de solución de bicarbonato de sodio ( $NaHCO_3$ ) 0.25M, 200 $\mu$ L de cloruro de dansilo ( $C_{12}H_{12}ClNO_2S$ ) 10mg/mL, 300 $\mu$ L de acetona p.a., se cerraron herméticamente los tubos, se homogenizó la mezcla en vortex. Se llevó a incubar en un baño termostático MEMMERT modelo RCRF252A14 a 60°C

durante 1 h, se enfrió a temperatura ambiente protegiendo de la luz directa, se transfirió el contenido de los tubos eppendorf en viales haciéndolos pasar previamente a través de un filtro de jeringa de 0.45µm de poro antes de inyectarlos en el HPLC.

Las soluciones para los estándares de la curva de calibración se prepararon a partir de una solución stock de histamina de 1000mg/L, se tomaron distintas alícuotas de la solución stock que se llevaron a fioles de 10mL y enrasaron con ácido tricloroacético al 5% preparando de esa manera soluciones estándar que estuvieron comprendidas en el rango de 5 a 150mg/L de histamina.

Se acondicionó el HPLC antes de la corrida, para una columna de 150mm de largo y 4.6mm de diámetro interno serán necesarios aproximadamente 17 min de acondicionamiento usando un flujo de fase móvil de 1 mL/min.

- Columna C18 de fase reversa, de preferencia con precolumna.
- Flujo: 1mL/min
- Longitud de onda ( $\lambda$ ) = 254nm
- Fase Móvil Isocrática: Metanol: Agua 80:20
- Volumen de inyección: 20 µL.
- Temperatura: 30°C.

El resultado se expresó en mg/Kg.

$$\text{Histamina} \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Conc} \times 10}{W_m}$$

Donde:

Conc = Concentración de la solución proveniente de la muestra en (mg/L)

Wm = Peso de muestra (g)

### **3.6. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO**

El análisis microbiológico se estudió con la finalidad de verificar la calidad sanitaria del producto al final del proceso de maduración.

#### **3.6.1. Preparación de la muestra**

Las muestras de anchoas se tomaron de los barriles de maduración evitando contaminarlas, luego se sellaron al vacío para su posterior análisis.

#### **3.6.2. Ensayo de Aerobios Mesófilos**

Se determinó mediante la modificación del método de recuentos de aerobios en placa de la FDA (FDA 2015a). En un vaso metálico se adicionó 50g de la muestra de anchoas en 450mL de solución tamponada de butterfields, se llevó a una licuadora por 2 min, en tubos de ensayo se preparó diluciones decimales de  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  a partir de la dilución  $10^{-1}$  (homogenizado del alimento). En placas petri se vertió 1mL de cada dilución (previamente agitadas) con aproximadamente 15mL de Plate Count Agar, de inmediato se mezcló la muestra diluida y el agar de manera uniforme mediante rotación alternada con movimientos hacia delante y detrás sobre una superficie plana y nivelada. Se invirtió las placas petri solo después de solidificar el agar. Se llevó a estufa esterilizadora modelo UE-500 a 30°C por 3 días.

Para preparar la solución tamponada de butterfields, 1.25mL de la solución patrón se completó a 1L, se dispensó en frascos adecuados y se esterilizó a 121°C por 15 min. Para preparar la solución patrón se adicionó 34g de fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) en 500mL de agua destilada, se adicionó hidróxido de sodio (NaOH) 1N con la finalidad de ajustar el pH a 7.2, se completó a 1L, se esterilizó a 121°C por 15 min. Es importante llevar el medio de cultivo a las mismas concentraciones de sal de las anchoas en salazón para evitar cambios bruscos de salinidad ocasionando la muerte de bacterias y por tanto un recuento errado.

Para preparar el Plate Count Agar se calentó 5g de triptona, 2.5g de extracto de levadura, 1g de glucosa, 15g de agar hasta disolver en 1L de agua destilada, se dispensó en frascos adecuados, se esterilizó a 121°C por 15 min. El pH final debe ser  $7.0 \pm 0.2$ .

El resultado se expresó en UFC/g. El reporte depende de los recuentos en placa, si los recuentos se encontraron en el rango normal de 25 a 250 colonias por placa, se contabilizó las unidades formadoras de colonias; caso contrario, si los recuentos escaparon del rango normal por placa se reportó como recuento estimado de aerobios en placa (REAP).

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2)] \times d}$$

Donde:

N = número de colonias por g de muestra

$\sum C$  = suma de todas las colonias sobre todas las placas contadas

$n_1$  = número de placas contadas de la primera dilución

$n_2$  = número de placas contadas de la segunda dilución

d = dilución a partir de la que se obtuvo los primeros recuentos

Los resultados se redondearon a los dos primeros dígitos significativos, cuando el tercer dígito fue mayor a 6 se redondeó por exceso, cuando el tercer dígito fue menor a 4 se redondeó por defecto, cuando el tercer dígito fue 5 se redondeó por exceso cuando el segundo dígito sea impar, y por defecto cuando el segundo dígito sea par, usando ceros para todos los dígitos sucesivos hacia la derecha a partir del segundo dígito.

### **3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados se procesaron mediante análisis de tendencia de modelos de regresión lineal a fin de determinar la relación entre los parámetros fisicoquímicos y el grado de madurez sensorial de las anchoas para cada zona de maduración. Además, mediante un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor se determinó la existencia de diferencias entre las zonas de maduración para cada parámetro fisicoquímico, en aquellos casos en los cuales se observaron diferencias estadísticamente significativas, se utilizó a posteriori un test de comparaciones múltiples (test de LSD). Se utilizó el programa estadístico Minitab® 15.1.20.0.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES EN ANCHOAS A PARTIR DE ANCHOVETA

Se evaluó sensorialmente a las anchoas en base al **Cuadro 4** adaptado de Filsinger *et al.* (1982) y Vásquez (1997), sin embargo, las características sensoriales descritas en este cuadro no representaron adecuadamente el desarrollo de las características sensoriales para las anchoas maduradas a partir de anchoveta.

De acuerdo a los autores mencionados un producto madurado se caracteriza por una baja adherencia de la carne al espinazo, color rosado uniforme, aroma agradable a ésteres volátiles, consistencia firme y sabor ajamonado; y un producto sobremadurado se caracteriza por fácil ruptura de la carne, coloración marcada en la línea del espinazo o con puntos rojo oscuro o negros, aroma rancio, ácido y sulfuroso, humedad al tacto y un sabor rancio; en el caso de las anchoas maduradas a partir de anchoveta se observó que la principal diferencia se da en el desarrollo del atributo sensorial color que se encuentra fuertemente ligado al contenido de hierro de las hemoproteínas, siendo la anchoveta el engráulido que posee mayor contenido de hierro (FUNIBER 2017); otro marcada diferencia se da en las características sensoriales descritas para un producto sobremadurado, la anchoveta no desarrolla olores, colores, ni sabores putrefactos como se reporta para otros engráulidos, solo se sobredesarrolla el atributo sensorial adherencia afectando el rendimiento.

La calificación para las anchoas de anchoveta dependerá del método de evaluación sensorial (tablas propias o adaptadas de otros engráulidos), por lo que en esta investigación se consideró reestructurar la tabla de evaluación sensorial (**Cuadro 5**) a partir del análisis de las diferentes zonas de maduración propuestas.

**Cuadro 5: Tabla elaborada para la evaluación sensorial de anchoas en salazón en base a la anchoveta peruana (*E. ringens*)**

<b>PUNTAJE</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>ADHERENCIA DE LA CARNE AL ESPINAZO</b>	Muy adherente. Resistencia de filetes al desprendimiento. Fileteado muy complicado.	Bastante adherente. Resistencia de filetes al desprendimiento. Fileteado difícil e incompleto, inadecuado.	Adherente. Resistencia parcial de filetes al desprendimiento. Fileteado regular, restos de músculo en cola.	Poco adherente. Desprendimiento sencillo de filetes. Fileteado adecuado.	No existe adherencia. Desgarro de filetes. Fileteado inadecuado.
<b>COLOR DEL MÚSCULO DE LA CARNE (lado interno de filetes)*</b>	Color natural. Rosado translúcido a los bordes. Rojo translúcido en la línea central.	Beige claro a los bordes. Rojo en la línea central.	Beige claro a los bordes. Marrón claro o rojo opaco en la línea central.	Beige a los bordes y rojo opaco en la línea central o rosado claro en la totalidad del filete.	Beige en los bordes, coloración café en la línea central o rosado con tonalidades guindas.
<b>OLOR</b>	Pescado fresco.	Olor de salmuera.	Aroma suave. Ligeramente a ésteres volátiles.	Característico y agradable de las anchoas. Aroma a ésteres volátiles.	Aroma ligeramente rancio o ácido.
<b>CONSISTENCIA DE LA CARNE</b>	Característico de pescado fresco. Músculo húmedo y firme.	Músculo ligeramente húmedo.	Músculo ligeramente húmedo y firme.	Músculo ligeramente húmedo y resistente al tacto.	Músculo ligeramente húmedo, agrietado y pastoso.
<b>SABOR (superpuesto a la sal)</b>	Pescado crudo.	Pescado seco salado fuerte.	Ligeramente característico a carne curada (ajamonada).	Característico a carne curada-madurada (jamón).	Ligeramente rancio o ácido.

\* sujeto al tipo de desangrado





Puntaje Sensorial 0

Puntaje Sensorial 2

Puntaje Sensorial 4

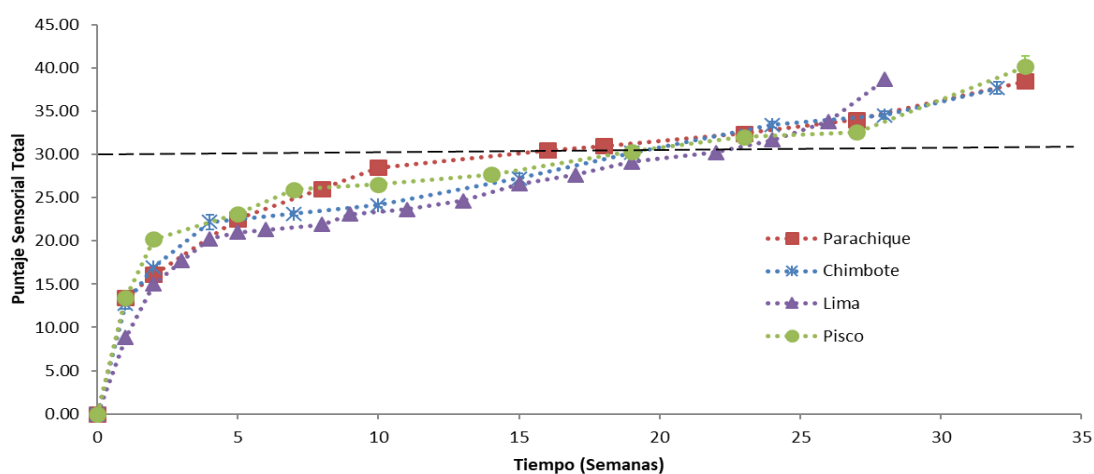
Puntaje Sensorial 6

Puntaje Sensorial 8

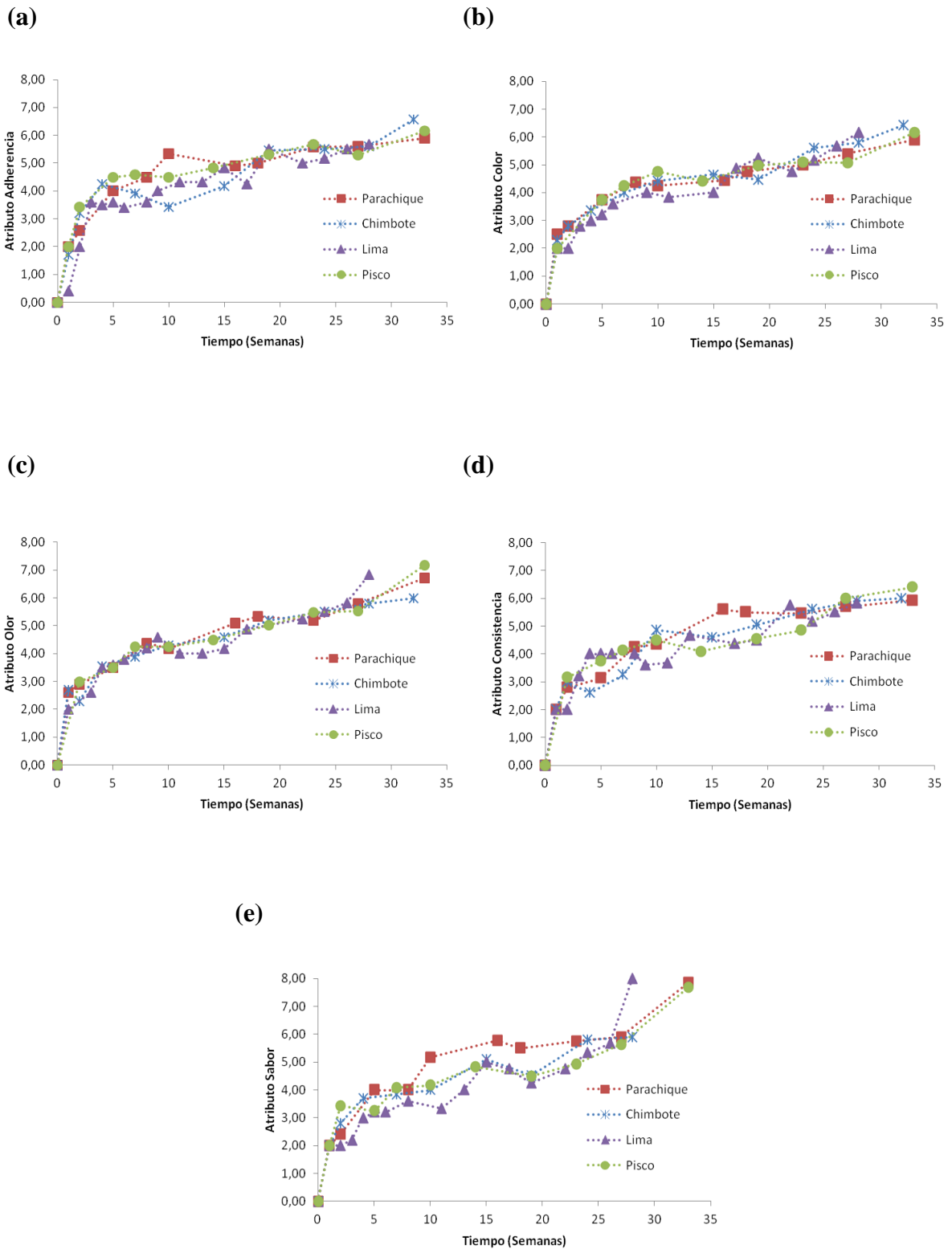
**Figura 5: Cambios en la coloración durante la maduración de la anchoveta**

En la propuesta de evaluación sensorial se califica a un producto fresco con puntuación 0, a un producto maduro con puntuación 6 y a un producto sobremadurado con puntuación 8, es posible calificar el producto entre valores intermedios de modo que se represente mejor la maduración. Un producto madurado de anchoveta peruana se caracteriza por un desprendimiento sencillo de los filetes, sin resto en la columna, músculo resistente al tacto; una coloración con tonalidades beige a los bordes y rojo opaco en la línea central o con tonalidades rosas claro en la totalidad del filete, la coloración estará sujeta al tipo de desangrado; un olor característico de anchoas, a ésteres volátiles y sabor característico de carne curada-madurada (**Figura 5**).

