UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

ASPECTOS TECNOLÓGICOS DE LA MADURACIÓN DE ANCHOÍTA (*Engraulis anchoita*) SALADA. EFECTO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y OTRAS VARIABLES TECNOLÓGICAS

Tesis de Doctorado

MARINA CZERNER

Presentada ante la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata como requisito para la obtención del grado académico de DOCTOR EN INGENIERÍA

Codirector: Dra. Mabel C. Tomás **Director**: Ing. María I. Yeannes

Jurado de Tesis

Dra. Stella Alzamora Dr. Guillermo Hough

Fecha de defensa oral y pública: 30 de Marzo de 2011

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctor de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado en el Laboratorio de Preservación y Calidad de Alimentos (Facultad de Ingeniería, UNMdP) y en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA-UNLP-CONICET) bajo la dirección de la Ing. María Isabel Yeannes y codirección de la Dra. Mabel Cristina Tomás.

“Todo pasa y todo queda
pero lo nuestro es pasar,
pasar haciendo caminos,
caminos sobre la mar…

…caminante son tus huellas el camino y nada más;
caminante no hay camino, se hace camino al andar…”

Antonio Machado

A Sebastián, mi compañero incondicional… desde siempre

A mis hijos, Luca y Camila, que me llenan el alma todos los días

Agradecimientos

Durante estos años, han sido muchas las personas a las que he tenido a mi lado animándome, ayudándome y ofreciéndome su tiempo, apoyo, cariño, confianza y… paciencia. A todos ustedes, MUCHAS GRACIAS.

Quisiera agradecer especialmente:

A mi directora, la Ing. María Isabel Yeannes, quien me inició en el camino de la investigación y me ofreció la oportunidad de realizar el presente trabajo de Tesis. Gracias por la confianza, el apoyo y por brindarme todos sus conocimientos, pero por sobre todo por su calidez y cariño.

A mi codirectora, la Dra. Mabel Tomás, por abrirme las puertas del CIDCA, por su buena predisposición, siempre. Muy especialmente, por el apoyo brindado y las palabras de aliento para la finalización de esta Tesis.

A la empresa Pranas SA, quienes proveyeron gran parte de la materia prima utilizada en las distintas experiencias y me permitieron, además, utilizar sus instalaciones para el desarrollo de las mismas. Muy especialmente, a la Lic. Silvia Barañano por su invaluable colaboración, por tenerme en cuenta y guardar algunos cajones de anchoíta si el desembarque fue un domingo…

A las firmas Indupesa SA y Centauro SA, quienes también suministraron anchoíta fresca y madurada para efectuar los análisis.

A la Lic. Silvana Guccione, por su aporte en la determinación de la composición de ácidos grasos. A la empresa Omega Sur que gentilmente permitieron el uso del cromatógrafo gaseoso para las determinaciones de los perfiles de ácidos grasos.

A la Dra. Agueda Massa, por permitirme el acceso al equipo para determinación de nitrógeno automático -el cual fue una bendición- y por su ayuda en la puesta a punto de la técnica de extracción de grasas.

A la Dra. Elida Ramírez, por su asesoramiento en aspectos específicos de las bacterias halófilas.

Al Grupo de Investigación Ingeniería de Alimentos (GIIA) de la Facultad de Ingeniería de la UNMdP y a su directora, Dra. Sara Roura, por permitirme el uso del colorímetro.

Al Grupo de Investigación en Ingeniería Bioquímica (GIIB) de la Facultad de Ingeniería de la UNMdP y a su director, Dr. Froilán González, quienes gustosamente cedieron un espacio para el almacenamiento de las muestras durante la maduración.

A las autoridades del Departamento de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería de la UNMdP, que permanentemente apoyaron el desarrollo de este trabajo de Tesis.

A mis compañeras del Grupo de Investigación Preservación y Calidad de Alimentos (GIPCAL) de la Facultad de Ingeniería de la UNMdP, por su desinteresada colaboración en los paneles de evaluación sensorial. A Irene, por su valiosa colaboración en el análisis microbiológico. A todas, por las charlas, los mates, los momentos compartidos. Gracias por el aliento, por el cariño y por la amistad.

A mis amigos y compañeritos becarios, Alejandra, Silvina y Gerardo, quienes me entendieron mejor que nadie.

A Mirna, por darme ánimo, por sus consejos, por las charlas para cortar largas horas de computadora.

Finalmente, quisiera agradecer muy en especial a mi familia, por el apoyo incondicional y el cariño. Por el esfuerzo que han hecho, sin el cual no hubiera sido posible concretar el presente trabajo de Tesis.

A mis padres, por brindarme todo su amor, por el ejemplo, por haberme transmitido los valores que me han formado como persona.

A mis hermanos, por estar presentes para sus sobrinos cuando más lo necesité.

A mis suegros y cuñados, por todo el afecto y apoyo que me han brindado. Por hacerme sentir una hija más.

A Sebastián, mi esposo por saberme entender cuando ni yo misma me entiendo, por su apoyo y respeto por mi trabajo. Por la paciencia infinita, por el amor y la familia que formamos.

A mis hijos, Luca y Camila, que a pesar de ser tan pequeños me ayudaron más que nadie a finalizar este trabajo. Por darme las fuerzas con las caricias de esas manos chiquititas, por iluminar los días más oscuros con sus sonrisas…por existir…

A todos deseo agradecerles de corazón

Resumen

El proceso de salado-madurado es tradicionalmente aplicado a diferentes especies pelágicas con el objetivo de obtener un producto con características sensoriales típicas y diferentes a las del pescado fresco. Dentro de este tipo de productos se encuentra la anchoíta salada-madurada, elaborada en Europa a partir de la especie *Engraulis encrasicholus* y en Latinoamérica a partir de las especies *Engraulis anchoita* y en menor medida*, Engraulis ringens*.

La *Engraulis anchoita* es la especie más abundante y menos explotada del océano Atlántico Sudoccidental. En Argentina, el mayor porcentaje de las capturas es destinado a la elaboración de anchoíta salada-madurada, del cual cerca del 95% se exporta a países europeos como producto intermedio y el resto es elaborado como filetes de anchoíta en aceite para el mercado interno.

El proceso tradicional de elaboración de este producto consta de dos etapas principales, el presalado y la maduración. La primera, consiste en sumergir el pescado en salmuera saturada, logrando una rápida reducción de la actividad de agua y asegurando de esta manera su estabilidad microbiológica. Seguidamente, el proceso de maduración implica una serie de transformaciones fisicoquímicas y enzimáticas que llevan a la obtención del producto con las características sensoriales deseadas, requiriendo un periodo mínimo estimado de 6-8 meses para la anchoíta capturada en la época tradicional (primavera). No obstante, el tiempo necesario de maduración puede duplicarse o hasta triplicarse en función de la composición química de la materia prima utilizada. Ahora bien, el extenso proceso de maduración tiene asociado un importante capital inmovilizado a nivel industrial, por lo que cualquier modificación en el mismo tendiente a lograr una reducción en el tiempo de maduración así como una mejora en las características del producto obtenido adquiere relevancia.

En este contexto, en el presente trabajo de Tesis se propuso desarrollar el estudio de la influencia de una variable intrínseca (contenido de lípidos de la materia prima) y de distintas variables tecnológicas (nivel de prensa, temperatura y tipo de corte) sobre el proceso de salado-madurado de anchoíta y analizar el efecto de las mismas sobre las características del producto obtenido. A tal fin, se abordó la temática en forma integral, considerando tanto los aspectos fisicoquímicos como sensoriales y microbiológicos implicados.

En el **Capítulo I**, se presenta una introducción sobre el producto en estudio, realizando una descripción de la especie *E. anchoita* y su relevancia comercial para la región. Se describen también las distintas etapas del proceso de elaboración de anchoíta salada-madurada, desarrollando en mayor detalle las etapas correspondientes al salado y madurado. Además, se exponen los antecedentes relativos al estudio de las modificaciones fisicoquímicas y la incidencia de distintas variables sobre el proceso. Finalmente, se plantean los objetivos del presente trabajo de Tesis.

En el **Capítulo II**, se detallan las experiencias de salado por vía húmeda (presalado) y de madurado realizadas, así como la metodología de análisis fisicoquímico, instrumental, sensorial y microbiológico correspondiente a cada caso.

En el **Capítulo III**, se presentan los resultados obtenidos para las experiencias de salado por vía húmeda (presalado), considerando las variables: contenido de lípidos de la anchoíta fresca, tipo de corte (entero, descabezado y eviscerado y filetes) y temperatura. Se analizan los resultados experimentales correspondientes a los periodos dinámicos y de equilibrio en función de las variables estudiadas, evaluando la aplicabilidad de los modelos predictivos existentes en la descripción del proceso. Se propone a su vez un modelo matemático que contemple el efecto del contenido de lípidos de la materia prima sobre la cinética de salado.

En el **Capítulo IV**, se investiga la influencia de las variables introducidas al proceso (nivel de prensa, tipo de corte y temperatura) y del contenido de lípidos de la anchoíta fresca sobre los cambios fisicoquímicos ocurridos durante la maduración. A su vez, se estudia la incidencia de dichas variables sobre la evolución de las características sensoriales del producto, analizando su posible relación con índices fisicoquímicos y parámetros obtenidos a partir de la determinación instrumental del color y la textura. En virtud de los resultados obtenidos se propone un modelo que describe la evolución de los atributos sensoriales en función del tiempo. Se presentan también los resultados del análisis microbiológico, realizando la caracterización de los grupos bacterianos hallados y se determina su potencial contribución al proceso de maduración.

Finalmente, se exponen las **Conclusiones generales** obtenidas a partir de este trabajo de Tesis y en base a ellas, las **Perspectivas futuras**.