La calificación sensorial entre 28-32 puntos indica un producto madurado, donde la calificación sensorial 30 indica el punto óptimo de maduración. La **Figura 6** muestra la velocidad de maduración en todas las zonas, inicialmente se obtiene un producto madurado en Parachique a la semana 16, seguido por Chimbote y Pisco a la semana 19, finalmente Lima a la semana 22. Se observa también ligeras variaciones en la calificación sensorial entre la semana 5 y la semana 18 entre las zonas, se atribuye estas variaciones al grado de evolución de los atributos como adherencia, consistencia y sabor (**Figura 7 (a), (d) y (e)**), cabe mencionar que la elevada calificación sensorial en la semana 28 de Lima respecto a las otras zonas se debe al grado de evolución de los atributos como olor y sabor (**Figura 7 (c) y (e)**).



**Figura 6: Puntaje Sensorial Total en las diferentes Zonas de Maduración**



**Figura 7: Evolución de la adherencia (a), color (b), olor (c), consistencia (d) y sabor (e) por semanas en cada zona de maduración**

La variabilidad en el producto terminado reportado como problemática del sector, se asocia a diferencias en la composición química entre individuos de una misma especie; respecto a la anchoveta, IMARPE (2014) menciona diferencias de carácter bioecológico de los stocks, Jordán y Chirinos de Vildoso (1965) mencionan que depende de factores como la alimentación, la edad, el sexo, el desove y las condiciones del medio ambiente, e incluso Albrecht y Salas (2015) mencionan diferencias en la composición química del músculo claro y oscuro principalmente en el contenido de grasa y micronutrientes.

Del mismo modo, la velocidad de maduración se asocia a factores intrínsecos como la composición química y el nivel de estímulo de las enzimas (Maza y Salas 2004, Filsinger y Yeannes, citados por Czerner 2011), también se asocia a factores operacionales como el tipo de evisceración, la temperatura y el nivel de prensa (Stefánsson y Guðmundsdóttir 1995, Czerner 2011).

En este estudio toda la materia prima proviene de una misma captura debido a que se busca reducir el efecto mencionado por Jordán y Chirinos de Vildoso (1965) respecto a la composición química y el nivel de estímulo de las enzimas, este hecho se corroboró ya que no existen diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) en la velocidad de maduración entre las zonas estudiadas (**Figura 6**), por tanto se descarta influencia de los factores operacionales (temperatura y nivel de prensa), Vásquez (1997) reporta el mismo comportamiento para experiencias maduradas en diferentes condiciones.

En la producción de anchoas en salazón, los atributos sensoriales como adherencia y consistencia son importantes por guardar relación con el rendimiento, los atributos como olor y sabor son importantes por caracterizar el bouquet típico y el atributo color es importante por otorgar una apariencia agradable, diversos autores reportan que el atributo que presenta mayor velocidad es la adherencia, Vásquez (1997) reporta que el atributo que presenta menor velocidad es el color, en este estudio se observaron resultados similares, sin embargo, estadísticamente no se reporta diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los atributos sensoriales.

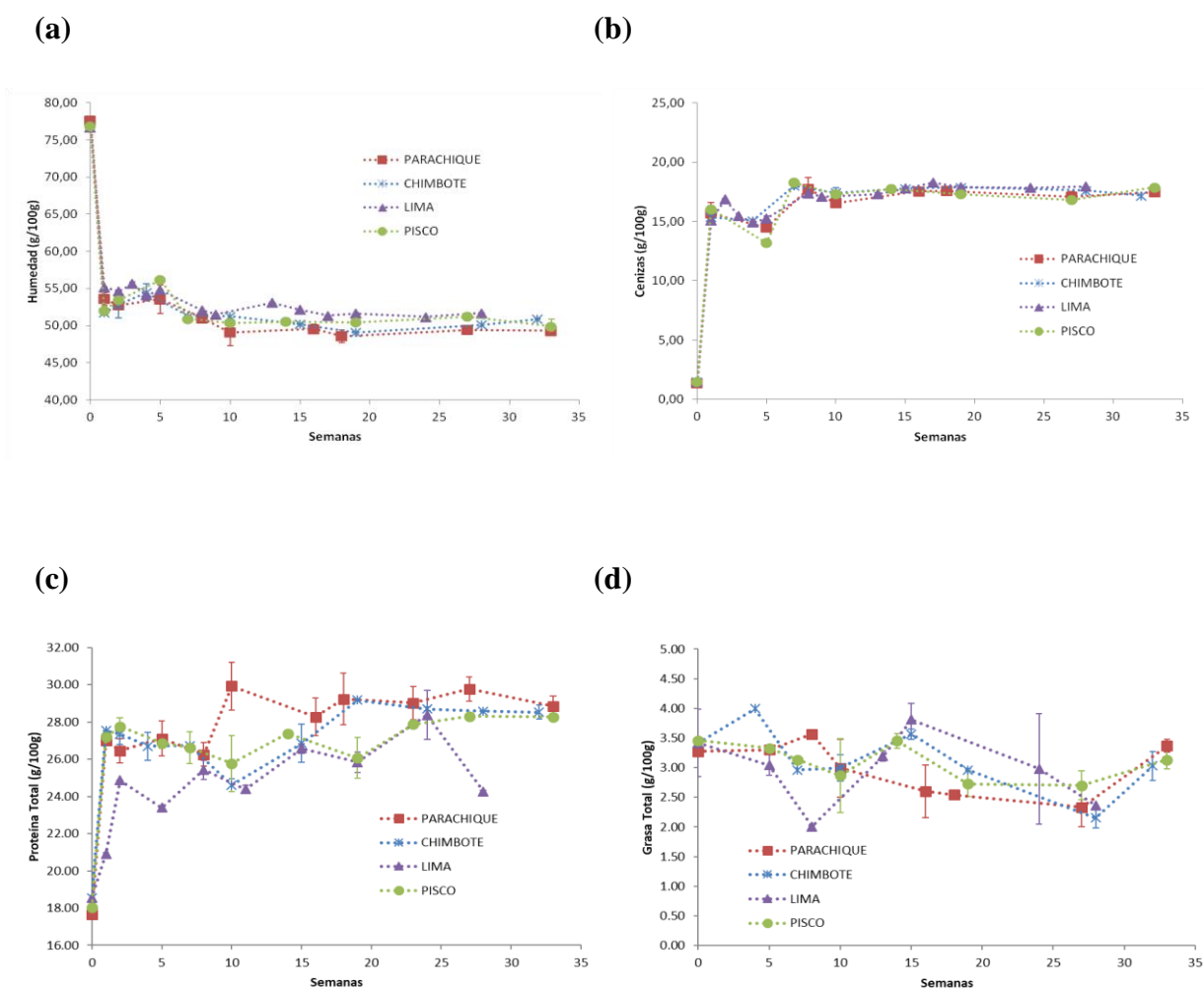
La maduración es provocada por proteasas musculares y digestivas (Gutiérrez *et al.* 1980, Pérez 1995), donde predominan reacciones de proteólisis y lipólisis que confieren a las anchoas un bouquet típico (Hall 2001). El desarrollo de los atributos adherencia y consistencia se da a causa de la proteólisis de las proteínas miofibrilares (Hernández Herrero *et al.* 1999). El desarrollo de los atributos olor y sabor se da a causa de los productos de la lipólisis como ácidos grasos, de productos derivados de la oxidación como hidroperóxidos y aldehídos, y de productos de la proteólisis como péptidos y aminoácidos, Durand y Voskresensky, citados por Czerner (2011) sugieren que una evisceración parcial eliminaría parte de las enzimas digestivas evitando el desarrollo de un sabor amargo, en esta investigación se evidenció que la evisceración parcial además evitaría la presencia de manchas oscuras en la cara interna del filete. El desarrollo del atributo color está fuertemente relacionado con la sangre y es determinado por el contenido de hemoproteínas (Czerner 2011), donde el hierro es uno de los principales responsables de la coloración al ser el componente hemo de la hemoglobina y mioglobina, los colores que se desarrollan en el filete estarán asociados al estado químico en el que se encuentre la mioglobina, su forma oxigenada, oximioglobina, se muestra de color rojo brillante y su forma oxidada, metamioglobina, se muestra de color pardo o marrón (Goenaga 2010); por otro lado, Bertolotti y Manca (1986) mencionan que parte de los hemopigmentos que provienen de la hemoglobina no se eliminan durante el desangrado produciendo una coloración no homogénea del filete, además, Legarreta *et al.* 2009 menciona que el contenido del hierro es mayor en el músculo oscuro que en el músculo claro, esto fue clave para re-estructurar la descripción del atributo sensorial color en la tabla sensorial.

Se debe considerar que la *E. ringens* es relegada principalmente por la apariencia oscura del producto madurado a causa del mayor contenido de hierro, para minimizar este efecto se recomienda un alto grado de frescura de la materia prima, mayor desangrado y evisceración parcial.

## 4.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS EN ANCHOAS A PARTIR DE ANCHOVETA

### 4.2.1. Composición proximal

La información obtenida sobre la composición proximal de la anchoveta tanto para la materia prima como para el proceso de maduración en cada zona se presentan en la **Figura 8**.



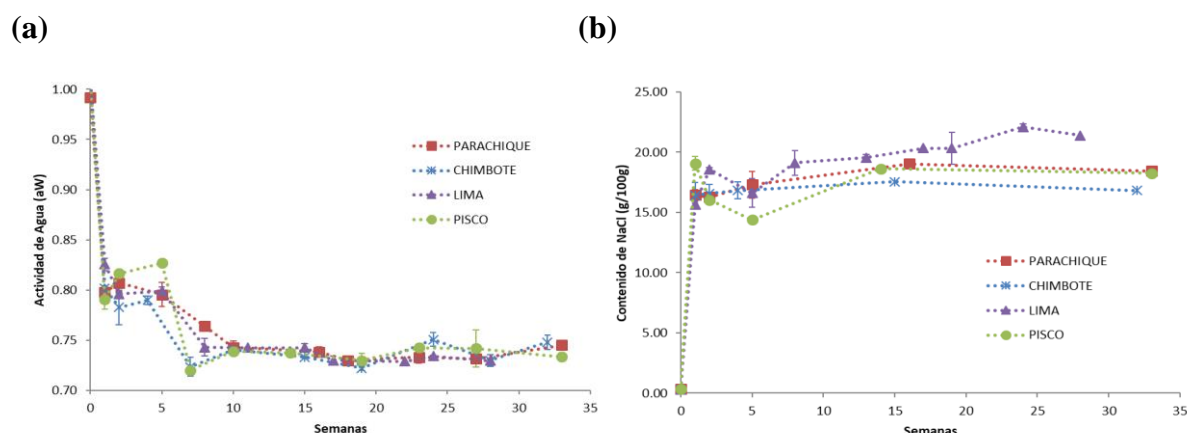
**Figura 8: Composición proximal (a) humedad, (b) ceniza, (c) proteína y (d) grasa por cada zona durante la maduración**

El comportamiento de la composición proximal (**Figura 8**) concuerda con lo reportado por los diversos autores. La humedad disminuye hasta aproximadamente 51.49% durante la salazón, luego alcanza valores hasta 47.83% y mantiene una tendencia constante durante la maduración (**Figura 8a**), en cambio, la ceniza aumenta hasta aproximadamente 16.36% durante la salazón, luego alcanza valores hasta 18.35% y mantiene una tendencia constante durante la maduración (**Figura 8b**). Por último, tanto la proteína (**Figura 8c**) como la grasa (**Figura 8d**) fluctúan a lo largo del proceso, cabe mencionar que los valores de grasa dependerán del contenido inicial en la materia prima relacionada principalmente con la época de desove.

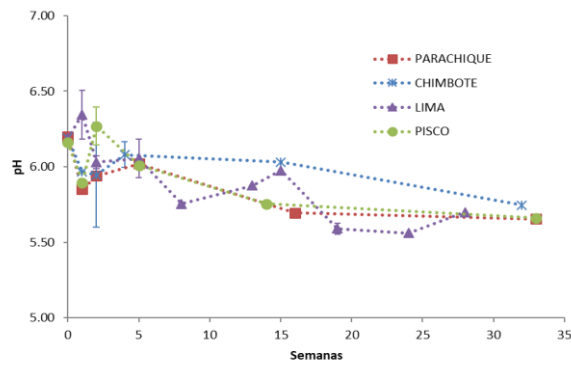
Hernández Herrero *et al.* (1999) explican que las pequeñas variaciones en la humedad y en la ceniza puede deberse a una absorción de la salmuera por los tejidos, Czerner (2011) explica que las fluctuaciones en las proteínas pueden estar asociadas durante la salazón al paso de las proteínas solubles hacia la salmuera y durante la maduración a la proteólisis de músculo, también explica que las fluctuaciones en las grasas pueden estar asociadas al desarrollo de la lipólisis y oxidación.

#### 4.2.2. Controles de proceso

La información obtenida sobre los ensayos de control de anchoveta tanto para la materia prima como para el proceso de maduración en cada zona se presentan en la **Figura 9**.



(c)



**Figura 9: Controles de proceso (a) Actividad de agua, (b) Contenido de NaCl y (c) pH por cada zona durante la maduración**

Los valores reportados para los controles de proceso concuerdan con la literatura. En la **Figura 9a** se observa que la  $a_w$  desciende en la etapa de salazón, luego alcanza en promedio un valor de 0.74 y mantiene una tendencia constante durante la maduración, se debe recalcar las fluctuaciones existentes entre la semana 1 y la semana 10 ya que valores por encima de 0.80 podrían repercutir en la inocuidad de las anchoas (INDECOPI 2013). La **Figura 9b** muestra que el contenido de NaCl aumenta en la etapa de salazón, luego alcanza en promedio un valor de 18.11 g/100g y mantiene una tendencia constante durante la maduración; de acuerdo a Filsinger (1987) un mayor nivel de presión significa un aumento en el contenido de NaCl y una disminución en la  $a_w$ . En la **Figura 9c** se observa que los valores de pH fluctúan en un rango de 5.46 a 6.46 durante la maduración, estas variaciones pueden deberse a la formación de compuestos básicos volátiles y rotura de enlaces peptídicos (Yatsunami and Takenaka, citado por Hernández Herrero *et al.* 1999, Benítez *et al.* 2008).



### 4.2.3. Variables de Maduración

Las condiciones operativas durante la maduración de anchoveta en cada zona se presentan en el Cuadro 6.

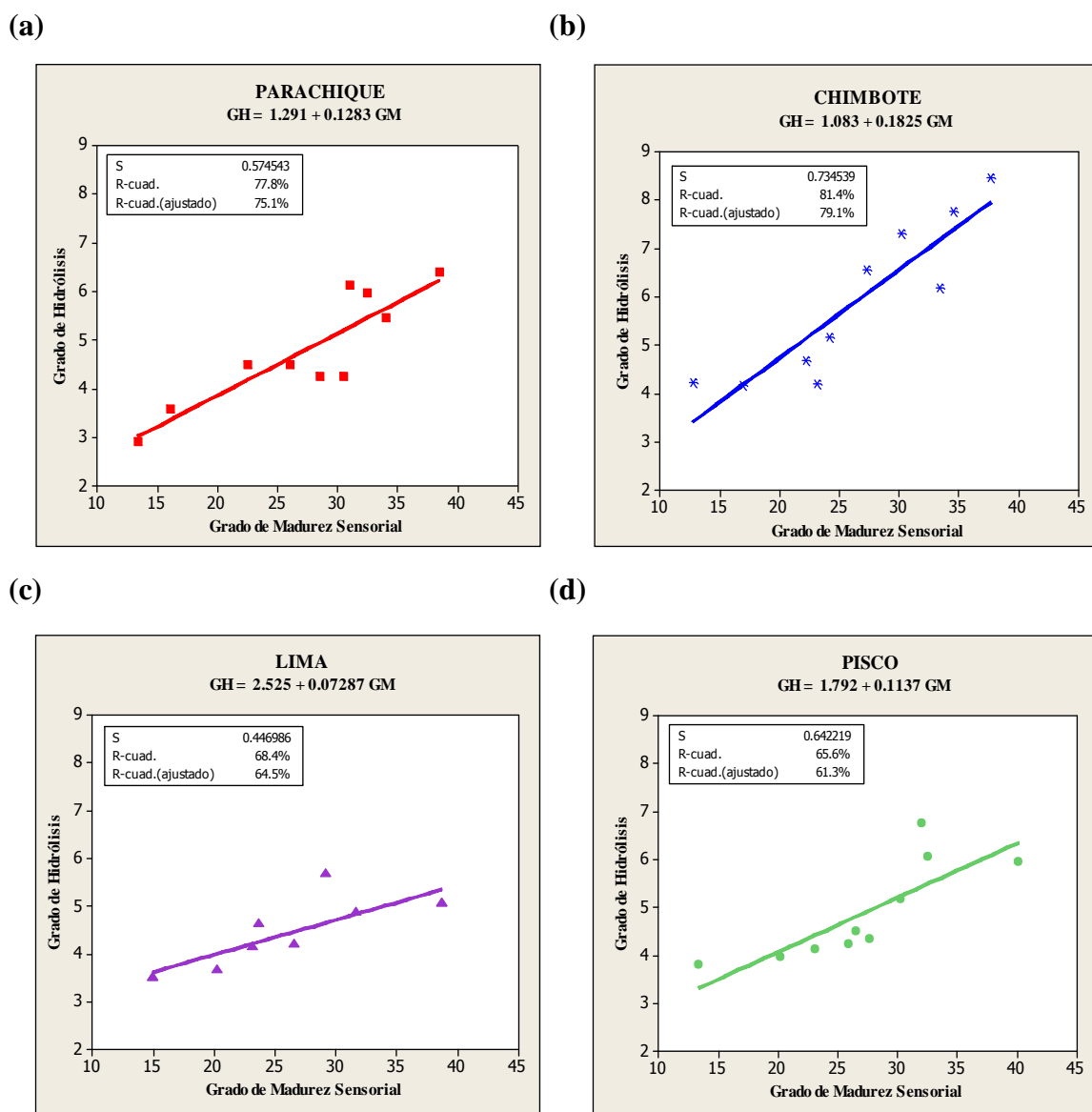
**Cuadro 6: Condiciones de proceso en las diferentes zonas de maduración**

TIEMPO DE MADURADO (SEMANAS)	ZONA DE MADURACIÓN							
	PARACHIQUE		CHIMBOTE		LIMA		PISCO	
	Temp	Presión	Temp	Presión	Temp	Presión	Temp	Presión
	°C	gf/cm <sup>2</sup>	°C	gf/cm <sup>2</sup>	°C	gf/cm <sup>2</sup>	°C	gf/cm <sup>2</sup>
0 <sup>(*)</sup>	25	0	25	0	25	0	25	0
1	26	47	24	45	21	0	21	47
2	27	47	23	45	20	0	23	47
5	27	47	23	45	19	34	20	47
7	25	47	24	45	20	34	21	47
10	26	47	24	45	20	34	20	47
15	27	47	24	45	19	34	21	47
19	25	47	23	45	18	34	22	47
24	26	47	25	45	22	34	21	19
27	27	47	23	45	24	34	24	19
32	29	47	23	45	-	-	26	19

<sup>(\*)</sup> Semana 0: Producción de los barriles en la Planta Procesadora APPECA S.R.L.

#### a. Grado de Hidrólisis

No existe precedente sobre este ensayo en la maduración de anchoas, entonces al considerar que los cambios proteicos más importantes se dan durante los tres primeros meses de maduración (Pérez 1995), fue de interés estudiar el grado de hidrólisis ya que estima la proteólisis al nivel de enlaces peptídicos. La acción enzimática es fundamental en el proceso de anchoado, las enzimas son las encargadas de digerir proteínas, en especial a las miofibrilares, la tripsina digiere a la miosina, componente prioritario de las proteínas miofibrilares (Bertullo 1975, Czerner 2011).



**Figura 10: Relación del grado de madurez sensorial con el grado de hidrólisis en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco**

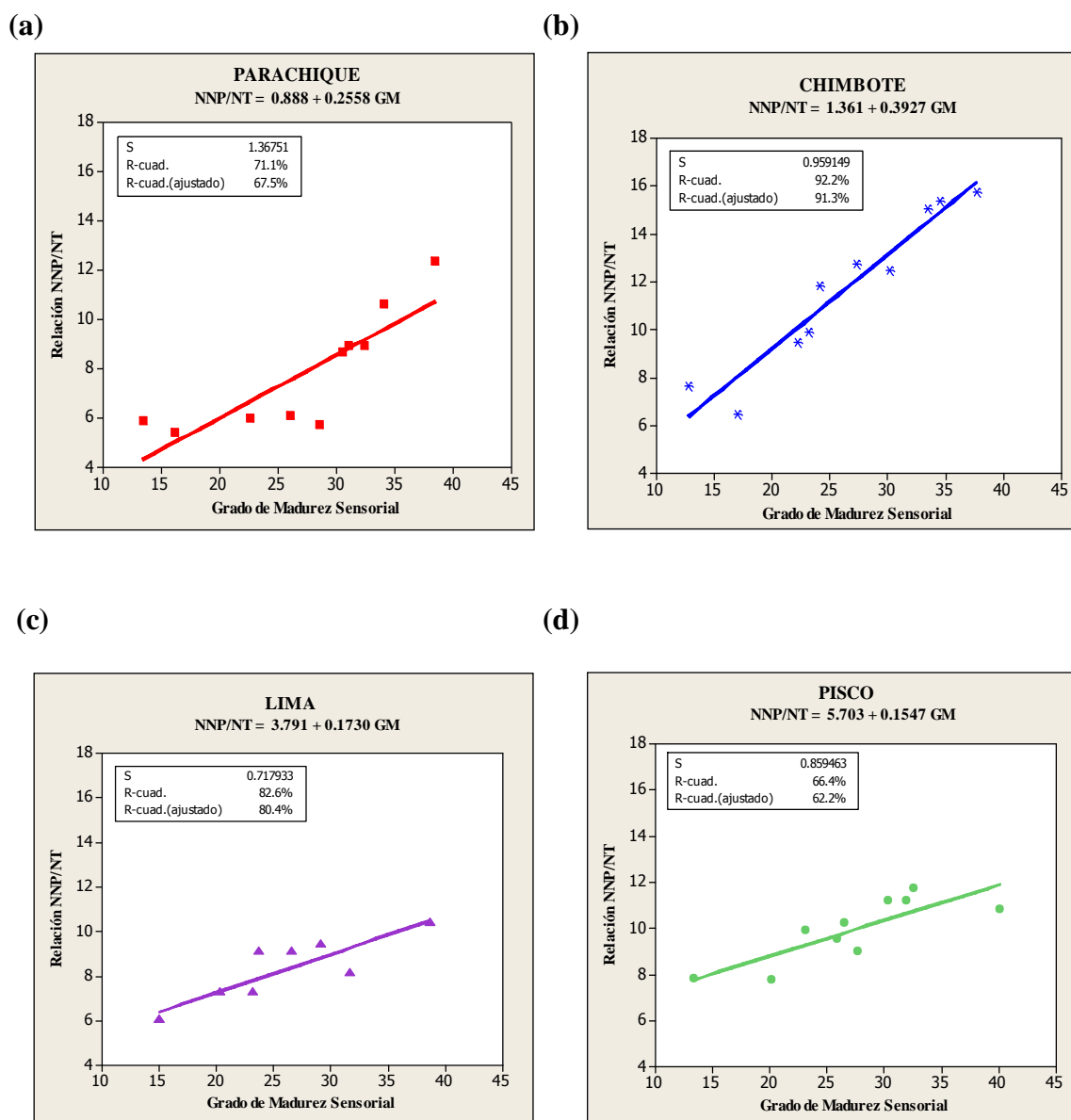
La relación entre el grado de madurez sensorial con el grado de hidrólisis (GH) se da mediante una regresión lineal con una ecuación tipo  $Y = a + bX$ , la **Figura 10** reporta en cada zona de maduración una relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) y una correlación positiva entre las variables (**Anexo 2**). El incremento en los valores de hidrólisis durante el proceso evidencia la ocurrencia de proteólisis a nivel de enlaces peptídicos, de acuerdo a Badui (2006) este se favorece por el entorno acuoso característico de los barriles de anchoa.

Tal como se mencionó en la **Sección 4.1** las anchoas maduran en diferentes semanas, así pues, se registró un grado de hidrólisis para un producto madurado de 4.25 en Parachique, de 7.29 en Chimbote, de 5.68 en Lima y de 5.16 en Pisco. El análisis comparativo del grado de hidrólisis obtenido hacia el final de la maduración, evidencia que los niveles alcanzados por este índice no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) en las distintas zonas de maduración.

Los niveles de prensa no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ), Lima (20.3°C, 34 gf/cm<sup>2</sup>) no reportó valores más elevados de hidrólisis respecto a las otras zonas de maduración, al respecto Czerner (2011) menciona que solo niveles de prensa menores a 30 gf/cm<sup>2</sup> influyen en la proteólisis, los bajos niveles de prensa se asocian a mayores niveles de proteólisis ya que condicionan mayor disponibilidad de O<sub>2</sub> en los barriles y por ende un mayor desarrollo microbiano. Ahora bien, el efecto de la temperatura no reportó un patrón entre las zonas estudiadas, Chimbote (23.6°C, 45 gf/cm<sup>2</sup>) reportó valores más elevados de hidrólisis respecto a Pisco (21.9°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) lo que concuerda con la literatura, sin embargo, Parachique (26.5°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) reportó valores bastante similares de hidrólisis respecto a Pisco (21.9°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) pese a la diferencia de temperatura de aproximadamente 4.5°C entre las zonas, más aún, se contradice lo expuesto en la literatura ya que Parachique (26.5°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) reportó valores más bajos de hidrólisis respecto a Chimbote (23.6°C, 45 gf/cm<sup>2</sup>), estos comportamientos en los valores de hidrólisis pueden ser explicados en base a diferencias en la actividad proteolítica de las enzimas ya que Maza y Salas (2004) mencionan que en la maduración influye la cantidad de alimento en el estómago al momento de su captura e inclusive el grado de madurez sexual, además Vásquez (1997) reporta que el efecto de las enzimas tiene mayor incidencia que el efecto de la temperatura en época de invierno.

#### **b. Índice de proteólisis**

El incremento del nitrógeno no proteico a lo largo de la maduración, tanto en la *E. ringens* como en los otros engráulidos se relaciona con la ocurrencia de proteólisis. El índice de proteólisis según Maza y Salas (2004) depende del aporte de la actividad enzimática propia de cada especie, además Czerner (2011) menciona que las condiciones operativas durante la maduración influyen en el comportamiento de esta relación.