Índice

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL **1**

I.1 COMERCIO DE ANCHOÍTA SALADA-MADURADA EN LATINOAMÉRICA **4**

I.2 LA ESPECIE *Engraulis anchoita* **7**

I.2.1 Distribución geográfica y explotación del recurso 7

I.2.2 Característica biológicas 10

I.2.3 Estructura y composición química de la especie 10

I.2.3.1 Valor nutricional 11

I.2.3.2 Variaciones estacionales en la composición 12

I.3 PROCESO DE ELABORACIÓN DE ANCHOÍTA SALADA-MADURADA **15**

I.3.1 Diagrama de flujo 15

I.3.1.1 Captura 17

I.3.1.2 Manipuleo y acondicionamiento a bordo 17

I.3.1.3 Recepción de la materia prima 19

I.3.1.4 Presalado 19

I.3.1.5 Descabezado y eviscerado 20

I.3.1.6 Llenado de tambores 22

I.3.1.7 Maduración 24

I.3.1.8 Embarque del producto intermedio 25

I.3.1.9 Elaboración de filetes 26

I.4 CONSIDERACIONES SOBRE LA ETAPA DE SALADO **27**

I.4.1 Descripción termodinámica del sistema pescado-sal-salmuera 28

I.4.2 Variables que afectan la transferencia de masa durante el salado 30

I.4.3 Dinámica del proceso de salado de anchoíta y equilibrio 31

I.4.4 Modelos matemáticos para la descripción del proceso de salado 35

I.5 CONSIDERACIONES SOBRE LA ETAPA DE MADURACIÓN **38**

I.5.1 Cambios fisicoquímicos durante la maduración 38

I.5.2 Teorías de maduración 41

I.5.3 Características sensoriales de la anchoíta salada-madurada 42

I.5.4 Índices de maduración para anchoíta 44

I.5.5 Alteraciones e inocuidad del producto.....45

I.5.5.1 Microflora presente durante el salado-madurado..... 46

I.5.5.2 Formación de aminas biógenas en anchoíta salada-madurada..... 47

I.5.6 Variables que afectan al proceso de maduración de anchoíta.....48

OBJETIVOS.....**51**

CAPÍTULO II

***MATERIALES Y MÉTODOS*..... 53**

II.1 EXPERIENCIAS DE SALADO POR VÍA HÚMEDA.....**54**

II.1.1 Materia prima.....54

II.1.2 Preparación de la muestra y desarrollo experimental.....55

II.1.3 Análisis fisicoquímico.....57

II.1.3.1 Composición proximal del músculo de *E. anchoita*..... 57

II.1.3.2 Análisis efectuados durante el salado..... 58

II.1.4 Modelos matemáticos.....58

II.1.4.1 Modelo de Peleg..... 59

II.1.4.2 Modelo de Zugarramurdi y Lupín (Z&L)..... 60

II.1.5 Análisis Estadístico.....60

II.2 EXPERIENCIAS DE SALADO-MADURADO.....**62**

II.2.1 Materia prima.....62

II.2.2 Desarrollo experimental.....62

II.2.3 Análisis efectuados durante la maduración.....65

II.2.3.1 Composición proximal del músculo de *Engraulis anchoita*..... 65

II.2.3.2 Contenido de NaCl..... 65

II.2.3.3 pH..... 66

II.2.3.4 Actividad de agua..... 66

II.2.3.5 Determinación de índices de maduración..... 66

II.2.3.5.1 Nitrógeno Básico Volátil Total (NBV-T)..... 66

II.2.3.5.2 Nitrógeno Total/Nitrógeno no Proteico (NT/NNP)..... 67

II.2.3.6 Determinación de la composición de ácidos grasos..... 67

II.2.3.7 Determinación de sustancias reactivas al ácido 2–tiobarbitúrico..... 68

II.2.4 Calorimetría Diferencial de Barrido.....70

II.2.5 Evaluación sensorial.....71

II.2.5.1 Preparación de las muestras..... 71

II.2.5.2 Área de prueba 72

II.2.5.3 Panel de jueces..... 72

II.2.5.4 Ensayo 72

II.2.6 Medición instrumental del color superficial.....75

II.2.7 Medición instrumental de textura 76

II.2.8 Análisis microbiológico.....78

II.2.8.2 Recuentos microbianos..... 78

II.2.8.2.1 Metodología implementada en la Experiencia 1 79
II.2.8.2.2 Metodología implementada en la Experiencia 3 79

II.2.8.3 Aislamiento e identificación de cepas 80

II.2.8.3.1 Aislamiento y conservación de las cepas bacterianas..... 80
II.2.8.3.2 Caracterización de las cepas..... 81
II.2.8.3.2.1 Pruebas bioquímicas para la identificación..... 81
II.2.8.3.2.2 Presencia de exoenzimas microbianas 83

II.2.9 Análisis estadístico.....85

CAPÍTULO III

***ESTUDIO DE LA DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA DE ANCHOÍTA (E. anchoita) DURANTE LA ETAPA DE PRESALADO*..... 86**

III.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA 87

III.2 TRANSFERENCIA DE MASA DURANTE EL PRESALADO 89

III.3 ANÁLISIS DEL ESTADO DE EQUILIBRIO.....94

III.4 PARÁMETROS DE LOS MODELOS DE PELEG Y DE ZUGARRAMURDI Y LUPÍN 98

III.4.1 Capacidad predictiva de los modelos para los valores de equilibrio.....105

III.4.2 Efecto de la temperatura y del contenido de lípidos sobre las constantes de velocidad 107

CONCLUSIONES PARCIALES 111

CONCLUSIONES PARCIALES 111

DIFUSIÓN DE RESULTADOS 113

CAPÍTULO IV

PROCESO DE MADURACIÓN DE ANCHOÍTA (E. anchoita) SALADA. ASPECTOS FISICOQUÍMICOS, SENSORIALES Y MICROBIOLÓGICOS..... 114

IV.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA.....115

IV.2 MODIFICACIONES FISICOQUÍMICAS DURANTE LA MADURACIÓN 118

IV.2.1 Parámetros de Control de proceso 118

IV.2.2 Evolución del contenido de Nitrógeno Básico Volátil Total 123

IV.2.3 Modificaciones en la fracción lipídica durante el salado-madurado.....129

IV.2.3.1 Modificaciones en el perfil de ácidos grasos..... 129

IV.2.3.2 Seguimiento de la oxidación lipídica: Determinación del nº TBA 134

IV.2.4 Modificaciones en la fracción proteica 138

IV.2.4.1 Cambios en el contenido de proteínas 138

IV.2.4.2 Evolución de la relación NNP/NT 140

IV.2.4.3 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)..... 142

IV.3 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DURANTE LA MADURACIÓN DE ANCHOÍTA 148

IV.3.1 Efecto de las variables analizadas sobre la evolución de los atributos sensoriales 148

IV.3.1.1 Evolución de la Puntuación sensorial total..... 148

IV.3.1.2 Análisis de caracteres sensoriales desagregados..... 150

IV.3.1.2.1 Adherencia al espinazo 150
IV.3.1.2.2 Aroma..... 152
IV.3.1.2.3 Color..... 155
IV.3.1.2.4 Textura 157
IV.3.1.2.5 Sabor 159

IV.3.2 Efecto de las distintas variables sobre las características del producto obtenido.....161

IV.3.2.1 Efecto del nivel de prensa..... 161

IV.3.2.3 Efecto de la temperatura 162

IV.3.2.4 Efecto del tipo de corte 163

IV.3.3 Modelo sensorial de maduración 166

IV.3.4 Correlación entre Evaluación Sensorial e índices de maduración 168

IV.3.5 Determinación instrumental del color superficial 171

IV.3.5.1 Cambios en el color en la etapa de presalado 172

IV.3.5.2 Modificaciones en los valores *L, *a** y *b*** durante la maduración** 173

IV.3.6 Modificaciones en los parámetros de textura durante la maduración de anchoíta salada 178

IV.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO **180**

IV.4.1 Crecimiento de los grupos bacterianos presentes en función de la concentración salina 180

IV.4.1.1 Características de las colonias representativas 182

IV.4.2 Presencia de bacterias halófilas y *Micrococcus* y *Staphylococcus* durante el proceso de maduración de anchoíta salada 184

IV.4.3 Capacidad proteolítica, lipolítica y OTMA-reductasa de las colonias aisladas 186

IV.4.4 Capacidad histidina-descarboxilasa 188

IV.4.5 Identificación presuntiva de cepas bacterianas 188

IV.4.5.1 Investigación de *Halococcus morrhuae* 190

CONCLUSIONES PARCIALES **192**

DIFUSIÓN DE RESULTADOS **195**

CONCLUSIONES GENERALES ***197***

PERSPECTIVAS FUTURAS ***200***

BIBLIOGRAFÍA ***203***

Listado de abreviaturas

ΔE	Diferencia total de color según el sistema CIE Lab
β	Velocidad de calentamiento (DSC)
*a**	Parámetro a del sistema de determinación de color CIE Lab
A	parámetro energía absorbida del ensayo de corte (textura)
a_w	Actividad de agua
a_w^{anch}	Actividad de agua en la anchoíta
a_w^{salm}	Actividad de agua en la salmuera
AG	Ácidos grasos
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
ANOVA	Análisis de varianza
*b**	Parámetro b del sistema de determinación de color CIE Lab
bs	Base seca
BSC	Base seca corregida
CAA	Código Alimentario Argentino
D_e	Coeficiente de difusividad efectivo
DHA	Ácido docosahexaenoico (22:6 n-3)
DO	deshidratación osmótica
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
e	pendiente de la curva de fuerza en función del tiempo (textura)
E	Error de predicción
EPA	Ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3)
F	filetes
FID	Detector de ionización en llama
FMC	parámetro fuerza máxima de corte del ensayo de corte (textura)
HDM	Mecanismos hidrodinámicos
H&G	Descabezado y parcialmente eviscerado
k	Constante de velocidad específica del modelo de Zugarramurdi y Lupín
k_1	Constante de velocidad del modelo de Peleg
k_2	Constante de capacidad del modelo de Peleg
K_{eq}	Constante de equilibrio

L^*	Parámetro L del sistema de determinación de color CIE Lab
líp	lípidos
MDA	malondialdehído
MSA	Agar manitol salado
nº TBA	sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico
nº TBA_{455}	sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico, determinado a 455 nm
nº TBA_{532}	sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico, determinado a 532 nm
NBV-T	Nitrógeno básico volátil total
NNP	Nitrógeno no Proteico
NNP/NT	Relación Nitrógeno no Proteico/Nitrógeno total
NT	Nitrógeno total
OTMA	Óxido de trimetilamina
p	Nivel de significación
P	prensa
RMSE	Error cuadrado medio
SDS-Page	electroforesis en geles de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio
t	tiempo
t	Corte tradicional
T	temperatura
t^0	Tiempo 0
t^{eq}	Tiempo de equilibrio
$T_{máx}$	Temperatura de pico (DSC)
TBA	Ácido 2-tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TMA	trimetilamina
TPA	Análisis de perfil de textura
UFC	Unidades formadoras de colonias
X_i	Fracción másica del componente i
X_{ip}	Fracción másica del componente i predicha por el modelo
X_s	Fracción másica de NaCl
X_w	Fracción másica de agua
X_{sp}	Fracción másica de NaCl predicha por el modelo
X_{wp}	Fracción másica de agua predicha por el modelo