**Figura 11: Relación del grado de madurez sensorial con el índice de proteólisis en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco**

La relación entre el grado de madurez sensorial con el índice de proteólisis (IP) se da mediante una regresión lineal con una ecuación tipo  $Y = a + bX$ , la **Figura 11** reporta en cada zona de maduración una relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) y una correlación positiva entre las variables (**Anexo 3**).

En esta investigación con *E. ringens* se reportó una buena relación lineal del índice de proteólisis con el grado de madurez sensorial ( $r^2 > 0.7110$ ) a excepción de Pisco, donde Chimbote presentó la mejor relación ( $r^2 = 0.9220$ ), Czerner (2011) reportó resultados similares en *E. anchoíta* con el grado de madurez sensorial ( $r^2 > 0.7312$ ), encontrando una mejor relación con el tiempo de maduración ( $r^2 > 0.9792$ ), por el contrario, Vásquez (1997) reportó en *E. ringens* la inexistencia de una relación con el tiempo de maduración ya que los valores del índice se mantuvieron constantes antes de obtener un producto madurado, cabe mencionar que Pérez (1995) reportó diversos resultados asociados a la época de captura, así pues, en *E. encrasicholus* encontró para un lote una buena relación lineal con el tiempo de maduración ( $r^2 > 0.8170$ ), como también encontró para otro lote la inexistencia de una relación con el tiempo de maduración por mantener valores constantes de proteólisis.

Respecto al índice de proteólisis para el producto madurado, esta investigación reportó en Chimbote valores de 12.5, en Parachique de 8.7, en Lima de 9.4 y en Pisco de 11.2, presentando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre las zonas de maduración; Pérez (1995) reportó en *E. encrasicholus* valores de 40, Mattos *et al.* (1976) reportaron en *E. anchoíta* valores de 33.5, Maza y Salas (2004) reportaron en *E. ringens* valores de proteólisis de 23.0 y Vásquez (1997) reportó en *E. ringens* valores alrededor de 17.8; estas diferencias en los valores de proteólisis se asociarían a las condiciones operativas (Czerner 2011), a la actividad enzimática muscular y digestiva propia de cada especie e incluso al grado de madurez sexual y al contenido estomacal entre individuos de la misma especie (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965, Maza y Salas 2004).

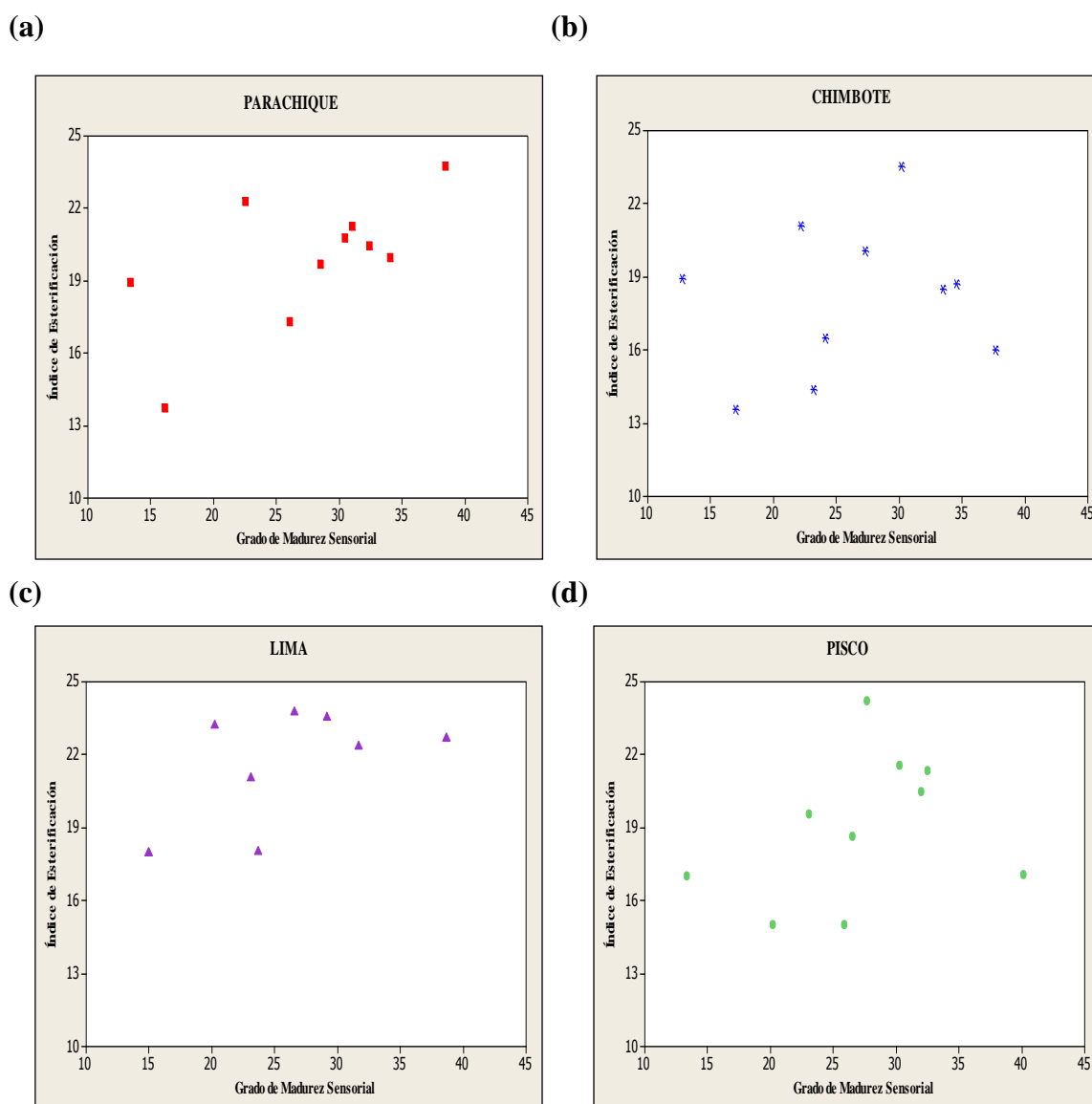
El efecto del nivel de prensa y de la temperatura para este ensayo reportan resultados similares con los obtenidos para el ensayo de grado de hidrólisis. Los niveles de prensa aplicados en las zonas de maduración no reportan diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) en la evolución del índice de proteólisis, probablemente por la similitud de las prensas aplicadas (34-47 gf/cm<sup>2</sup>), además Czerner (2011) menciona que solo niveles de prensa en un rango de 19 a 30 gf/cm<sup>2</sup> ejercen influencia en la evolución de este ensayo. Las temperaturas en las zonas de maduración no reportan un patrón definido, por ejemplo, Pisco (21.9°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) no difiere significativamente ( $p > 0.05$ ) de Chimbote (23.6°C, 45 gf/cm<sup>2</sup>) o de Parachique (26.5°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) a pesar de la diferencia de temperaturas, además,

Parachique (26.5°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) presenta una evolución más lenta del índice significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) con Chimbote (23.6°C, 45 gf/cm<sup>2</sup>), entonces al considerar que los niveles de prensa en este estudio no son influyentes, los resultados sobre la temperatura no concuerdan con la literatura, nuevamente se sospecha que el efecto de la temperatura en la proteólisis podría ser menos relevante que el efecto de las enzimas en épocas de invierno (Vásquez 1997) y que la actividad proteolítica influye en la evolución de este índice (Czerner 2011).

### c. Índice de Esterificación

Los valores del índice encontrados para *E. ringens* fluctúan marcadamente en un rango de 13.57 a 24.19 g KOH/100g mtra seca (**Figura 12**) para cada una de las zonas de maduración, no se presenta relación estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) entre el grado de madurez sensorial y el índice de esterificación (IE), ahora bien, Filsinger *et al.* (1982) reportó en *E. anchoíta* una tendencia hiperbólica entre el índice de esterificación y el tiempo de maduración, así como una relación lineal del índice con el grado de madurez sensorial en una escala logarítmica, ambos reportes consideran data a partir de la semana 12 ya que en las primeras semanas los valores fluctuaron en un rango de 3.19 a 9.30 g KOH/100g mtra seca, por otro lado, Filsinger (1987) reportó en *E. anchoíta* una tendencia lineal del índice con el tiempo de maduración solo hasta el punto donde el producto alcanza la maduración ya que luego los valores se mantienen constantes, estos valores se presentaron en un rango aproximado de 4.50 a 11.50 g KOH/100g mtra seca; se cree que la diferencia en los valores de ésteres puede deberse a la composición química propia de cada especie (Jordán y Chirinos de Vildoso 1965).

Además, Filsinger *et al.* (1987) concluye que el índice de ésteres no indica la calidad de las anchoas pese a resultar útil en la evaluación del grado de maduración, dado que diferentes lotes (barriles de maduración) no se ajustaron con la tendencia de evaluación propuesta en Filsinger *et al.* (1982), en este caso con *E. ringens* no se reportó diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) entre las zonas de maduración a pesar de las fluctuaciones mencionadas.



**Figura 12: Relación del grado de madurez sensorial con el índice de esterificación (g KOH/ 100g mtra seca) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco**

La información de la influencia de las condiciones operativas sobre el desarrollo de los ésteres es limitada, Filsinger (1987) reportó mayores valores del índice a un menor nivel de prensa, sin embargo, en esta investigación no se observa diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) asociadas al efecto del nivel de prensa y de la temperatura.

De acuerdo a los autores mencionados, el tiempo de maduración de *E. anchoíta* varía entre 24 a 40 semanas, probablemente este tiempo es suficiente para estimar una tendencia en el índice de esterificación, en el caso particular de *E. ringens* el tiempo de maduración varía

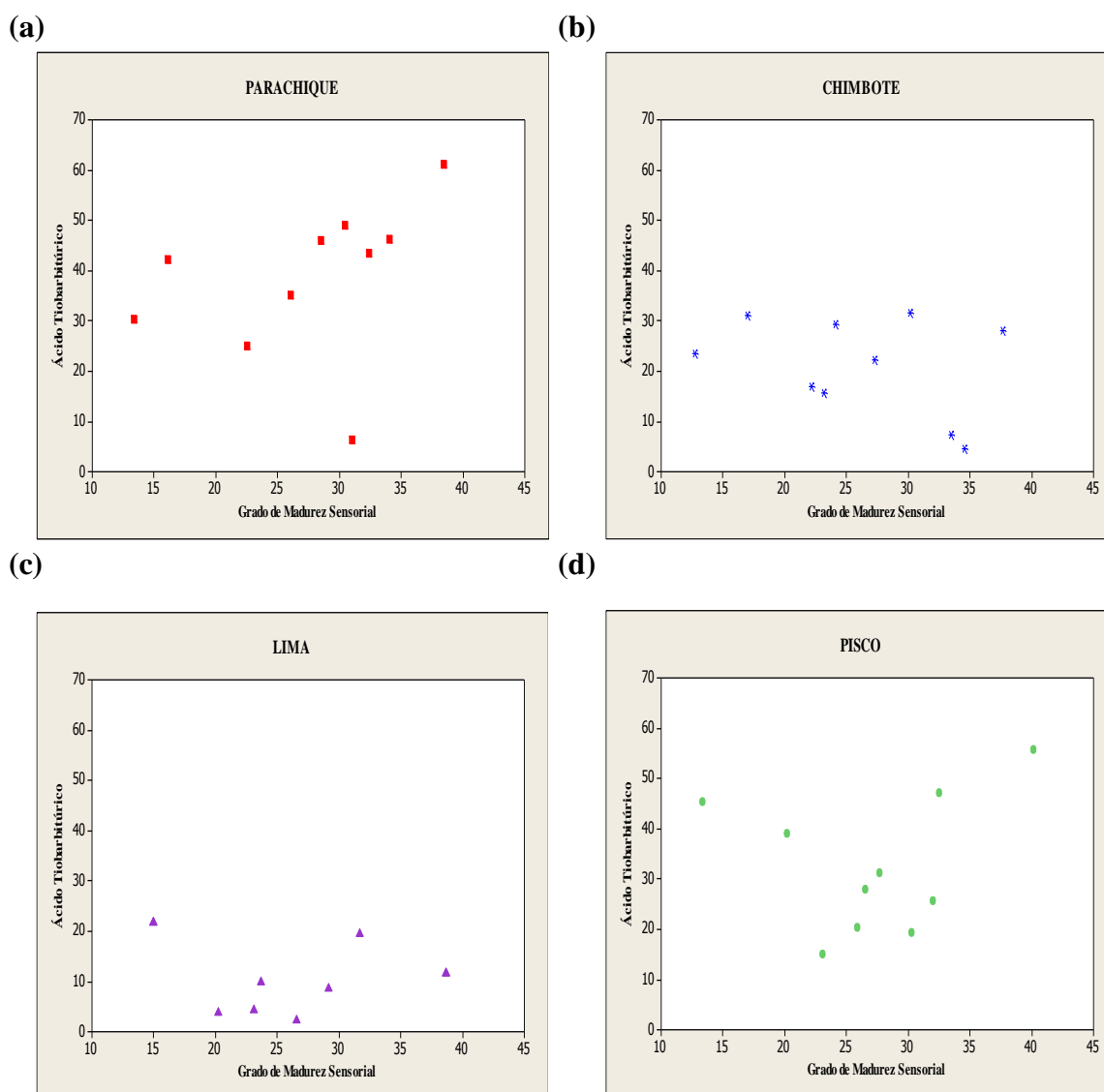
entre 16 a 22 semanas (**Sección 4.1**), tiempo insuficiente para esperar una tendencia, motivo por el cual el índice de esterificación no se considera relevante para evaluar el desarrollo del grado de madurez sensorial, pero sí para evaluar el desarrollo del bouquet típico de las anchoas ya que los compuestos generados por la lipólisis se relacionan específicamente con el atributo sensorial olor o aroma (Czerner 2011).

#### **d. Ácido Tiobarbitúrico**

En la maduración se espera la ocurrencia de procesos oxidativos por el contenido de ácidos grasos insaturados de los engráulidos y por las condiciones altamente prooxidantes de la sal (De la torre 1984, Czerner *et al.* 2009), la **Figura 13** muestra que los valores fluctúan marcadamente para cada una de las zonas de maduración, no se presenta relación estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) entre el grado de madurez sensorial y el ácido tiobarbitúrico (TBA), se reportaron resultados similares en *E. encrasicholus* con una fluctuación acusada del ácido, sin apreciarse una tendencia (Pérez 1995), por otra parte, se reportó para la misma especie una disminución general del ácido tiobarbitúrico (De la Torre 1984), y en otros casos, se reportaron en *E. encrasicholus* y *E. anchoíta* un incremento del ácido hasta alcanzar un valor máximo y luego una disminución gradual debido a la interacción de los productos de descomposición con el malonaldehído (Hernández-Herrero *et al.* 1999, Czerner *et al.* 2009).

En este estudio con *E. ringens* se encontró un valor máximo de 61.03 mg MAD/ Kg mtra, por otro lado De la Torre (1984) encontró con *E. encrasicholus* valores máximos de hasta 26.56 y 44.00 mg MAD/ Kg mtra para envases de vidrio y venta a granel respectivamente, Hernández-Herrero *et al.* (1999) encontraron para la misma especie un valor máximo de 13.46 mg MAD/ Kg mtra, Czerner *et al.* (2009) encontraron para *E. anchoíta* un valor máximo de 12.01 mg MAD/ Kg mtra; es importante mencionar que la determinación del ácido tiobarbitúrico dependerá de la técnica aplicada, el método usado en este trabajo implicó calentamiento de la muestra lo que pudo originar la degradación de hidroperóxidos y por ende una sobreestimación de malonaldehído (Hoyland y Taylor, citados por Czerner 2011).





**Figura 13: Relación del grado de madurez sensorial con el ácido tiobarbitúrico (mg MAD/ Kg mtra) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco**

De acuerdo a la literatura, el proceso oxidativo se asocia fuertemente a la presencia de sangre (hemoproteínas), la baja actividad de agua y la alta concentración de NaCl, condiciones en las que se encuentran sometidos los barriles de maduración, es limitada la información del efecto de la temperatura y el nivel de prensa en la oxidación, Czerner (2011) menciona que un mayor nivel de prensa ejerce efecto en la disminución de los fenómenos oxidativos ya que reduce la presión de  $O_2$  en el barril, en esta investigación se reportaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre las zonas de maduración, Parachique ( $26.5^{\circ}C$ ,  $47 \text{ gf/cm}^2$ ) y Pisco ( $21.9^{\circ}C$ ,  $47 \text{ gf/cm}^2$ ) presentaron mayores niveles de oxidación respecto a Chimbote ( $23.6^{\circ}C$ ,  $45 \text{ gf/cm}^2$ ) y Lima ( $20.3^{\circ}C$ ,  $34 \text{ gf/cm}^2$ ), sin embargo, estas

diferencias se asociarían a las condiciones prooxidantes de las muestras (contacto con el O<sub>2</sub>, presencia de sal, tiempo de transporte) durante su envío al laboratorio de análisis.

El proceso de oxidación es importante ya que los compuestos generados por este contribuyen en el desarrollo del bouquet típico de las anchoas (Czerner 2011), sin embargo, al igual que el índice de esterificación, los procesos oxidativos no son considerados válidos para la evaluación del grado de madurez sensorial.

#### e. Nitrógeno Básico Volátil Total

Es bien conocido que la determinación del nitrógeno básico volátil total sirve para evaluar la calidad de los productos hidrobiológicos, en el pescado fresco, las bases volátiles están conformadas principalmente por amonio y cantidades pequeñas de aminas (Bertullo 1975), además el límite máximo permitido para consumo humano es 30 mg NBV – T/ 100g mtra (Pons, citado por Czerner 2011), sin embargo en el caso de productos fermentados es común que excedan el límite sin peligro sanitario.

En este estudio la relación entre el grado de madurez sensorial con el nitrógeno básico volátil total (NBV-T) se da mediante una regresión lineal con una ecuación tipo  $Y = a + bX$ , la **Figura 14** presenta en cada zona de maduración una relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) y una correlación positiva entre las variables (**Anexo 4**); los resultados encontrados en *E. ringens* reportaron coeficientes de determinación alrededor de  $r^2 > 0.5670$ , resultados similares se encontraron en *E. anchoíta* con  $r^2 = 0.5650$  (Czerner 2011), por otro lado, de acuerdo a Hernández Herrero *et al.* (1999) en *E. encrasicholus* se da una buena relación entre el NBV-T y el tiempo de maduración entre la semana 1 y semana 9, de igual manera Czerner (2011) menciona en *E. anchoíta* una buena relación entre el NBV-T y el tiempo de maduración ( $r^2 > 0.8484$ ).

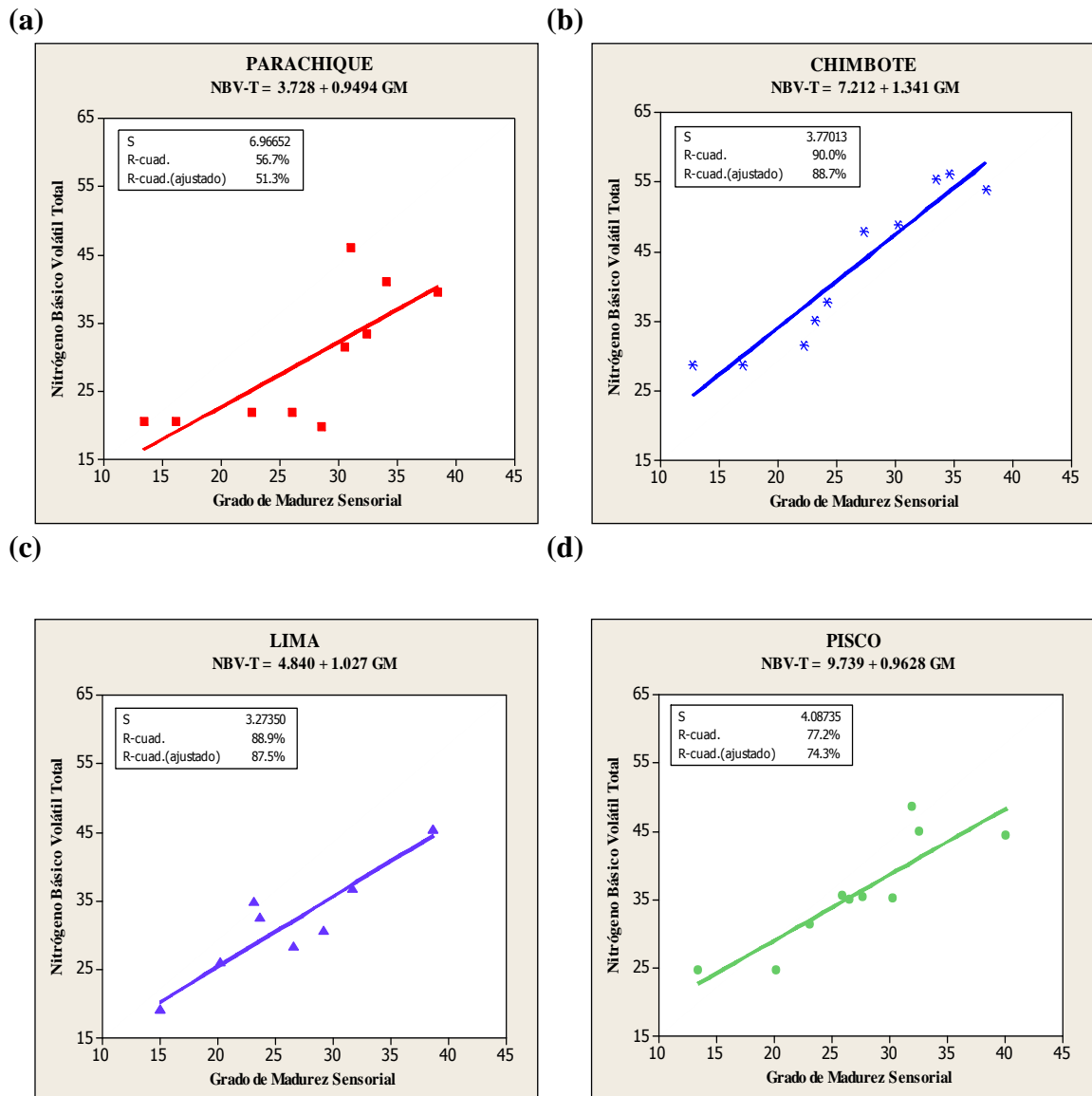
Czerner (2011) indica que una menor temperatura lentifica la evolución de NBV-T ya que reduce la actividad enzimática endógena y aleja a las bacterias de una temperatura favorable para su desarrollo, sin embargo dicho efecto no se pudo evidenciar en este estudio ya que

Parachique (26.5°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) presentó valores significativamente ( $p < 0.05$ ) más bajos de NBV-T respecto a Chimbote (23.6°C, 45 gf/cm<sup>2</sup>) a pesar de la diferencia de la temperatura, así como Parachique (26.5°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>) no reportó diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) respecto a Pisco (21.9°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>). En cuanto al efecto del nivel de prensa, Czerner (2011) indica que al reducir la prensa aplicada aumenta los valores y la velocidad de NBV-T, asocia este comportamiento a la disponibilidad de O<sub>2</sub> en el barril condicionando así la actividad microbiana, no se evidenció un efecto de la prensa en este estudio, Lima (20.3°C, 34 gf/cm<sup>2</sup>) no reportó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en los valores de NBV-T con Pisco (21.9°C, 47 gf/cm<sup>2</sup>).

En esta investigación con *E. ringens* se reportó un valor máximo de 56.18 mg NBV – T/ 100g mtra; mientras que Hernández Herrero *et al.* (1999) reportaron en *E. encrasicholus* un valor máximo de 35.64 mg NBV – T/ 100g mtra, De la Torre (1984) reportó en *E. encrasicholus* un valor máximo de 60.17 mg NBV – T/ 100g mtra, Mattos *et al.* (1976) reportaron en *E. anchoíta* un valor máximo de 115.00 mg NBV – T/ 100g mtra, Czerner (2011) reportó en *E. anchoíta* valores máximos en un rango entre 68.26 y 174.00 mg NBV – T/ 100g mtra, estas diferencias entre los valores reportados pueden atribuirse al efecto de las condiciones operativas durante la maduración, al efecto de las variables intrínsecas como la actividad enzimática y el contenido inicial de O-TMA y finalmente puede atribuirse a la calidad inicial de la materia prima.

Como puede evidenciarse en la **Figura 14**, el NBV-T presenta ligeras fluctuaciones, Hernández Herrero *et al.* (1999) asocia la disminución al paso de las bases hacia la salmuera y asocia el aumento a la acción enzimática y/o a la acción bacteriana. En la **Sección 4.1** se menciona que el producto madura en diferentes semanas de acuerdo a la zona, así pues, se registró un contenido de NBV-T para un producto madurado de 31.53 mg NBV – T/ 100g mtra en Parachique, de 48.82 mg NBV – T/ 100g mtra en Chimbote, de 30.54 mg NBV – T/ 100g mtra en Lima y de 35.20 mg NBV – T/ 100g mtra en Pisco. El análisis comparativo del NBV-T obtenidos hacia el final de la maduración evidencia que los niveles alcanzados por estas bases presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en las distintas zonas de maduración. Es importante resaltar el valor elevado de NBV-T de Chimbote respecto a las otras zonas, este se asociaría a un efecto enzimático o

bacteriano durante la maduración, ya que como se mencionó las pruebas experimentales se realizaron con una misma captura minimizando los efectos mencionados en el párrafo anterior.



**Figura 14: Relación del grado de madurez sensorial con el nitrógeno básico volátil total (mg NBV – T/ 100g mtra) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco**

## f. Nitrógeno de Trimetilamina

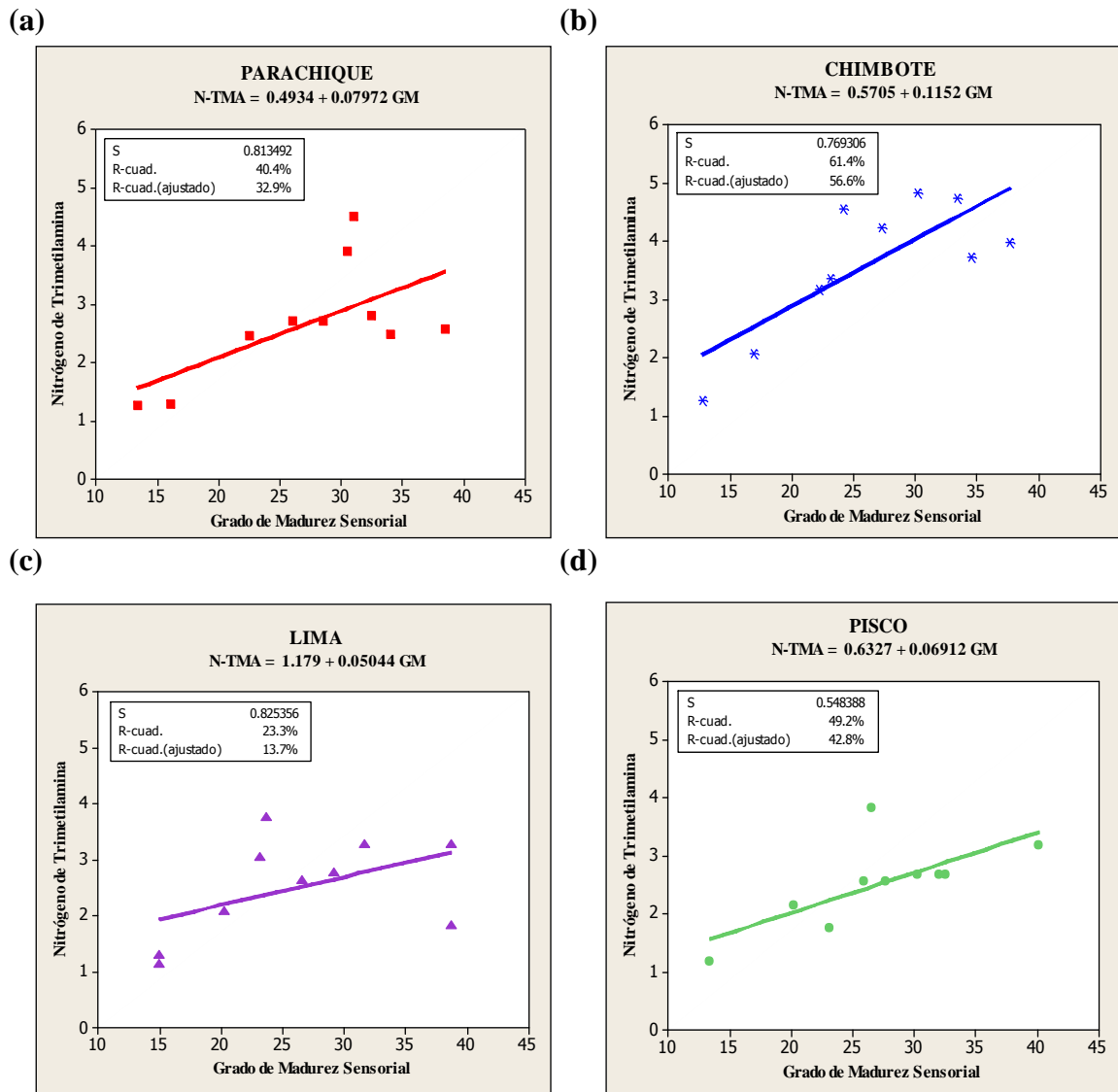
En otros trabajos, la determinación del contenido de nitrógeno de trimetilamina en anchoas se realizó únicamente con la finalidad de asegurar la calidad sanitaria del producto, este se reduce a partir del óxido de trimetilamina por acción bacteriana y enzimática (Bertullo 1975), el límite del contenido de N-TMA en el pescado fresco para garantizar su calidad se encuentra entre 5 a 10 mg N – TMA/ 100g mtra (Sikorski 1994), de igual modo que con el contenido de NBV-T, es común que los productos fermentados excedan el límite sin peligro sanitario.