X_i^{eq}	Fracción másica del componente i en el equilibrio
X_s^{eq}	Fracción másica de NaCl en el equilibrio
X_w^{eq}	Fracción másica de agua en el equilibrio
Y_s^{anch}	concentración molar de NaCl de equilibrio, en la anchoíta
Y_s^{salm}	concentración molar de NaCl de equilibrio, en la salmuera
Z&L	Modelo de Zugarramurdi y Lupín

Capítulo I

Introducción general

El salado es un método de conservación aplicado al pescado desde tiempos antiguos, existiendo evidencias de su uso desde 3500 ó 4000 años a.C. En presencia de la sal (cloruro de sodio), la carne de algunos pescados grasos puede sufrir modificaciones químicas y fisicoquímicas, dando lugar al proceso denominado maduración o "*anchoado*" (Alm, 1965; Cheftel, 1965; Voskresensky, 1965; Bertullo, 1975; Steffánson y Guðmundsdóttir, 1995). Este proceso demanda un tiempo variable, el cual depende de la tecnología específica aplicada y de la especie en cuestión, resultando un producto de características sensoriales definidas y distintas a las del pescado fresco o salado. Los productos obtenidos mediante esta tecnología se ubican dentro de lo que se denominan preservas -debido a que no llevan tratamiento térmico- siendo el factor de conservación su actividad de agua (a_w) reducida (aproximadamente 0,75) y su alta concentración de sal (14 - 21 %), lo cual dificulta el desarrollo microbiano y garantiza su estabilidad comercial. Además de reducir la a_w, la sal posee una acción bacteriostática que estaría dada por la influencia del NaCl sobre los sistemas enzimáticos, el efecto tóxico del catión sodio sobre las células microbianas y por la reducción del número de microorganismos presentes debido a la plasmólisis, como consecuencia de la alta presión osmótica externa (Yeannes, 2006).

El salado-madurado de distintas especies pelágicas es una práctica común y tradicional en muchos países europeos. Por ejemplo, en los países del norte de Europa -como Escocia, Rusia, Noruega, Islandia y Alemania- se elabora el arenque (*Clupea harengus*) salado, el cual posee una consistencia tierna, sabor y aroma agradables y característicos (Voskresensky, 1965) (**Figura I.1**). Por otra parte, en los países Escandinavos se obtienen productos similares en base a las especies espadín (*Clupea sprattus*) y arenque (*Clupea harengus*), las cuales son sometidas a un proceso de maduración del pescado entero en barriles con una mezcla de sal, azúcar y diferentes especias (pimienta, coriandro, lúpulo, canela, jengibre y sándalo). El producto obtenido de esta forma posee una consistencia blanda y suave, un color rosado, sabor suave, despegándose fácilmente el espinazo del filete (Alm, 1965; Bertolotti y Manca, 1986). Por último, la anchoíta salada-madurada es elaborada tradicionalmente en los países del sur de Europa, tales como España, Portugal, Francia e Italia, siendo de los productos

mencionados el que posee mayor relevancia en el mercado internacional (Perú: Plan Estratégico Nacional Exportador 2003–2013, 2009). Ahora bien, existen referencias del comercio de "*amploias*" (anchoas) desde la Edad Media, época en la que el salado-madurado constituía la base de la economía de muchos pueblos mediterráneos (Escudero Domínguez, 2007). La especie tradicionalmente utilizada para la elaboración de este producto es la *Engraulis encrasicholus*, la cual se somete a un proceso de salazón y maduración que demanda entre 3 meses y 1 año. El producto obtenido posee características sensoriales típicas: textura firme y jugosa, color rosado y flavor intenso característico (ajamonado) (**Figura I.1**) (Triqui y Zounic, 1999; Besteiro y col., 2000a).

Arenque salado

Anchoíta salada-madurada

Figura I.1 Productos pesqueros madurados

En el último siglo, en virtud de la llegada de inmigrantes europeos, la práctica del salado-madurado de anchoíta se trasladó hacia Latinoamérica. En Argentina, la materia prima empleada en la elaboración de anchoíta salada-madurada es la especie *Engraulis anchoita*. El producto obtenido posee características sensoriales similares al elaborado con la *E. encrasicholus*: consistencia firme y resistente al tacto, color rosado intenso uniforme, sabor ajamonado y aroma característico (Filsinger y col., 1982). El Código Alimentario Argentino (Ley 18.284) define a la anchoíta salada como "el producto alimenticio

que ha permanecido no menos de cinco meses recubierto con sal y salmuera antes de ser librado al consumo". Asimismo, especifica que "el producto terminado al ser abierto debe presentar una coloración rosada intensa, homogénea, sin olores extraños, ni alteradas" y que "el contenido en cloruros como cloruro de sodio no será superior a 30 %".

En Latinoamérica, este producto es elaborado actualmente también por Perú y Chile a partir de la especie *Engraulis ringens*, conocida como anchoveta.

I.1 COMERCIO DE ANCHOÍTA SALADA-MADURADA EN LATINOAMÉRICA

Si bien *E. anchoita* es una especie que abunda en las costas de Brasil, Uruguay y Argentina (ver **Sección I.2.1**), sólo este último país procesa y elabora productos en base a esta especie para el consumo humano. En Uruguay, la especie se encuentra actualmente en un estado de muy baja explotación pesquera, destinándose fundamentalmente a la elaboración de harina de pescado (Madureira y col., 2009; Chiesa, 2009). En cuanto a Brasil, la anchoíta no es industrializada, si bien se están llevando adelante proyectos para implementar su procesamiento (Castello y Castello, 2003; Madureira y col., 2009).

En Argentina, la *Engraulis anchoita* salada-madurada comenzó a ser elaborada por inmigrantes italianos para el consumo familiar. Antes de la Primera Guerra Mundial, este producto ya era manufacturado a nivel industrial, constituyendo hasta la década del ´50 el rubro de la industria de conservación de pescado más explotado en Argentina. Posteriormente, las industrias conserveras y del congelado superaron a la salazón en la utilización de anchoíta fresca como materia prima. Las conservas elaboradas eran destinadas fundamentalmente al mercado interno. En la década del ´70 la pesca de *E. encrasicholus* en Europa entró en crisis por lo cual, la elaboración de anchoíta salada-madurada en Argentina cobró un nuevo auge, incrementándose el número de plantas procesadoras ante la posibilidad de la exportación. En ese momento los países productores, especialmente España y Portugal, comenzaron a importar anchoíta

salada-madurada y Argentina vio la posibilidad de expandir su mercado (Bertolotti y Manca, 1986; Madureira y col., 2009). Dentro de los productos elaborados actualmente a partir de *E.* anchoíta pueden mencionarse también los filetes marinados en vinagre (tipo “boquerones”), la anchoíta entera congelada y las sardinas argentinas en conserva. No obstante, la anchoíta salada-madurada es el principal producto elaborado en la actualidad a partir de esta especie, encontrándose disponible en el mercado en diversas presentaciones: anchoíta en salmuera (en barriles), filetes en aceite, filetes envasados al vacío. El mayor volumen producido es exportado, mientras que una pequeña cantidad es procesada localmente para abastecer el mercado interno. En los últimos años, la anchoíta se ubicó dentro de las diez especies pesqueras con mayor volumen de exportación superando las 13.000 t anuales, lo cual representó en el año 2008 un ingreso de divisas de 25 millones de dólares. El principal producto de exportación es la anchoíta salada-madurada en barriles, siendo el principal destino España seguido de Perú, Estados Unidos, Italia y Marruecos. Los productos a base de anchoíta listos para ser consumidos, principalmente filetes de anchoíta salada-madurada en aceite y marinados, representaron el 13% de las exportaciones de la especie con un valor de mercado muy alto (9513 y 4647 U$S/t, respectivamente) (Ver **Figura I.2** y **Tabla I.1**) (Madureira y col., 2009; SAGPYA, 2009).

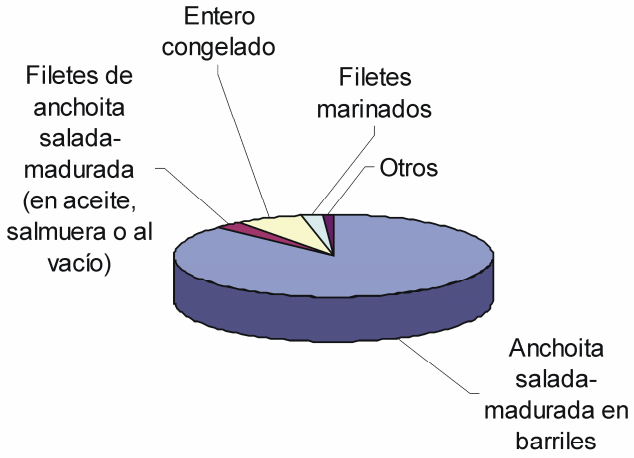

Figura I.2 Participación por producto en el volumen total de anchoíta exportado

Fuente: SAGPYA (2011)

Tabla I.1 Exportaciones argentinas de tres productos elaborados a partir de anchoíta

Año	Anchoíta salada-madurada en barriles			Filetes de anchoíta salada-madurada en aceite			Anchoíta entera congelada		
	t	U$S mil	US$/Kg	t	U$S mil	U$S/Kg	t	U$S mil	U$S/Kg
1992	6835	13563	1,98	0,8	3	3,71	n.d.	n.d.	---
1993	8709	14564	1,67	n.d.	n.d.	---	n.d.	n.d.	---
1994	8883	14740	1,66	0,9	3	3,05	n.d.	n.d.	---
1995	8507	16754	1,97	8,6	21	2,55	n.d.	n.d.	---
1996	8898	17385	1,95	10,1	23	2,34	n.d.	n.d.	---
1997	8096	15087	1,86	15,0	37	2,48	n.d.	n.d.	---
1998	11745	19586	1,67	30,9	328	10,66	n.d.	n.d.	---
1999	7797	11762	1,51	40,9	397	9,72	n.d.	n.d.	---
2000	6439	9277	1,44	72,8	780	10,73	n.d.	n.d.	---
2001	6837	14492	2,12	219	1901	8,68	665	401	0,60
2002	6261	7598	1,21	225	1542	6,83	852	449	0,53
2003	n.d.	n.d.	---	n.d.	n.d.	---	n.d.	n.d.	---
2004	17649	19054	1,08	462	2362	5,11	1131	648	0,57
2005	17572	21030	1,20	659	3707	5,62	1624	1109	0,68
2006	n.d.	n.d.	---	n.d.	n.d.	---	n.d.	n.d.	---
2007	11194	16358	1,46	---	1567	8,21	339	289	0,85
2008	11738	19744	1,68	267	2545	9,51	883	952	1,08

n.d.: no disponible
Fuente: SAGPYA (2011)