La relación entre el grado de madurez sensorial con el nitrógeno de trimetilamina (N-TMA) se da mediante una regresión lineal con una ecuación tipo  $Y = a + bX$ . La **Figura 15** reporta una relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en Parachique, Chimbote y Pisco con una correlación positiva entre las variables (**Anexo 5**), sin embargo, la evolución de esta amina en Lima no presenta una relación estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) con el grado de madurez sensorial, se asociaría este hecho a la pérdida de salmuera del barril (fuga en cilindro), lo que ocasionó fluctuaciones marcadas en la semana 12.

El análisis comparativo del N-TMA obtenidos hacia el final de la maduración, evidencia que los niveles alcanzados por estas bases presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en las distintas zonas de maduración, en la **Sección 4.1** se menciona que el producto madura en diferentes semanas de acuerdo a la zona, así pues, se registró un contenido de N-TMA para un producto madurado en Parachique de 3.91 mg N – TMA/ 100g mtra, en Chimbote de 4.83 mg N – TMA/ 100g mtra, en Lima de 2.75 mg N – TMA/ 100g mtra y en Pisco de 2.66 mg N – TMA/ 100g mtra, nuevamente se debe resaltar el valor elevado de N-TMA de Chimbote respecto a las otras zonas.

De acuerdo a la revisión literaria, se da una ligera evolución de N-TMA durante la maduración, en este estudio con *E. ringens* se reportó un valor máximo de 4.8 mg N – TMA/ 100g mtra, mientras que De la Torre (1984) reportó en *E. encrasicolus* un valor máximo de 2.6 mg N – TMA/ 100g mtra, y Mattos *et al.* (1976) reportaron en *E. anchoíta* un valor máximo de 12.5 mg N – TMA/ 100g mtra, estas diferencias se

asociarían al desarrollo del nitrógeno de trimetilamina en anchoas, que depende de la presencia de flora halófila (Czerner 2011), de la descomposición del O-TMA (se detiene a un  $\text{pH} < 5$ ) (Bertullo 1975), y del contenido inicial de este óxido en la materia prima (Huss, citado por Czerner 2011), se debe indicar que al final de la maduración los valores de N-TMA disminuyeron probablemente por la volatilización de las bases, ocasionando coeficientes de determinación bajos.



**Figura 15: Relación del grado de madurez sensorial con el nitrógeno de trimetilamina (mg N – TMA/ 100g mtra) en (a) Parachique, (b) Chimbote, (c) Lima y (d) Pisco**

Ya que la determinación de N-TMA no se ha estudiado como indicador en el grado de maduración sensorial, no existes reportes de la influencia de las condiciones operativas en su evolución, además en este trabajo no se encontró un patrón significativo entre los valores de N-TMA con la temperatura y el nivel de prensa.

Es interesante mencionar que el contenido de N-TMA comúnmente se utiliza como indicador del grado de frescura en productos pesqueros, la evolución de esta amina en Chimbote no tendría relación con los factores asociados a la calidad sensorial, al contenido inicial de O-TMA y al contenido de hemoproteínas ya que toda la materia prima para la experimentación fue capturada en una misma cala reduciendo el efecto de estas variables, por el contrario, se relaciona esta evolución en Chimbote a una aparente carga bacteriana mayor respecto a las otras zonas, que sumada con la actividad de las proteasas dio como resultado mayores valores de N-TMA, lo que demuestra la contribución de los sistemas microbianos y afianza la teoría de maduración de que el proceso se desarrolla en una combinación de factores endógenos y microbianos. Este comportamiento explicaría los reportes de los ensayos de grado de hidrólisis, el índice de proteólisis y el contenido de NBV-T en Chimbote.

En conclusión, los parámetros fisicoquímicos que presentan mejores coeficientes de determinación son el grado de hidrólisis, el índice de proteólisis y el NBV-T, este hecho corrobora que el proceso de maduración se rige por la proteólisis y formación de compuestos nitrogenados. Por otro lado, al igual que Czerner (2011), se concluye que el índice de proteólisis representa mejor la evolución del grado de madurez sensorial, este resultado se relaciona directamente con el desarrollo de los atributos sensoriales, debido a que, el desarrollo de la textura y coloración dependen del nivel de proteólisis de las proteínas miofibrilares y de las hemoproteínas, y parte del desarrollo del bouquet típico depende de la formación de péptidos y aminoácidos libres (productos de la proteólisis).

El mejor desarrollo de las características sensoriales de anchoveta se presentó en Chimbote, con una temperatura promedio de 23.6°C y un nivel de prensa de 45 gf/cm<sup>2</sup>, en cambio,

Czerner (2011) reportó el mejor desarrollo de las características sensoriales de *E. anchoíta* con una temperatura de 15°C y un nivel de prensa de 30 gf/cm<sup>2</sup>.

Se observa que los valores reportados en el grado de hidrólisis, el índice de proteólisis y el NBV-T varían entre lotes de maduración (zonas de experimentación), dicho de otro modo, a un mismo grado de maduración sensorial no se reporta un mismo nivel de estos parámetros fisicoquímicos, por lo que, a pesar de la buena relación de estos con el grado de maduración sensorial, no es adecuado proponerlos como indicadores de calidad, se puede atribuir estas variaciones al aporte de la actividad enzimática entre individuos de la misma especie ligado a la calidad y composición de la materia prima como al aporte de la actividad microbiana.

### **4.3. INFLUENCIA DE LAS VARIACIONES OPERATIVAS DURANTE LA MADURACIÓN**

Las condiciones aplicadas durante el proceso de maduración se pueden observar en el **Cuadro 6**.

#### **4.3.1. Temperatura**

Diversos autores reportan que elevados niveles de temperatura aceleran el proceso de maduración, es común que la industria de anchoas regule la velocidad de maduración principalmente con el efecto de la temperatura, esta permite eliminar el exceso de grasa, acelerar la difusión agua-sal y regular la actividad de las proteasas y las bacterias (Czerner 2011).

Al evaluar el desarrollo de los atributos sensoriales se encontró que solo la consistencia y el sabor se desarrollaron ligeramente más a mayores temperaturas que los otros atributos, sin embargo, estas no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ), al respecto, Czerner (2011) reportó que principalmente los atributos adherencia, consistencia y aroma son afectados por elevadas temperaturas, mientras que los atributos color, sabor y aroma son afectados por bajas temperaturas. Se debe considerar que temperaturas extremas obtendrán un producto con características sensoriales no agradables, temperaturas altas alteran las propiedades viscoelásticas del músculo ocasionando un ablandamiento, mientras



que temperaturas bajas lentifican las reacciones químicas y enzimáticas (Chiralt, citado por Czerner 2011).

#### **4.3.2. Presión**

En el presente estudio, no se encontró diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ) de los atributos sensoriales con el efecto del nivel de prensa cuando estas fluctuaron entre 34-47 gf/cm<sup>2</sup>, al respecto Czerner (2011) reportó que niveles de prensa menores a 30 gf/cm<sup>2</sup> influyen significativamente sobre los atributos sensoriales en comparación con mayores niveles de prensa, excepto en el color; Filsinger (1987) reportó que el proceso efectuado con una presión de 65.8 gf/cm<sup>2</sup> da como resultado un producto sobremadurado con el músculo demasiado frágil y con olores rancios a la semana 24, mientras que con una presión de 197.4 gf/cm<sup>2</sup> da como resultado un producto no maduro con el músculo fuertemente adherido al espinazo, con falta de elasticidad y con presencia de manchas rojas a la semana 34. En general, diversos autores reportan que bajos niveles de prensa aceleran el proceso de maduración. De igual modo, se debe considerar que prensas excesivas o mínimas obtendrán un producto con características sensoriales no agradables.

Czerner (2011) explica que, la adherencia puede verse afectada por la presión, altos niveles de prensa adhieren fuertemente el músculo al espinazo y bajos niveles de prensa sobredesarrollan el atributo ocasionando en ambos casos el desgarramiento de los filetes; la consistencia, conocido también como la textura se relaciona con las proteínas miofibrilares, por lo que una mayor temperatura y menor prensa implica una mayor proteólisis que ocasiona filetes con aspecto pastoso y desgranado; el color determinado fundamentalmente por la concentración de las hemoproteínas, en especialmente de mioglobina, depende de los niveles de temperatura ya que determinan el grado de proteólisis de estas hemoproteínas y por ende el cambio en la coloración, se debe recalcar que el color rojo intenso de la columna vertebral se mantiene incluso cuando el resto de los atributos indican un producto madurado; el aroma y el sabor se sobredesarrollan a mayores temperaturas y menores niveles de prensa, estas condiciones aceleran la actividad enzimática y bacteriana produciendo “aromas y sabores extraños”, estos atributos dependen del contenido inicial de lípidos ya que puede

contribuir con aromas y sabores rancios. Al final de este estudio se apreció ciertas características sensoriales desagradables asociadas a un producto sobremadurado, es decir, algunos filetes se desgranaron con facilidad y desarrollaron “aromas y sabores extraños”, por otro lado, el color rojo intenso de la columna vertebral en los filetes se mantuvo hasta en el producto sobremadurado.

Las características sensoriales del producto final podrían variar significativamente de acuerdo a la materia prima y las condiciones operativas, al respecto Czerner (2011) no reportó diferencias significativas entre lotes provenientes de diferentes materias primas, pero si reportó diferencias significativas de acuerdo al rango aplicado de las variables operativas durante el proceso, es decir, si la temperatura varió de 5°C a 20°C y si el nivel de prensa varió de 30 a 140 gf/cm<sup>2</sup>, este hecho se corroboró con los resultados obtenidos en este estudio ya que no se reporta diferencias significativas entre las zonas de maduración por la similitud de las condiciones operativas (T = 20.3°C – 26.5°C; P = 34 – 47 gf/cm<sup>2</sup>), por tanto, solo variaciones marcadas en las condiciones operativas ejercerán efecto en el proceso de maduración.

#### **4.4. INOCUIDAD EN ANCHOAS**

##### **4.4.1. Control de histamina**

La anchoveta es una especie con elevada concentración de histidina libre en el músculo por lo que tiene gran probabilidad de formar histamina, esta formación dependerá de calidad de la materia prima, de la eficiencia de producción, de presencia de bacterias halófilas con actividad histidina descarboxilasa, y de las condiciones de maduración. Los productos madurados pueden tener considerables niveles de histamina sin indicar deterioro (Czerner 2011).

En la maduración de anchoas, se reporta una alta variabilidad del contenido de aminos y de histamina, este último tiende a disminuir hacia el final de la maduración. En este estudio, en todas las zonas de maduración el contenido final de histamina es mínimo (**Cuadro 7**), resultados similares reportaron Maza y Salas (2004) para *E. ringens* con un máximo de 5.8 mg/Kg y un contenido final de 2.25 mg/Kg, mientras que Pons-Sánchez *et al.* (2003)

reportaron para *E. Encrasicholus* un máximo de 20 mg/Kg y un contenido final de 4.5 mg/Kg. Ahora bien, se realizó este ensayo con la finalidad de asegurar la calidad sanitaria del producto, hecho que se corrobora con los valores reportados, ya que no excede los límites máximos permitidos (200 mg/Kg).

**Cuadro 7: Niveles de Histamina en las diferentes zonas de maduración**

ZONA DE MADURACIÓN	SEMANA DE MADURACIÓN (*)	NIVELES DE HISTAMINA (mg/Kg)
Parachique	33	<7
Chimbote	32	<7
Lima	28	<7
Pisco	33	<7

(\*) Última semana de estudio en cada zona de maduración

#### 4.4.2. Control microbiológico

Los productos madurados se caracterizan por una actividad de agua menor a 0.8 y un contenido de sal mayor al 14%, condiciones en las cuales el deterioro del producto se limita a grupos de bacterias halófilas (Huss y Valdimarson, citado por Czerner 2011), las posibles fuentes de esta carga microbiana pueden provenir de una materia prima de baja calidad (vísceras reventadas) y/o de insumos (agua y sal) contaminados (Hall 2001, Pons-Sánchez *et al.* 2003, Czerner 2011).

En este estudio, se reportó un contenido de aerobios menor a 10 UFC/g (**Cuadro 8**) hacia el final de la maduración (Semana 27 – 28), Hernández Herrero *et al.* (1999) reportaron en *E. encrasicholus* un recuento total de bacterias de  $1 \times 10^2$  UFC/g a la semana 9, Maza y Salas (2004) reportaron en *E. ringens* un conteo de aerobios mesófilos de  $4 \times 10^2$  UFC/g a la semana 28 y Czerner (2011) reportó en *E. anchoíta* un recuento total de bacterias de  $2 \times 10^4$  UFC/g a la semana 53; presentando como flora dominante a las bacterias halófilas moderadas y estrictas.

**Cuadro 8: Contenido microbiológico en las diferentes zonas de maduración**

ZONA DE MADURACIÓN	SEMANA DE MADURACIÓN	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO (ufc/g)
		Aerobios Mesófilos
Parachique	27	< 10
Chimbote	28	< 10
Lima	28	< 10
Pisco	27	< 10

## V. CONCLUSIONES

El proceso de maduración ocasiona importantes cambios sensoriales, físicos y químicos en la anchoa. Las características sensoriales a partir de la anchoveta peruana no se asemejan a las características sensoriales descritas para otros engráulidos, la principal diferencia se dio en el desarrollo del atributo sensorial color que se encuentra fuertemente ligado al contenido de hierro, se reconoce a la anchoveta como el engráulido que posee mayor contenido de hierro; la otra diferencia se dio en el desarrollo de las características sensoriales del producto sobremadurado ya que la anchoveta no presentó olores, colores, ni sabores putrefactos como se reporta para otros engráulidos, solo se sobredesarrolló el atributo sensorial adherencia afectando el rendimiento. Finalmente, se elaboró una nueva tabla de evaluación sensorial específica para anchoveta a través del análisis de los parámetros fisicoquímicos asociados a su maduración y de las condiciones operativas en las que suelen trabajar las procesadoras para su posible transferencia a las empresas interesadas en su aplicación.

Un producto madurado de anchoveta peruana se caracterizará por un desprendimiento sencillo de los filetes, sin resto en la columna, músculo resistente al tacto; una coloración con tonalidades beige a los bordes y rojo opaco en la línea central o con tonalidades rosas claro en la totalidad del filete, la coloración estará sujeta al tipo de desangrado; un olor característico de anchoas, a ésteres volátiles y sabor característico de carne curada-madurada.

La salazón típica del proceso en la primera semana incrementó los cloruros y las cenizas hasta  $16.9 \pm 1.5$  g/100g y  $15.6 \pm 0.4$  g/100g respectivamente, en consecuencia, disminuyeron la humedad y la actividad de agua hasta  $53.1 \pm 1.6$  g/100g y  $0.8 \pm 0.02$  respectivamente; es importante controlar los niveles de actividad de agua durante el primer mes ya que valores por encima de 0.80 repercuten en la calidad sanitaria del producto terminado.

Se reportó para un producto madurado de anchoveta, valores de hidrólisis en Parachique de 4.25, en Chimbote de 7.29, en Lima de 5.68 y en Pisco de 5.16; valores de proteólisis en Parachique de 8.7, en Chimbote de 12.5, en Lima de 9.4 y en Pisco de 11.2; contenido de bases volátiles nitrogenadas en Parachique de 31.53 mg NBV – T/ 100g mtra, en Chimbote de 48.82 mg NBV – T/ 100g mtra, en Lima de 30.54 mg NBV – T/ 100g mtra y en Pisco de 35.20 mg NBV – T/ 100g mtra en Pisco; contenido de nitrógeno de trimetilamina en Parachique de 3.91 mg N – TMA/ 100g mtra, en Chimbote de 4.83 mg N – TMA/ 100g mtra, en Lima de 2.75 mg N – TMA/ 100g mtra y en Pisco de 2.66 mg N – TMA/ 100g mtra, mientras que se reportó valores fluctuantes de éster y de ácido tiobarbitúrico en un rango de 13.57 a 24.19 g KOH/100g mtra seca y 2.36 a 61.03 mg MAD/ Kg mtra respectivamente durante la maduración. Los valores de  $a_w$  de las anchoas durante la salazón y maduración inhibieron el crecimiento de microorganismos, hecho que se corroboró con el ensayo de histamina y de aerobios mesófilos.

Los parámetros fisicoquímicos que tienen mejor relación con el grado de madurez sensorial son el grado de hidrólisis, el índice de proteólisis y el NBV-T por su relación con la proteólisis y la formación de compuestos nitrogenados, por el contrario, el N-TMA tienen una baja relación con el grado de madurez sensorial probablemente por la volatilización del compuesto en las últimas semanas, más aun los parámetros fisicoquímicos asociados a los cambios lipídicos como el índice de esterificación y el ácido tiobarbitúrico no presentaron relación con el grado de madurez sensorial a causa de su marcada fluctuación durante la maduración. De los parámetros fisicoquímicos mencionados, el índice de proteólisis es el que presentó mayor relación con la evolución sensorial evidenciando que el proceso de maduración se rige principalmente por la proteólisis. Es importante mencionar que no necesariamente a un mismo grado de madurez sensorial se reporta el mismo nivel de proteólisis, por lo que no es adecuado proponerlos como indicadores de maduración. De este análisis, se concluye que existe una importante contribución del efecto enzimático endógeno o microbiano en la maduración de anchoas, afianzando la teoría de que el proceso se desarrolla en una combinación de factores.

El nivel de prensa no presentó cambios significativos entre las zonas de maduración cuando las prensas variaron entre 34 y 47 gf/cm<sup>2</sup>, del mismo modo, el efecto de la temperatura no

presentó un patrón definido cuando la temperatura promedio varió entre 20.3 y 26.5°C, se sospecha que el efecto de las enzímico – microbiano es más relevante, por tanto, solo variaciones marcadas en las condiciones operativas ejercerán efecto en el proceso de maduración.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Se reconoce que el desarrollo del bouquet típico (aroma y sabor) de las anchoas es causado por los cambios lipídicos, por lo que, debido a la falta de tendencia de estos con la evolución sensorial, resulta de interés estudiar el comportamiento de la interacción lípidos-proteínas durante la maduración.

Esta investigación sospecha que el efecto enzimático puede ser mayor que el efecto de las condiciones de maduración, por lo que se recomienda estudiar mediante ensayos específicos la actividad enzimática endógena o bacteriana inclusive en producciones que provengan de una misma captura. Es importante realizar seguimiento microbiológico durante el proceso de maduración.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrian, J; Potus, J; Poiffait, A; Dauvillier, P. 2000. Análisis nutricional de los alimentos. Peiró Esteban, JM (trad.). Huesca, España, Acribia. 292 p.
2. Albrecht, M; Salas, A. 2015. Chemical Composition of Light and Dark Muscle of Peruvian Anchovy (*Engraulis ringens*) and Its Seasonal Variation. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 24:191-196.
3. Aleman Polo, M. 1997. Compuestos nitrogenados del músculo de recursos hidrobiológicos: Proteínas y compuestos del extractivo. Curso Internacional Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros (13, 1997, Callao, Perú). Callao, Perú, Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. 102 p.
4. Ayala Galdós, ME. 1997. Estructura y composición química del pescado. Curso Internacional Tecnología de Procesamiento de Productos Pesqueros (13, 1997, Callao, Perú). Callao, Perú, Instituto Tecnológico Pesquero del Perú. 102 p.
5. Ayala, M; Salas, A; Albrecht, M; Paredes, J. 2003. Longitud, peso y composición química proximal de la anchoveta peruana en el período post El Niño 1997-98. *Boletín de Investigación del Instituto Tecnológico Pesquero del Perú* 5:13-19.
6. Badui D, S. 2006. Química de los Alimentos. 4 ed. Quintanar D, E; Gutiérrez H, M (eds.). México, Pearson Educación. 736 p.
7. Belitz, HD; Grosch, W; Schieberle, P. 2012. Química de los Alimentos. 3 ed. Fernández-Salguero Carretero, J; De la Fuente Moreno, JL; López Lorenzo, P (trads.). Zaragoza, España, Acribia. 910 p.
8. Benítez, R; Ibarz, A; Pagan, J. 2008. Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 42(2):227-236.

9. Bertolotti, M; Manca, E. 1986. Procesamiento y comercialización de la anchoíta (*Engraulis anchoíta*) del Mar Argentino. Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero (5):224-246.
10. Bertullo, VH. 1975. Tecnología de los Productos y Subproductos de Pescados, Moluscos y Crustáceos. Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur. p. 157-209.
11. BOE (Boletín oficial del Estado, España). 1964. Orden del Ministerio de Comercio de 1 de julio de 1964 por la que se regulan las condiciones que, a efectos de exportación, deben reunir la salazón, la semiconserva y la conserva de pescado. Norma 179. España. 1 jul. p. 9644.
12. Bostock, T; Coulter, J. 1989. El desarrollo y mercadeo de Macarela (*Scomber japonicus*) salada en el Ecuador. Informe de la consulta técnica sobre utilización y mercadeo de pescado en América Latina (supl. al informe):95-105.
13. Bouchon, M; Ayón, P; Mori, J; Peña, C; Espinoza, P; Hutchings, L; Buitron, B; Perea, A; Goicochea, C; Messie, M. 2010. Biología de la anchoveta peruana, *Engraulis ringens Jenyns*. Callao, Perú, IMARPE. v.25, nro 1 y 2, p. 23-30.
14. Colina Irezabal, ML. 2010. Deshidratación de Alimentos. México, Trillas. 215 p.
15. Conway, EJ; Byrne, A. 1933. An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances: The micro-determination of ammonia. Dublin, Ireland, University College. 11 p.
16. Czerner, M. 2011. Aspectos tecnológicos de la maduración de Anchoíta (*Engraulis anchoíta*) salada: Efecto de la composición química y otras variables tecnológicas. Tesis de Doctorado. Buenos Aires, Argentina, Universidad Nacional de la Plata. 248 p.
17. Czerner, M; Tomás, M; Yeannes, M. 2009. Oxidación de lípidos durante el salado-madurado de anchoíta y su relación con el desarrollo del color y otras características sensoriales (póster). In Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceite (XIII, 2009, Rosario, Argentina). Rosario, Santa Fe, Argentina. Araguás, Herrero y Asoc. S.R.L.
18. Damodaran, S; Parkin, KL; Fennema, OR (eds.). 2010. Fenemma Química de los alimentos. 3 ed. Sanz Pérez, B; Ibarz Ribas, A; Ordóñez Pereda, JA; Medina Carnicer, M; Fernández-Salguero Carretero, J; López Buesa, P; Moreno Rojas, R;

- De la Fuente Moreno, JL; Estévez García, M; Oria Almudí, R; Fernández Álvarez, L; López Lorenzo, P (trads.). Zaragoza, España, Acribia. 1154 p.
19. Daudin, JD; Bucharles, C; Denoyer, C; Girard, JP; Goutefongea, R; Laroche, M; Maillard, T; Ramihone, M. 1991. Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. Compairé Fernández, C (trad.). Zaragoza, España, Acribia. 300 p.
  20. De la Torre B, C. 1984. Anchoas en Salazón: Parámetros químicos de calidad. *Arxius*: 59-79.
  21. DOUE (Diario Oficial de la Unión Europea, España). 2005. Reglamento (CE) n° 2074/2005 de la comisión de 5 de diciembre de 2005. 2074. España. 22 dic. 33 p.
  22. DOUE (Diario Oficial de la Unión Europea, España). 2007. Reglamento (CE) n° 1441/2007 de la comisión de 5 de diciembre de 2007. 1441. España. 05 dic. 18 p.
  23. Dumay, J; Barthomeuf, C; Berge, J-P. 2004. How Enzymes May Be Helpful for Upgrading Fish By-Products: Enhancement of Fat Extraction. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 13(2):69-84.
  24. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy); SIDA (Swedish International Development Authority). 1986. Food analysis: general techniques, additives, contaminants, and composition. Rome, Italy. 260 p. (FAO Food and Nutrition Paper). 14/7.
  25. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Italia); OMS (Organización Mundial de la Salud, Italia). 2009. Codex Alimentarius: Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros. Roma, Italia. p. 112-115.
  26. FDA (U.S. FOOD & DRUGS ADMINISTRATION). 2015. Bacteriological Analytical Manual: Aerobic Plate Count (en línea). Consultado 20 ago. 2017. Disponible en <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>
  27. FDA (U.S. FOOD & DRUGS ADMINISTRATION). 2015. Bacteriological Analytical Manual: Yeasts, Molds and Mycotoxins (en línea). Consultado 20 ago.

2017. Disponible en <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm071435.htm>
28. Fernández, S; Vitancurt, J. 1999. El proceso de salado con maduración de Lacha (*Brevoortia* spp.). PROBIDES (Documentos de Trabajo) (17):1-28.
29. Filsinger, B; Barrasi, CA; Lupin, HM; Trucco, RE. 1982. An objective index for evaluation of the ripening of salted anchovy. *Journal of Food Science and Technology* 17:193-200.
30. Filsinger, B; Sisti, E; Bergamaschi, J. 1987. Chemical and sensory assessments in ripened anchovies. *International Journal of Food Science and Technology* 22:73-76.
31. Filsinger, BE. 1987. Effect of Pressure on the Salting and Ripening Process of Anchovies (*Engraulis anchoíta*). *Journal of Food Science* 52(4):919-921.
32. FUNIBER (Fundación Universitaria Iberoamericana, España). 2017. Composición Nutricional: Base de datos Internacional de Composición de Alimentos (en línea, sitio web). Consultado 01 oct. 2017. Disponible en <http://www.composicionnutricional.com/alimentos/>
33. García, E; Mongó, M; Culquicóndor, N; Huasasquiche, P; Urbina, J. 2008. Introducción de la anchoa en el mercado brasileño. Lima, Perú, Esan Ediciones. 190 p. (Serie Gerencia Global 9)
34. Goenaga, I. 2010. Estabilidad del color de la carne de ternera. Tesis Ing. Barcelona, España, UPNA. 91p.
35. Guadix, A; Guadix, EM; Páez-Dueñas, MP; González-Tello, P; Camacho, F. 2000. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica* 41(1):79-89.
36. Gutiérrez, H; De La Vara, R. 2008. Análisis y diseños de experimentos. 2 ed. Cano, A; Osorio, M (eds.). Distrito Federal, México, Mc Graw-Hill Interamericana. 545 p.
37. Gutiérrez, M; Establier, R; Calderón, M; Bravo, E. 1980. Estudios bioquímicos e histológicos del tejido muscular del boquerón (*Engraulis encrasicolus* L.) y la salmuera durante el proceso de anchoización. *Investigaciones Pesqueras* 44(3): 471-483.