En Latinoamérica, Chile y Perú también son elaboradores de anchoíta salada-madurada, a partir de la especie *Engraulis ringens* (anchoveta). En estos países, el mayor volumen de captura es destinado a la elaboración de harina y aceite de pescado y un menor porcentaje es procesado para el consumo humano (Perú: Plan Estratégico Nacional Exportador 2003–2013, 2009). En el caso de Chile, se elaboraron anualmente, entre los años 2003 a 2006, un promedio 292000 t de harina de pescado a base de esta especie y 2980 t de producto salado-madurado, de los cuales se exportaron 357 t, por un valor de 1467 millones de dólares (Subsecretaría de Pesca, 2008a; 2008b; 2008c). En cuanto a Perú, la anchoveta es el recurso de mayores volúmenes de captura, con un promedio de 7 millones de toneladas anuales, de las cuales sólo un pequeño porcentaje es destinado a consumo humano directo (Gallo Seminario, 2004). Este país en el año 2006 exportó alrededor de 2000 t de anchoa salada-madurada, por un valor de 8000 millones US$ (Quiñónes, 2007).

I.2 LA ESPECIE *Engraulis anchoita*

I.2.1 Distribución geográfica y explotación del recurso

La *Engraulis anchoita* es la especie pelágica más abundante del Océano Atlántico Sudoccidental. Se distribuye desde el sur de Brasil (22º S) hasta el golfo de San Jorge, ubicado en aguas argentinas (48º S) (**Figura I.3**) (Castello y Castello, 2003; Madureira y col., 2009).

Figura I.3 Distribución geográfica de la especie *Engraulis anchoita*

Fuente: FAO (2011)

De acuerdo a estudios morfométricos, en el litoral argentino existirían dos poblaciones (efectivos) de anchoíta. La población denominada Patagónica, ubicada entre los 47 y 41º S y la Bonaerense, distribuida entre los 41º S y el sur de Brasil (Hansen y col., 2004a, 2004b; Madureira y col., 2009). Ambas poblaciones se encuentran muy próximas hacia finales de la primavera y principios del verano, cuando puede establecerse un límite aproximado hacia los 41º S. Por el contrario, durante el invierno los cardúmenes de adultos de ambos efectivos se hallan separados por una distancia mayor a 500 km. El grupo norteño cumple un ciclo migratorio anual bien determinado, encontrándose durante el

invierno, una fracción variable de este efectivo en aguas del sur de Brasil. En agosto-septiembre y en ocasiones algo antes, los primeros cardúmenes de adultos arriban a las aguas costeras y de la plataforma intermedia argentina provenientes del NE. Su presencia es masiva durante el pico de la estación reproductiva (octubre-noviembre), momento en el cual se producen los mayores volúmenes de captura (**Figura I.4**). Una vez producido el desove, los cardúmenes dejan las aguas costeras y son encontrados principalmente en la plataforma intermedia y exterior, donde se alimentan en forma intensiva (diciembre-mayo). Durante el final del otoño, las anchoítas se alejan aún más de las regiones costeras, alcanzando la parte externa de la plataforma y aguas sobre el talud continental, entre los 33 y 37º S, constituyendo su principal lugar de ocurrencia durante el invierno. Habitualmente, durante los meses de mayo y julio se registra un arribo secundario de cardúmenes de adultos al área pesquera de Mar del Plata (Hansen, 2000). Es importante tener en cuenta que existe una menor información disponible acerca de la población austral, la cual tendría una composición química diferente de la bonaerense.

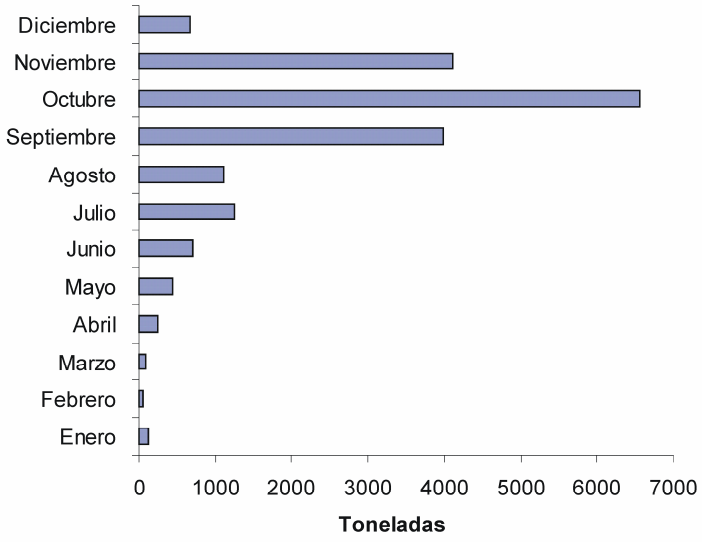

Figura I.4 Desembarques de *E. anchoita* por mes. Promedio años 1989-2003

Fuente: SAGPYA (2011)

En Argentina, la biomasa anual promedio de *E. anchoita* es de 2.000.000 t para el efectivo Bonaerense y de 1.180.000 t para el Patagónico (Madureira y col., 2009), con un Rendimiento Máximo Sostenible (RMS) de 120.000 y 100.000 t por año, respectivamente (Hansen y Garciarena, 2004a; 2004b). La captura anual promedio entre los años 1992 a 2008 fue de 23.000 t, con un máximo de 37.000 t en el año 2004 y un mínimo de 10.600 t en el año 1999 (SAGPYA, 2011). Esta captura estuvo compuesta por un 87 % de anchoíta bonaerense, mientras que el porcentaje restante se debe a la captura de anchoíta al sur de los 41º S (efectivo Patagónico) (Madureira y col., 2009). Esta información permitiría considerar que es posible expandir las pesquerías actuales sin entrar en sobrepesca, siendo la anchoíta un recurso subexplotado. Asimismo, la posibilidad de la explotación de la anchoíta del efectivo patagónico colaboraría en el desarrollo económico y social de la esa región.

Los desembarques de esta especie se centralizan en el puerto de Mar del Plata, donde es procesado el 93 % del total capturado, seguido por pequeños porcentajes en los puertos de San Antonio Oeste, Quequén, Puerto Madryn y Necochea (**Figura I.5**) (SAGPYA, 2011).

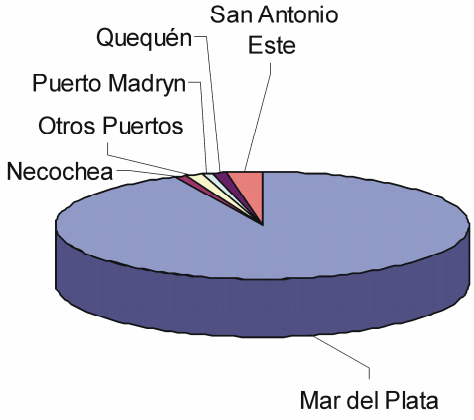

Figura I.5 Desembarques anuales de *E. anchoita* por puerto (años 1992 a 2008)

Fuente: SAGPYA (2011)

I.2.2 Característica biológicas

La especie *Engraulis anchoita* pertenece a la familia *Engraulidae* y es conocida comúnmente con el nombre anchoíta.

Sus caracteres externos distintivos son: cuerpo alargado y fusiforme, cubierto de escamas cicloideas que se desprenden con suma facilidad. La cabeza es grande y el hocico puntiagudo, el cual se proyecta hacia adelante formando sobre la boca una ligera prominencia. Posee una sola aleta dorsal ubicada aproximadamente en la mitad del cuerpo, aletas pectorales cortas, ventrales en posición abdominal, anal de base mayor que la dorsal y forma similar y la aleta caudal bifurcada. Con respecto a la coloración, el dorso de la cabeza y el lomo son oscuros; y los flancos color azul violáceo verdoso, con brillo iridiscente. El resto del cuerpo es plateado y las aletas son transparentes. La talla más frecuente de las capturas comerciales se encuentras dentro del rango de 14 a 19 cm, si bien el máximo observado es de 21 cm (Cousseau y Perrota, 1999) (**Figura I.6**).

Figura I.6 Anchoíta (*Engraulis anchoita*)

I.2.3 Estructura y composición química de la especie

La anchoíta pertenece al grupo de las especies pelágicas grasas, las cuales presentan como características generales un alto contenido de lípidos con una amplia variación estacional, hábitos migratorios y una alta proporción de

músculo oscuro, asociado al metabolismo energético aeróbico. El músculo oscuro posee una alta concentración de mioglobina y de lípidos comparado con el músculo claro y está localizado principalmente en las regiones asociadas a una gran actividad, como lo es la zona cercana a la cola y aletas formando una capa subcutánea en la zona de la línea lateral (**Figura I.7**) (Burt y Hardy, 1992).

Figura I.7 Distribución del músculo oscuro en especies pelágicas

Fuente: Burt y Hardy (1992)

El agua es el principal constituyente químico y varía entre 65 a 79 % (Ver **Tabla I.3**). El contenido de lípidos también es variable, siendo ampliamente aceptado que la suma del contenido de agua y el de lípidos de las especies grasas es de alrededor del 80 % (Love, 1970). Las reservas de lípidos, los cuales son utilizados por las especies pelágicas como fuente de energía, se sitúan tanto en el músculo oscuro como en las células de depósito ubicadas en el músculo blanco, formando una capa debajo de la piel. Las proteínas conforman el siguiente grupo mayoritario y no presentan diferencias apreciables respecto de las especies magras en su proporción de actina, miosina, tropomiosona y el patrón de aminoácidos (Burt y Hardy, 1992).

I.2.3.1 Valor nutricional

El pescado es reconocido como una valiosa fuente de proteínas de alta calidad, ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas. Además, las especies pelágicas grasas constituyen un alimento con alta proporción de ácidos grasos n-

3 de cadena larga, especialmente los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (Pozo y col., 1992), reconocidos por su efecto cardioprotector. Asimismo, los ácidos grasos n-3 juegan un papel muy importante en la prevención y modulación de otras patologías, tales como desórdenes psiquiátricos, trastornos autoinmunes, funciones cerebrales, depresión, diversos cánceres, osteoporosis, artritis reumatoidea, asma y alergias (Sidhu, 2003; Carrero y col., 2005; MacLean y col., 2006; Domingo, 2007).

En Occidente, el consumo de ácidos grasos de la serie n-3 se encuentra por debajo de los valores recomendados por distintas organizaciones de la salud, siendo necesario un aumento en el consumo de pescado para poder alcanzar las cantidades mínimas de EPA y DHA (Carrero y col., 2005). En ese sentido, estudios realizados sobre la especie *E. anchoita* indican que la misma constituye una fuente muy importante de los ácidos grasos n-3, previamente mencionados (Moreno y Aizpún de Moreno, 1979; Massa y col., 2007).

I.2.3.2 Variaciones estacionales en la composición

La composición del pescado varía considerablemente entre las distintas especies así como también entre individuos de la misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año, entre otros factores. La fracción lipídica es la que registra los mayores cambios a lo largo del año, siendo éstos más pronunciados en las especies grasas (Huss, 1999). Dentro de esta clasificación se encuentra la especie *E. anchoita*, la cual presenta una amplia variación estacional en su composición asociada al ciclo reproductivo. Durante el ciclo anual, esta especie realiza migraciones periódicas entre las regiones costera y de alta mar (Ver **Sección 1.2.1**). La distribución de los ejemplares se observa en tres hábitats diferentes: el de reproducción, ubicado en las aguas costeras del sector bonaerense (principalmente durante los meses de julio a octubre), el de nutrición intensa, en la región de altamar (verano) y el invernal, en la región norte de la plataforma argentina. Tal como fue mencionado anteriormente, las capturas comerciales se concentran en los meses de primavera -los cuales corresponden al período reproductivo- donde tiene lugar la maduración de las gónadas y el posterior desove. En ese momento, los ejemplares capturados presentan las

mayores tallas medias (Bertolotti y Manca, 1986).

En la **Tabla I.2** se presenta información relacionada con la composición de la anchoíta a lo largo del ciclo reproductivo existente en la bibliografía. Puede observarse que tanto el contenido de lípidos como el de agua experimentan variaciones considerables, mientras que el contenido de cenizas y de proteínas se mantienen prácticamente constantes. Durante el otoño y al comienzo del invierno el porcentaje de lípidos en el músculo es elevado, debido a que los organismos han tenido previamente una alimentación intensiva. Durante el invierno y al proseguir la maduración sexual, los lípidos totales comienzan a disminuir llegando a un mínimo en la época del desove masivo (fines de septiembre y comienzos de octubre), registrándose en forma simultánea un incremento del contenido de agua. La disminución en el contenido de lípidos se relaciona con su función biológica de reserva de energía, necesaria para el desarrollo de las células sexuales, así como para cubrir el aporte energético durante el desove (Aizpún de Moreno y col., 1979).

Las diferencias en la composición registrada para un mismo mes al cabo de distintos años se deben posiblemente a condiciones ambientales y de alimentación menos favorables, lo cual se traduce en un menor contenido de lípidos (Aizpún de Moreno y col., 1979; Jensen y col., 2007).

En Argentina, la industria elabora el mayor porcentaje de anchoíta salada-madurada durante el mes de octubre, época en la cual esta especie presenta el menor contenido graso. Este hecho se contrapone con el criterio generalizado en los países europeos, en los cuales se prefiere la utilización de una materia prima con un mayor contenido de lípidos debido a que se obtiene un producto madurado de mejor calidad. Este es el caso de las anchoas escandinavas (*Clupea sprattus* y *Clupea harengus*) y de la anchoíta europea (*E. encrasicholus*) salada-madurada, las cuales son elaborados con materia prima capturada durante la época en que presenta el mayor contenido graso (Alm, 1965; Cheftel, 1965). Este aspecto es de gran interés, ya que se considera que el contenido de grasa intramuscular del pescado podría tener influencia sobre el contenido de sustancias volátiles, responsables del “bouquet” en el producto madurado (Filsinger y col., 1978). Por otra parte, Filsinger y Yeannes (1992 y 1994) han determinado que el tiempo de

maduración requerido para anchoíta del mes de mayo se duplica respecto del necesario para anchoíta de primavera. En consecuencia, resulta de sumo interés caracterizar y determinar su comportamiento durante el salado-madurado efectuado con materia prima de diferente composición química.

Tabla I.2 Composición química proximal de la anchoíta capturada en distintas épocas del año

Mes	Proteínas	Lípidos	Cenizas	Agua	Referencia
Mayo	19,10	13,60	1,50	65,10	Chiodi (1970)
	19,24	9,43	2,05	69,45	Yeannes y Casales (1995)
Junio	20,03	6,35	1,55	73,96	Aizpún de Moreno y col. (1979)
	19,00	6,79	3,16	71,05	Yeannes y Casales (1995)
Julio	19,41	5,47	1,53	72,78	Chiodi (1970)
	19,40	7,80	1,53	73,90	Aizpún de Moreno y col. (1979)
	17,80	4,13	1,45	77,26	Ponce de León (1987)
Agosto	19,15	7,05	1,55	73,90	Aizpún de Moreno y col. (1979)
Septiembre	19,22	5,71	1,79	74,05	Aizpún de Moreno y col. (1979)
	18,59	3,93	1,73	75,75	Yeannes y Casales (1995)
	17,95	4,25	1,26	78,01	Cabrer y col. (2002)
Octubre	19,78	4,96	1,57	73,73	Aizpún de Moreno y col. (1979)
	16,38	3,55	3,08	76,99	Del Valle y col. (1984)
Noviembre	19,25	6,46	1,53	73,62	Aizpún de Moreno y col. (1979)
	15,83	1,68	1,18	79,56	Ponce de León (1987)
	17,29	10,04	2,76	72,34	Massa y col. (2007)
	18,30	7,05	3,04	73,94	Massa y col. (2007)
Diciembre	18,35	9,83	2,20	71,03	Aizpún de Moreno y col. (1979)
	19,99	2,97	1,66	74,35	Chiodi (1962)

I.3 PROCESO DE ELABORACIÓN DE ANCHOÍTA SALADA-MADURADA

En Argentina, la elaboración de anchoíta salada-madurada se realiza en la mayoría de las industrias de forma artesanal, utilizando un mínimo de equipamiento. El proceso de salado-madurado puede ser dividido en dos etapas principales: 1) **Etapa de salado**, la cual corresponde a la difusión de la sal dentro del músculo y la eliminación del agua, finalizando al alcanzar el equilibrio; y 2) **Etapa de maduración**, donde se produce una transformación físico-química y enzimática que lleva a la obtención del producto con las características sensoriales deseadas (Filsinger y col., 1978). Los cambios que tienen lugar en cada una de estas etapas serán descriptos en forma detallada en las **Secciones I.4 y I.5.**

I.3.1 Diagrama de flujo

El proceso convencional de elaboración de anchoíta salada-madurada en la industria marplatense incluye la secuencia de operaciones detallada en la **Figura I.8**. Cabe mencionar que en la práctica, cada productor introduce modificaciones al proceso de acuerdo a su experiencia personal.

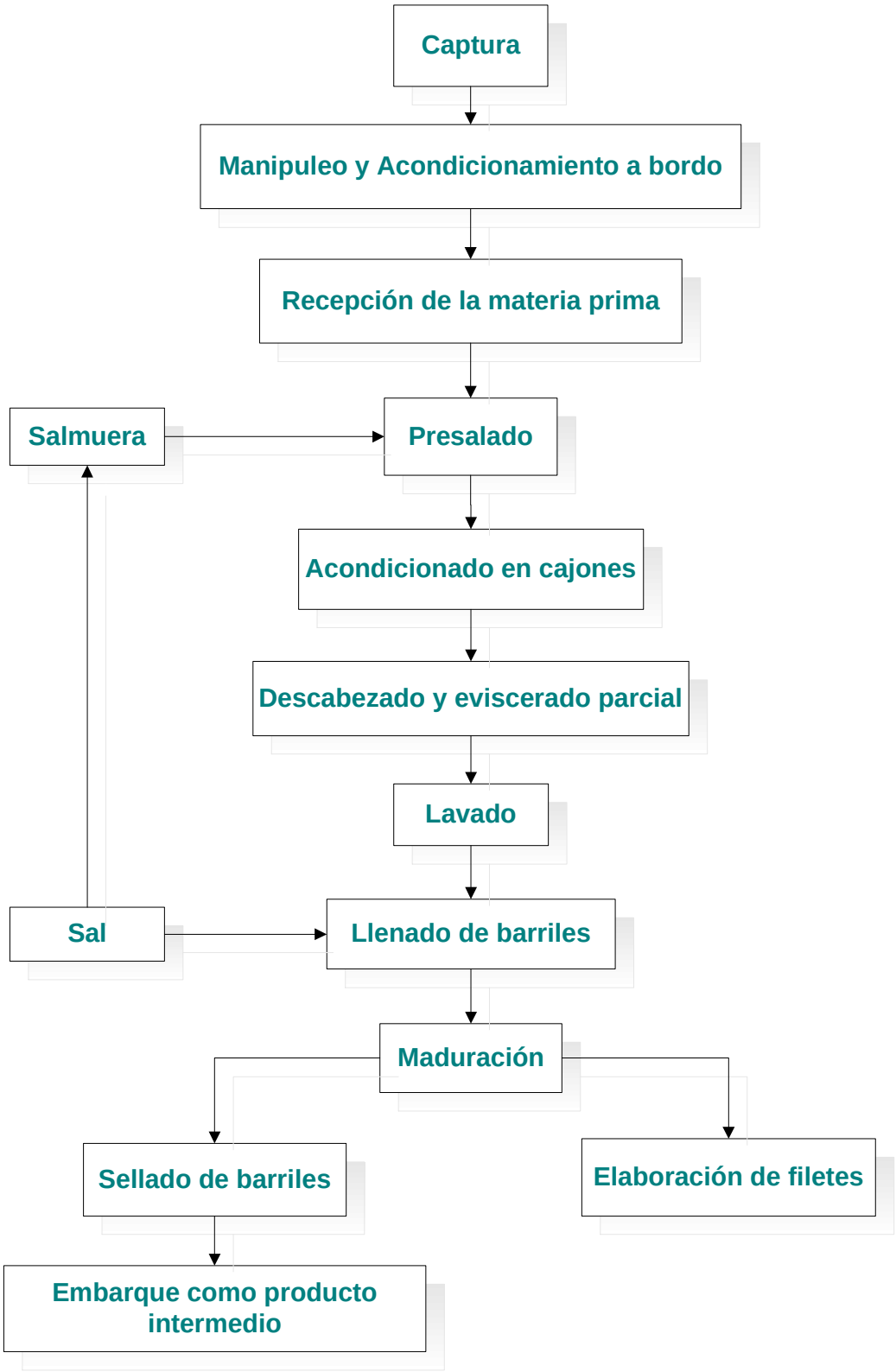

Figura I.8 Diagrama de flujo para la elaboración de anchoíta salada-madurada

I.3.1.1 Captura

Tradicionalmente la flota dedicada a la pesca de esta especie está constituida por embarcaciones pesqueras pequeñas, con asiento en los puertos de Mar del Plata y Quequén. Las mismas realizan salidas diarias y utilizan para la captura la red denominada “lampara”. Actualmente, la anchoíta también es capturada por barcos de media altura con red de arrastre de media agua en las regiones bonaerense y norpatagónica (**Figura I.9**) (Cousseau y Perrota, 1999).