38. Hall, GM. 2001. Tecnología del Procesado de Pescado. 2 ed. Reyes, S; Montserrat, F (trads.). Zaragoza, España, Acribia. p. 58-65.
39. Hernández Herrero, MM; Roig Sagués, AX; López Sabater, EI; Rodríguez Jeréz, JJ; Mora Ventura, MT. 1999. Total Volatile Basic Nitrogen and other Physicochemical and Microbiological Characteristic as Related to Ripening of Salted Anchovies. *Journal of Food Science (Microbiology)* 64(2):344-347.
40. Hildebrand, SF. 1946. A descriptive catalog of the shore fishes of Peru. Bulletin 189. Washington, United States, Government Printing Office. 552 p.
41. IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2014. Análisis poblacional de la pesquería de anchoveta en el ecosistema marino peruano. Lima, Perú. 38 p.
42. IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2015. Pesquería de la anchoveta en la región sur del mar peruano durante el período agosto – diciembre 2015 y perspectivas de explotación para el período enero – junio 2016. Lima, Perú. 4 p.
43. IMARPE (Instituto del Mar del Perú). 2016. Evaluación del POI – PTI al III Trimestre del 2016. Lima, Perú. 261 p.
44. INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual, Perú). 2013. Anchoas en salazón y envasadas: Requisitos. 204.056. Lima, Perú. 26 dic. 21 p.
45. ISP (Instituto de Salud Pública, Chile). 2014. Determinación de aminas biogénicas (Histamina): Metodo HPLC. 2637. 3 ed. Santiago, Chile. 5 may. 8 p.
46. ITP (Instituto Tecnológico Pesquero, Perú); Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera. 2010. Indicadores o criterios de seguridad alimentaria e higiene para alimentos y piensos de origen pesquero y acuícola. 2 ed. Lima, Perú. p.13.
47. Jordán, R. 1971. Distribution of Anchoveta (*Engraulis ringens J.*) in relation to the environment. *Investigaciones Pesqueras* 35(1):113-126.
48. Jordán, R; Chirinos de Vildoso, A. 1965. La anchoveta (*Engraulis ringens J.*): Conocimiento actual sobre su biología, ecología y pesquería. Callao, Perú, Instituto del Mar del Perú. 52 p. Informe No. 6.

49. Legarreta, I; Rosmini, M; Armenta, R. 2009. Tecnología de productos de origen acuático. Distrito Federal, México, LIMUSA. p. 136-145.
50. Llinás Solano, H. 2010. Estadística Inferencial. Bogotá, Colombia, Uninorte. 423 p.
51. MAPAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, España); Secretaria General de Pesca. 2013. Mercado de la Anchoa. España. 97 p.
52. Mattos, S; Rodríguez, JA; Torrejón, E. 1976. Estudio sobre la utilización de la anchoíta (*Engraulis anchoíta*) en la fabricación de anchoas. Montevideo, Uruguay, Ministerio de Industria y Energía. (11 p.). (Serie Pesca)
53. Maza, S; Salas, A. 2004. Cambios en los parámetros físicos, químicos y sensoriales durante el proceso de maduración de la anchoveta peruana. Boletín de Investigación del Instituto Tecnológico Pesquero del Perú 6:81-83.
54. Nielsen, SZ. 2010. Food Analysis Laboratory Manual. 2 Ed. Indiana, Estados Unidos, Springer. 171 p.
55. Pérez Villarreal, B. 1995. Estudio del proceso de maduración de la anchoa en salazón. Sukarrieta, España, AZTI Tecnalia. 88 p. Informe Técnico N° 68.
56. Pons-Sánchez Cascado, S; Veciana Nogués, M; Vidal Carou M. 2003. Effect of delayed gutting on biogenic amine contents during ripening of European anchovies. European Food Research and Technology (216):489-493.
57. PRODUCE (Ministerio de la Producción, Perú). 2013. Anuario estadístico pesquero y acuícola – 2012. Quispe, J; León, H; Bernedo, D; Montero, E (eds.). Lima, Perú. 180 p.
58. PRODUCE (Ministerio de la Producción, Perú). 2015. Anuario estadístico pesquero y acuícola – 2013. Lima, Perú. 113 p.
59. PRODUCE (Ministerio de la Producción, Perú). 2015. Anuario estadístico pesquero y acuícola – 2014. Bernedo, D; León, H; Quispe, J (eds.). Lima, Perú. 196 p.
60. PRODUCE (Ministerio de la Producción, Perú). 2016. Anuario estadístico pesquero y acuícola – 2015. Bernedo, D; León, H; Montero, E; Quispe, J (eds.). Lima, Perú. 196 p.

61. PROMPERÚ (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo). 2017. *Desarrollo del Comercio Exterior Pesquero*. Lima, Perú. 95 p. (Serie Informe Anual 2016)
62. PROMPERÚ (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo). 2016. *Desarrollo del Comercio Exterior Pesquero*. Lima, Perú. 91 p. (Serie Informe Anual 2015)
63. PROMPERÚ (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo). 2015. *Desarrollo del Comercio Exterior Pesquero*. Lima, Perú. 90 p. (Serie Informe Anual 2014)
64. PROMPERÚ (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo). 2014. *Desarrollo del Comercio Exterior Pesquero*. Lima, Perú. 90 p. (Serie Informe Anual 2013)
65. PROMPERÚ (Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo). 2013. *Desarrollo del Comercio Exterior Pesquero*. Lima, Perú. 85 p. (Serie Informe Anual 2012)
66. Ruitter, A. 1999. El pescado y los productos derivados de la pesca: Composición, propiedades nutritivas y estabilidad. Sanz, B (Ed.); Ferrándiz, ML (Trad.). Zaragoza, España, Acribia. p. 99-207.
67. Sanger, F. 1949. The Terminal Peptides of Insulin. *Biochemical Laboratory of University of Cambridge* 45:563-574.
68. Sikorski, ZE. 1994. *Tecnología de los productos del mar: Recursos, composición nutritiva y conservación*. Esaín, J (Trad.). Zaragoza, España, Acribia. p. 97-98.
69. Stefánsson, G; Guðmundsdóttir, G. 1995. Free amino acids and their relationship to taste in (salt) ripened pelagic fish species. Reykjavik, Islandia, Icelandic Fisheries Laboratories. p. 1-9. Rf Report 91.
70. Triqui, R; Zouine, K. 1999. Sensory and Instrumental Assessments of the Ripening Process of Anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* 32(4):203-207.
71. UN Comtrade (United Nations Comtrade). 2014-2017. UN Comtrade Database (en línea). Consultado 30 jul. 2017. Disponible en <https://comtrade.un.org/data/>

72. Vásquez, M. 1997. Proyecto de Innovación Tecnológica: Preservas de Anchoas. Arica, Chile, HEMA S.A. 180 p.
73. Vyncke, W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as measure of oxidative rancidity. *Fette Seifen Anstrichmittel* (12):1084-1087.
74. Whitehead, PJP; Nelson, GJ; Wongratana, T. 1988. FAO species catalogue. Vol. 7. Clupeoid fishes of the world (Suborder Clupeioidi): An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. Part 2. Engraulididae. *FAO Fisheries Synopsis* 7(125):305-579.
75. Wonnacott, TH; Wonnacott, RJ. 2010. Introducción a la estadística. 5ed. Villagómez Velásquez, H (trad.). Distrito Federal, México, Limusa. 788 p.



## VIII. ANEXOS

### ANEXO 1

#### PRODUCCIÓN DE BARRILES EN SALAZÓN

(a) Recepción materia prima



(b) Corte



(c) Lavado



(d) Desangrado



(e) Salazón



(f) Llenado de barriles



(g) Maduración



## ANEXO 2

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO ENSAYO GRADO DE HIDRÓLISIS

#### ANOVA unidireccional: GH vs. ZONAS - GH

Fuente	GL	SC	MC	F	P
ZONAS - GH	3	11.37	3.79	2.74	0.057
Error	36	49.78	1.38		
Total	39	61.15			

S = 1.176    R-cuad. = 18.60%    R-cuad. (ajustado) = 11.81%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.
GH-CH	10	5.871	1.606
GH-LI	10	4.432	0.750
GH-PA	10	4.793	1.151
GH-PI	10	4.884	1.033

Desv.Est. agrupada = 1.176

#### Análisis de regresión: GH-PA vs. GM-PA

La ecuación de regresión es  
 $GH-PA = 1.291 + 0.1283 GM-PA$

S = 0.574543    R-cuad. = 77.8%    R-cuad. (ajustado) = 75.1%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	9.2733	9.27329	28.09	0.001
Error	8	2.6408	0.33010		
Total	9	11.9141			

#### Análisis de regresión: GH-CH vs. GM-CH

La ecuación de regresión es  
 $GH-CH = 1.083 + 0.1825 GM-CH$

S = 0.734539    R-cuad. = 81.4%    R-cuad. (ajustado) = 79.1%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	18.8900	18.8900	35.01	0.000
Error	8	4.3164	0.5395		
Total	9	23.2063			

### **Análisis de regresión: GH-LI vs. GM-LI**

La ecuación de regresión es  
 $GH-LI = 2.525 + 0.07287 GM-LI$

S = 0.446986    R-cuad. = 68.4%    R-cuad. (ajustado) = 64.5%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	3.46056	3.46056	17.32	0.003
Error	8	1.59837	0.19980		
Total	9	5.05894			

### **Análisis de regresión: GH-PI vs. GM-PI**

La ecuación de regresión es  
 $GH-PI = 1.792 + 0.1137 GM-PI$

S = 0.642219    R-cuad. = 65.6%    R-cuad. (ajustado) = 61.3%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	6.29751	6.29751	15.27	0.004
Error	8	3.29956	0.41245		
Total	9	9.59707			





### **Análisis de regresión: NNP/NT - LI vs. GM-LI**

La ecuación de regresión es  
 $NNP/NT - LI = 3.791 + 0.1730 \text{ GM-LI}$

S = 0.717933    R-cuad. = 82.6%    R-cuad. (ajustado) = 80.4%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	19.5096	19.5096	37.85	0.000
Error	8	4.1234	0.5154		
Total	9	23.6331			

Predictor	Coef	Coef. de EE	T	P
Constante	5.703	1.093	5.22	0.001
GM-PI	0.15472	0.03893	3.97	0.004

### **Análisis de regresión: NNP/NT - PI vs. GM-PI**

La ecuación de regresión es  
 $NNP/NT - PI = 5.703 + 0.1547 \text{ GM-PI}$

S = 0.859463    R-cuad. = 66.4%    R-cuad. (ajustado) = 62.2%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	11.6654	11.6654	15.79	0.004
Error	8	5.9094	0.7387		
Total	9	17.5748			



### **Análisis de regresión: BVN - LI vs. GM-LI**

La ecuación de regresión es  
 $BVN - LI = 4.840 + 1.027 GM-LI$

S = 3.27350    R-cuad. = 88.9%    R-cuad. (ajustado) = 87.5%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	687.104	687.104	64.12	0.000
Error	8	85.727	10.716		
Total	9	772.831			

### **Análisis de regresión: BVN - PI vs. GM-PI**

La ecuación de regresión es  
 $BVN - PI = 9.739 + 0.9628 GM-PI$

S = 4.08735    R-cuad. = 77.2%    R-cuad. (ajustado) = 74.3%

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	451.712	451.712	27.04	0.001
Error	8	133.651	16.706		
Total	9	585.364			

## ANEXO 5

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO ENSAYO NITRÓGENO DE TRIMETILAMINA

#### ANOVA unidireccional: N-TMA vs. ZONAS

Fuente	GL	SC	MC	F	P
ZONAS	3	8.167	2.722	2.97	0.045
Error	36	32.979	0.916		
Total	39	41.146			

S = 0.9571    R-cuad. = 19.85%    R-cuad. (ajustado) = 13.17%

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	N	Media	Desv.Est.	Intervalo de Confianza (95%)
TMA - CH	10	3.5926	1.1672	(-----*-----)
TMA - LI	10	2.4995	0.8887	(-----*-----)
TMA - PA	10	2.6702	0.9931	(-----*-----)
TMA - PI	10	2.5125	0.7253	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+  
 2.40                    3.00                    3.60                    4.20

Desv.Est. agrupada = 0.9571

#### Análisis de regresión: TMA - PA vs. GM-PA

La ecuación de regresión es  
 TMA - PA = 0.4934 + 0.07972 GM-PA

S = 0.813492    R-cuad. = 40.4%    R-cuad. (ajustado) = 32.9%

#### Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	3.58209	3.58209	5.41	0.048
Error	8	5.29416	0.66177		
Total	9	8.87625			

#### Análisis de regresión: TMA - CH vs. GM-CH

La ecuación de regresión es  
 TMA - CH = 0.5705 + 0.1152 GM-CH

S = 0.769306    R-cuad. = 61.4%    R-cuad. (ajustado) = 56.6%

#### Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	7.5260	7.52604	12.72	0.007
Error	8	4.7347	0.59183		
Total	9	12.2607			

### **Análisis de regresión: TMA - LI vs. GM-LI**

La ecuación de regresión es

$$\text{TMA} - \text{LI} = 1.179 + 0.05044 \text{ GM-LI}$$

$$S = 0.825356 \quad R\text{-cuad.} = 23.3\% \quad R\text{-cuad. (ajustado)} = 13.7\%$$

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	1.65822	1.65822	2.43	0.157
Error	8	5.44970	0.68121		
Total	9	7.10792			

### **Análisis de regresión: TMA - PI vs. GM-PI**

La ecuación de regresión es

$$\text{TMA} - \text{PI} = 0.6327 + 0.06912 \text{ GM-PI}$$

$$S = 0.548388 \quad R\text{-cuad.} = 49.2\% \quad R\text{-cuad. (ajustado)} = 42.8\%$$

Análisis de varianza

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Regresión	1	2.32811	2.32811	7.74	0.024
Error	8	2.40584	0.30073		
Total	9	4.73395			