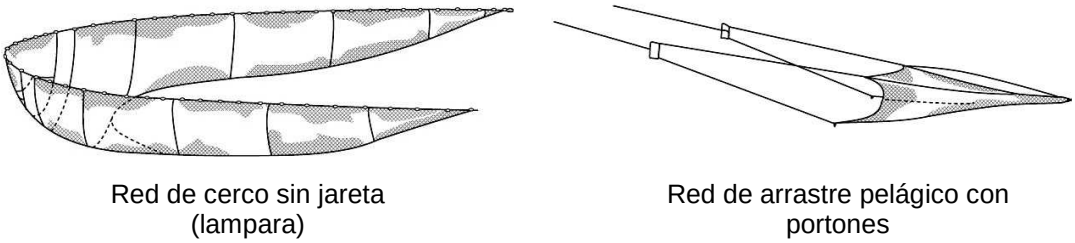

Figura I.9 Artes de pesca utilizados en la captura de anchoíta

I.3.1.2 Manipuleo y acondicionamiento a bordo

El manipuleo del pescado luego de la captura es un factor determinante de su calidad como materia prima y consecuentemente, de la calidad del producto final. La calidad del pescado fresco se encuentra también determinada por las condiciones biológicas (intrínsecas), tales como tamaño, contenido de grasa y características de la piel, así como por la manipulación en tierra previo al procesamiento (Zugarramurdi y col., 2004). En general, el deterioro inicial se debe a la manipulación inadecuada y a las temperaturas abusivas, lo que promueve tanto la actividad microbiana como la enzimática endógena (Pedrosa-Menabrito y Regenstein, 1990).

La anchoíta, al igual que otros pequeños pelágicos grasos, es

particularmente susceptible al deterioro debido a la contribución de varios factores. En primer lugar, la piel de estas especies es generalmente muy delgada, lo cual puede contribuir al aumento de la velocidad de su deterioro ya que permite que las enzimas y bacterias provenientes del exterior penetren más rápidamente. Sumado a ello, poseen una mayor relación área superficial/volumen en comparación con especies de mayor tamaño. Por otra parte, la anchoíta no es eviscerada inmediatamente después de la captura debido al gran número de peces pequeños capturados al mismo tiempo y además, debido a que el eviscerado implica exponer al aire tanto el área abdominal como las zonas de corte, haciéndolas más susceptibles a la oxidación y decoloración. La presencia de las vísceras contribuye al deterioro debido a su alta carga de bacterias y al contenido de enzimas digestivas muy activas, las que pueden provocar la autólisis *post mortem* ocasionando el estallido ventral ("*belly burst*"). Adicionalmente, la manipulación inadecuada puede ocasionar daño físico, facilitando el acceso de las bacterias y enzimas del deterioro, las cuales se encuentran sobre la piel (Burt y Hardy, 1992; Huss, 1999).

Existen distintas alternativas para el almacenamiento de la anchoíta a bordo. Las embarcaciones costeras tradicionalmente almacenan el pescado a granel y a temperatura ambiente hasta llegar a puerto, lo que puede reducir su calidad como materia prima debido al daño físico ocasionado por el aplastamiento y las elevadas temperaturas a las que puede estar sometido. En este caso, la anchoíta arriba a puerto saliendo de la etapa de *rigor mortis*, lo que disminuye la posibilidad de la invasión microbiana. Actualmente, se utilizan también otros sistemas de acondicionamiento del pescado a bordo que permitirían -en algunos casos- mejorar su calidad como materia prima. El método que ha brindado mejores resultados para el acondicionamiento de pequeños pelágicos, incluyendo la *E. anchoita,* consiste en almacenar el pescado en contenedores con agua de mar refrigerada (Castañón y Barral, 1990). Sin embargo, este método aún no ha sido incorporado en los buques fresqueros de Argentina, donde actualmente la anchoíta es acondicionada en cajones con hielo en escamas, manteniéndola en cámara a 0º C (Yeannes, 2007).

En virtud de ello, la calidad de la materia prima incide no sólo en la calidad

del producto final, sino también en los costos de producción. Se ha demostrado que el rendimiento de la materia prima en saladeros disminuye entre 10 a 15 % si se demora el enfriamiento del pescado a bordo, luego de su captura en barcos fresqueros de media altura. Asimismo, el empleo de materia prima de buena calidad redunda en un aumento en la productividad y en la reducción de los costos de producción (Zugarramurdi y col., 2004).

I.3.1.3 Recepción de la materia prima

El pescado en general arriba al saladero en cajones de 40 kg conservado en hielo. Una vez en la planta, la anchoíta es lavada y descamada en forma mecánica y procesada inmediatamente debido a su gran labilidad (**Figura I.10**).

Figura I.10 Lavadora y descamadora de anchoíta

I.3.1.4 Presalado

En esta etapa el pescado entero es colocado en recipientes de plástico con una solución de NaCl (salmuera) saturada, en una relación 1:1, agregando sal en exceso (**Figura I.11**). El período de inmersión es variable y depende de la organización de la producción de cada saladero, pudiendo variar entre 24 horas

(mínimo) hasta 10 a 12 días (máximo). En esta etapa, la actividad de agua (a_w) del pescado se reduce a un valor aproximado de 0,82 asegurando la estabilidad microbiológica del producto, además de producirse el desangrado. A su vez, de acuerdo a los productores se logra una mejora en la textura del pescado, lo que facilita la etapa del descabezado posterior (Bertolotti y Manca, 1986). Asimismo, el presalado actúa como regulador de flujo de materia prima para los procesos siguientes.

Figura I.11 Etapa de presalado. Bachas con anchoíta en salmuera

I.3.1.5 Descabezado y eviscerado

Esta operación se realiza en todos los saladeros en forma manual. A fin de facilitar la manipulación, el pescado es rebozado con sal entrefina. El procedimiento consiste en aplicar fuerzas paralelas sobre el cuerpo y la cabeza, manteniéndose fija la unión superior entre ambas partes. En la operación normal, ambas fuerzas son provistas por las manos y el punto de apoyo se logra mediante la uña del dedo pulgar de la mano derecha. Cuando ya se ha logrado el desgarramiento parcial de la carne y parte de las vísceras, se somete la cabeza a un leve movimiento de rotación. Finalmente, se separa la cabeza del cuerpo (Lupín, 1979) (Ver **Figura I.12**). El eviscerado realizado en estas condiciones es

parcial, ya que parte del saco pilórico queda en el pescado.

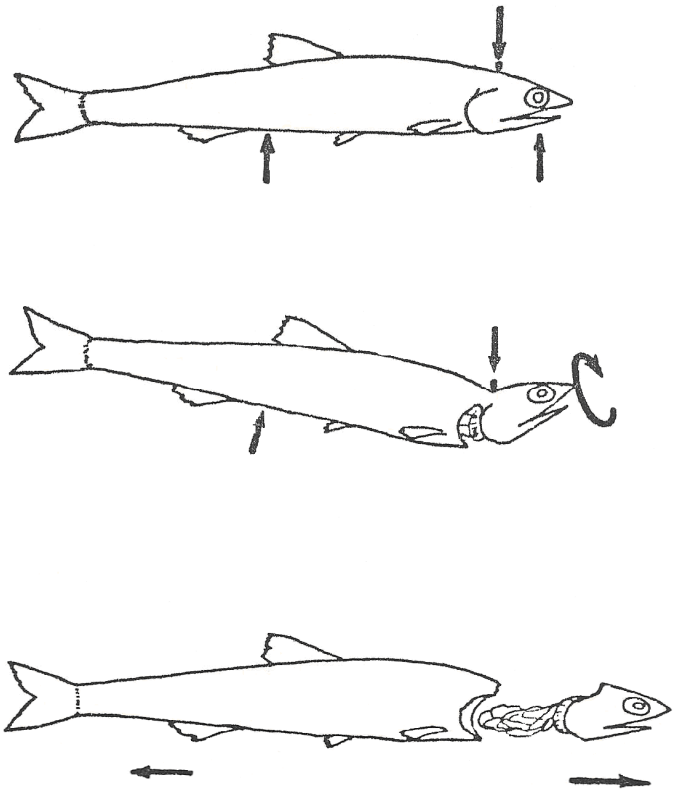

Figura I.12 Secuencia en el corte de la anchoíta

Fuente: Lupín (1979)

En esta etapa se realiza también la clasificación de la anchoíta, la cual es colocada en diferentes recipientes de acuerdo a la cantidad de piezas por kg de pescado (**Figura I.13** y **Tabla I.3**). El precio del producto madurado en el mercado guarda relación con el tamaño de los ejemplares. El tamaño E se destina generalmente a pasta de anchoíta.

Figura I.13 Anchoíta descabezada y parcialmente eviscerada clasificada por tamaño en recipientes de distinto color

Tabla I.3 Clasificación de la anchoíta por tamaño a nivel comercial

Tamaño ó calibre	
B	33 a 35 piezas/kg
C	38 a 42 piezas/kg
D	47 a 50 piezas/kg
E	60 a 65 piezas/kg

I.3.1.6 Llenado de tambores

Una vez que la anchoíta ha sido descabezada y parcialmente eviscerada es acomodada en los tambores para su maduración. El pescado es colocado en su interior formando capas, cuyo espesor corresponde a la cantidad de ejemplares que puede abarcar el puño de la operaria, modalidad que se conoce como: acomodado en “puños”. Los ejemplares son preparados en ese “puño”, con la cola hacia un lado, a fin de introducirlos en el barril ordenada y prolijamente con la zona descabezada hacia la pared externa del barril, formando una corona

(**Figura I.14**). Luego de completar una capa de anchoíta, se coloca una capa de sal entrefina y así, sucesivamente. En general, se colocan "cuellos" (Ver **Figura I.15**) los cuales se completan con pescado, de forma tal que al perder agua los ejemplares debido al prensado, la capa superior dentro del tambor queda al nivel de la superficie del mismo. Los tambores tienen una capacidad de 200/240 kg. En ocasiones y de acuerdo al pedido de los clientes, se utiliza el salado "*vera carne*" que consiste en acomodar el pescado en latas de 10 kg, con un mínimo de sal, siguiendo el procedimiento descripto anteriormente (**Figura I.14**).

Figura I.14 Anchoítas acomodadas en "corona" dentro del tambor y anchoítas "*vera carne*"

Una vez concluido el llenado del tambor, se coloca una tapa de madera y sobre ella bloques de hormigón de ≈ 25 kg a modo de prensa (**Figura I.15**). Inicialmente se colocan una mayor cantidad de bloques, a fin de conseguir una rápida expulsión de agua del pescado y la eliminación de parte de la grasa, contribuyendo además a desalojar el aire ocluido. Una vez que el nivel de pescado desciende por efecto de la pérdida de agua hasta completar el tambor, se disminuye la prensa a un valor de aproximadamente 30 g_f/cm^2, el cual se mantiene a lo largo de la maduración. Cabe aclarar que los valores de prensa pueden variar de acuerdo a la experiencia del productor, en función de la calidad de la materia prima y de las condiciones ambientales.

Así, el pescado queda cubierto por la salmuera formada por la sal y el agua que pierde, la cual es renovada periódicamente.

Figura I.15 Tambores de anchoíta salada-madurada con “cuellos”

I.3.1.7 Maduración

Durante la maduración se produce una transformación fisicoquímica y enzimática que lleva a la obtención de un producto con las características sensoriales deseadas. Este proceso es relativamente lento y requiere un tiempo estimado de 6 a 8 meses para la anchoíta capturada en la época tradicional (primavera), pudiéndose duplicar y hasta triplicar el mismo, para la anchoíta de otoño y de invierno (Filsinger y Yeannes, 1992 y 1994). El Código Alimentario Argentino establece un periodo mínimo de maduración de 5 meses.

Con respecto a la sala de maduración, no existe homogeneidad en el diseño de los saladeros. Así, pueden encontrarse plantas que llevan a cabo la maduración en ambientes climatizados con control automático de la temperatura, otras que logran mantener la temperatura aproximadamente constante mediante sistemas de aislamiento térmico edilicio y también aquéllas que no poseen un control específico de esta variable dependiendo de las condiciones ambientales (**Figura I.16**).

Figura I.16 Tambores y latas de anchoíta "*vera carne"* en la sala de maduración de un saladero

I.3.1.8 Embarque del producto intermedio

El mayor porcentaje del volumen exportado está asociado a la anchoíta salada-madurada en tambores. Para ello, los tambores son sellados y transportados en contenedores hacia los países de destino (**Figura I.17**). Durante el traslado continúa la maduración del producto.

Figura I.17 Tambores de anchoíta salada-madurada sellados para su exportación como producto intermedio

I.3.1.9 Elaboración de filetes

Una vez que se ha completado el proceso de maduración, las anchoítas son retiradas de los tambores y acondicionadas para su presentación en filetes. En primer lugar se les corta la cola, las aletas y la panza con tijera y seguidamente, se someten a un proceso de lavado en tres etapas con salmuera a diferentes temperaturas. De esta forma se logra remover el exceso de NaCl y quitar parte de la piel. Posteriormente, los ejemplares se acomodan en paños y se centrifugan para eliminar el líquido proveniente de los lavados (**Figura I.18**). Los filetes son separados en forma manual, “emprolijados” y acomodados dentro de frascos de vidrio a los que se les agrega aceite de girasol u oliva como líquido de cobertura. Este producto es destinado principalmente al mercado interno. Otra forma de presentación son los filetes de anchoíta envasados al vacío, los cuales son exportados a países que reprocesan el pescado tales como España, Portugal y Francia, o bien a países consumidores, como Estados Unidos, Méjico y Brasil (**Figura I.19**) (Madureira y col., 2009).

Figura I.18 Centrífuga y anchoíta luego de ser centrifugada, lista para ser fileteada

Figura I.19 Distintas presentaciones de anchoíta salada-madurada listas para su consumo

I.4 CONSIDERACIONES SOBRE LA ETAPA DE SALADO

Existen distintos métodos utilizados para el salado de pescado: 1) salado por vía húmeda, el cual consiste en sumergir el pescado en salmuera saturada; 2) salado por vía seca, en el que se apilan capas de pescado y sal alternadas, permitiendo el drenaje del líquido exudado y 3) salado mixto o piclado, en el cual también se arman pilas colocando capas de pescado y sal alternadas, pero dentro de un recipiente, de forma tal que el pescado quede inmerso en la salmuera formada por el líquido exudado y la sal sólida. Durante el proceso de elaboración de la anchoíta salada-madurada se encuentran involucrados dos de los métodos mencionados: 1) **salado por vía húmeda**: en la operación denominada presalado, el pescado es inmerso en una solución de salmuera saturada y 2) **salado mixto**: en los tambores, al comienzo de la maduración.

El salado puede describirse como un proceso de Deshidratación Osmótica (DO) en el cual la fuerza impulsora para la remoción de agua está dada por la diferencia en la presión osmótica dentro del músculo y en la salmuera circundante. Esta definición puede aplicarse tanto al salado por vía húmeda como al salado mixto. Durante la DO, la fase líquida del pescado se encuentra separada de la solución osmótica (salmuera) por las membranas celulares y el equilibrio se

establece cuando se igualan los potenciales químicos a ambos lados de la membrana. Esto depende principalmente de la reducción de la actividad de agua dentro de las membranas celulares del pescado. Dado que la estructura celular del músculo de pescado no es una membrana semipermeable perfecta, durante la DO se produce un flujo simultáneo de agua y de solutos.

I.4.1 Descripción termodinámica del sistema pescado-sal-salmuera

A fin de poder comprender los cambios producidos en el pescado durante el salado, es necesario definir el sistema en estudio y determinar los componentes transportados, fases del sistema, fuerzas impulsoras implicadas así como los mecanismos de transferencia de masa asociados.

Componentes transportados: en este caso los principales componentes transportados son agua, sal y proteínas. La pérdida de proteínas se ve favorecida por la solubilización en presencia de sal (Barat y col., 2003).

Fases del sistema: en forma simplificada es posible considerar que el músculo del pescado está compuesto por una fase sólida, constituida por la matriz proteica y una fase líquida en la cual el agua es el solvente, encontrándose en solución el NaCl y las proteínas disueltas. En el caso del salado húmedo, la salmuera conforma la otra fase del sistema, mientras que en el salado mixto (piclado) sumado a ella se encuentran los cristales de sal formando otra fase (Barat y col., 2003).

Fuerzas impulsoras y mecanismos de transferencia de masa: en primer lugar la transferencia de masa está dada por los gradientes de actividad, los cuales promueven en el músculo el transporte de agua, sal y proteínas solubles (mediante difusión u ósmosis-mecanismos fickeanos). Estos gradientes también se encuentran en la solución salina formada durante el salado mixto, ya que los cristales de sal actúan como fuente de Na^+ y Cl^- modificando el perfil de concentración de estos iones. Asimismo, durante el salado húmedo puede generarse un gradiente de concentración debido a la dilución de la salmuera en la

interfase, a causa del agua expulsada del músculo (Barat y col., 2003).

Otro tipo de fuerzas impulsoras involucradas en el proceso de salado se encuentran relacionadas con los gradientes de presión, los cuales promueven el transporte de solución (agua + solutos) por mecanismos hidrodinámicos (HDM) (mecanismos no fickeanos). Estos gradientes se manifiestan dentro el tejido en los espacios intercelulares al aplicar fuerzas externas (prensa) y también por capilaridad, debido a la generación de volumen por la interacción sal-proteínas (*"swelling"*). También existen gradientes de presión entre la fase formada por los cristales de sal y la salmuera, tanto por capilaridad -debido a la porosidad de la capa de sal- como por diferencias de presión externas. Como resultado de los gradientes de presión existentes, se producen flujos de solución desde el músculo hacia la salmuera y viceversa. El mencionado en primer término se produce únicamente en el salado mixto, en el cual intervienen dos factores: a) las diferencias de presión entre el músculo sometido a la presión -debida a su propio peso y/o a fuerzas externas- y los poros formados por los cristales de sal y b) las fuerzas capilares existentes a causa de la existencia de una capa de cristales de sal, las cuales tienden a remover la salmuera formada en la interfase hacia el seno de la solución externa. A su vez, existe un gradiente de presión que promueve el transporte de solución desde la salmuera hacia el músculo, el que se presenta tanto en el salado por vía mixta como por vía húmeda y depende de la concentración salina del músculo. El mismo se debe al efecto del anión Cl^- sobre la matriz proteica, la cual tiende a hincharse y ganar solución externa (*"swelling"*) (Barat y col., 2003).

Ahora bien, no todas las fuerzas impulsoras son de igual magnitud, por lo que su prevalencia varía a lo largo del proceso. En el caso del salado húmedo de anchoíta, inicialmente las diferencias de concentración entre el músculo del pescado y la salmuera son máximas, por lo cual las fuerzas impulsoras que controlan el proceso se deben generalmente a los gradientes de actividad. A medida que avanza el salado, los gradientes de actividad disminuyen y adquieren importancia los gradientes de presión. En cambio, el salado mixto ocurre dentro del tambor, el cual se encuentra sometido a una prensa determinada, por lo que los gradientes de presión podrían adquirir una mayor relevancia.

I.4.2 Variables que afectan la transferencia de masa durante el salado

En la bibliografía pueden encontrarse numerosos estudios acerca de las variables que afectan la transferencia de masa durante el salado de distintas especies pesqueras. Un factor determinante de este proceso es el método de salado (Zugarramurdi y Lupín, 1976, 1977 y 1980; Barat y col., 2003; Andrés y col., 2005). Por otra parte, la temperatura y concentración de la salmuera son posiblemente las variables tecnológicas más estudiadas y poseen una relación directa con la velocidad de transferencia de masa. Es decir, tanto el aumento en la temperatura como en la concentración de la salmuera aceleran la pérdida de agua y la ganancia de sal (Corzo y Bracho, 2004 y 2007; Bellagha y col., 2007; Gallart-Jornet y col., 2007a; Boudhrioua y col., 2009; Nguyen y col., 2010).

Por otra parte, debe considerarse el efecto de la presión ejercida sobre el sistema durante el salado, ya sea sobre-presión o la aplicación de pulsos de vacío, debido a la existencia de mecanismos hidrodinámicos (Filsinger, 1987; Barat y col., 2003; Corzo y col., 2007). Otra variable tecnológica estudiada es el nivel de agitación de la solución, que en el caso de trabajar con soluciones binarias de NaCl y agua, la misma no afectaría la transferencia de masa ya que la capa de salmuera diluida formada en la interfase es removida por convección natural. En cambio, si se emplean soluciones ternarias de azúcares, sal y agua, la convección natural no resulta suficiente para remover la capa límite y la transferencia de masa en la interfase constituye un factor limitante del proceso (Collignan y col., 2001). A su vez, el proceso de salado es afectado por variables intrínsecas del músculo, tales como el contenido de lípidos (Collignan y col., 2001; Gallart-Jornet y col., 2007b) y el estado de *rigor mortis* (Wang y col., 2000; Lauritzsen y col., 2004). Por último, la congelación del pescado previo al salado también posee influencia sobre este proceso, así como también la presencia de piel (Birkeland y col., 2005).

I.4.3 Dinámica del proceso de salado de anchoíta y equilibrio

El proceso de salado se caracteriza por un periodo dinámico y un periodo de equilibrio. Zugarramurdi y Lupín (1976 y 1977) determinaron los perfiles de concentración durante el salado de anchoíta y la dinámica del proceso tanto por vía húmeda (durante el presalado, en la salmuera) como por vía mixta (durante la maduración, en el tambor). Para la obtención de los perfiles de concentración, estos autores trabajaron con pescado descabezado y parcialmente eviscerado, descartando las fracciones donde se superponen la penetración de sal, según ambos ejes (**Figura I.20**).

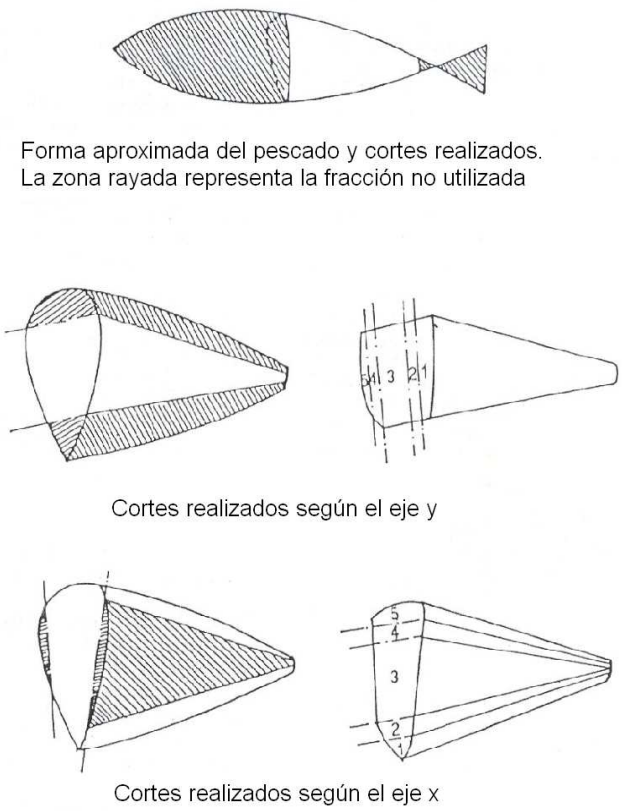

Figura I.20 Forma aproximada del pescado y cortes realizados para la determinación del perfil salino

Fuente: Zugarramurdi y Lupín (1976)

Los perfiles salinos obtenidos (**Figura I.21**) muestran el efecto de las zonas de escamas laterales, las cuales retardan la penetración de sal. Por lo tanto, el descamado que se realiza en los saladeros durante la recepción de la materia prima acelera el proceso.

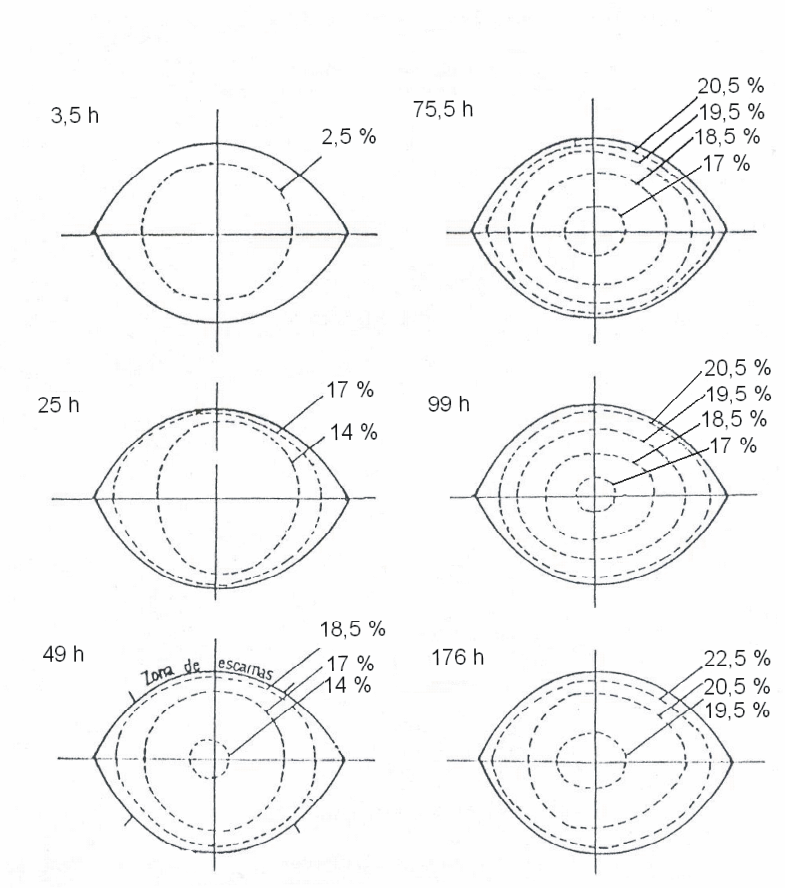

Figura I.21 Corte transversal aproximado mostrando la variación de los perfiles salinos en anchoíta en función del tiempo

Fuente: Zugarramurdi y Lupín (1976)

La velocidad de penetración de sal al comenzar el proceso es mayor en el salado por vía húmeda, comparado con el salado por vía mixta. Este retardo observado en el tratamiento por vía mixta, se debe a la demora ocasionada por el tiempo que transcurre hasta la formación de una salmuera circundante a partir del

agua que pierde el pescado (Zugarramurdi y Lupín, 1977). Las diferencias en la velocidad de penetración de sal son claramente visibles en la **Figura I.22**, donde también puede visualizarse que los valores de equilibrio alcanzados mediante el salado húmedo correspondiente a la etapa de presalado, son menores a los obtenidos mediante el salado mixto, el cual tiene lugar dentro del tambor. Esta diferencia está dada, en parte, por los distintos cortes utilizados en estas dos etapas (entero, durante el salado húmedo; descabezado y parcialmente eviscerado, durante el salado mixto). Zugarramurdi y Lupín (1976 y 1980) determinaron que durante el salado mixto, en el pescado H&G se alcanza una concentración salina igual a la de la salmuera circundante (constante de equilibrio cercana a 1) mientras que en el salado por vía húmeda, al utilizarse el pescado entero, la constante de equilibrio resulta aproximadamente igual a 0,6. Los autores atribuyeron este hecho a la contribución de las proteínas solubles -que no pueden difundir a través de la piel- al equilibrio interno, disminuyendo de esta forma la concentración salina en el equilibrio final. A su vez, debe considerarse que una vez colocado el pescado junto con la sal dentro del tambor, el mismo es sometido a una dada presión. Por lo tanto, en este caso, la contribución de los gradientes de presión a la transferencia de masa adquiere una importante relevancia, promoviendo la salida de “solución intramuscular” (agua más solutos) hacia el exterior mediante mecanismos HDM (Barat y col., 2003). Así, durante la elaboración de anchoíta salada-madurada se establecen dos equilibrios salinos: el primero, durante la etapa de presalado mientras que el segundo se alcanza en el tambor.

Como puede observarse en la **Figura I.22**, existe un tiempo de corte dado por la intersección de las curvas de penetración de sal para los procesos de salado por vía húmeda y por vía mixta. En el caso que se utilice anchoíta con escamas, el tiempo de corte es de 13 h, mientras que al quitar las escamas el mismo se reduce a 11,5 h. Puede calcularse a su vez, un tiempo de procesamiento óptimo para el cual la velocidad de penetración de sal por vía húmeda es igual a la del proceso por vía mixta. Este tiempo indica cuándo debería realizarse el cambio desde la salmuera hacia el tambor, permitiendo alcanzar con la mayor velocidad posible el tenor salino por encima del cual se logra la estabilidad microbiológica (≈ 10 % NaCl). El tiempo de procesamiento

óptimo es de 6,3 h cuando se procesa anchoíta con escamas y de 5,1 h cuando se ha descamado (Zugarramurdi y Lupín, 1976). Teniendo en cuenta esta información, podría reducirse significativamente el tiempo de procesamiento. No obstante, en la práctica industrial resulta dificultoso procesar el pescado en tan corto tiempo, dado el gran volumen de materia prima recibida en un momento dado. Por tal motivo, la etapa de presalado actúa como regulador de flujo y el periodo durante el cual el pescado queda sumergido en la salmuera, se extiende desde 24 h hasta varios días.

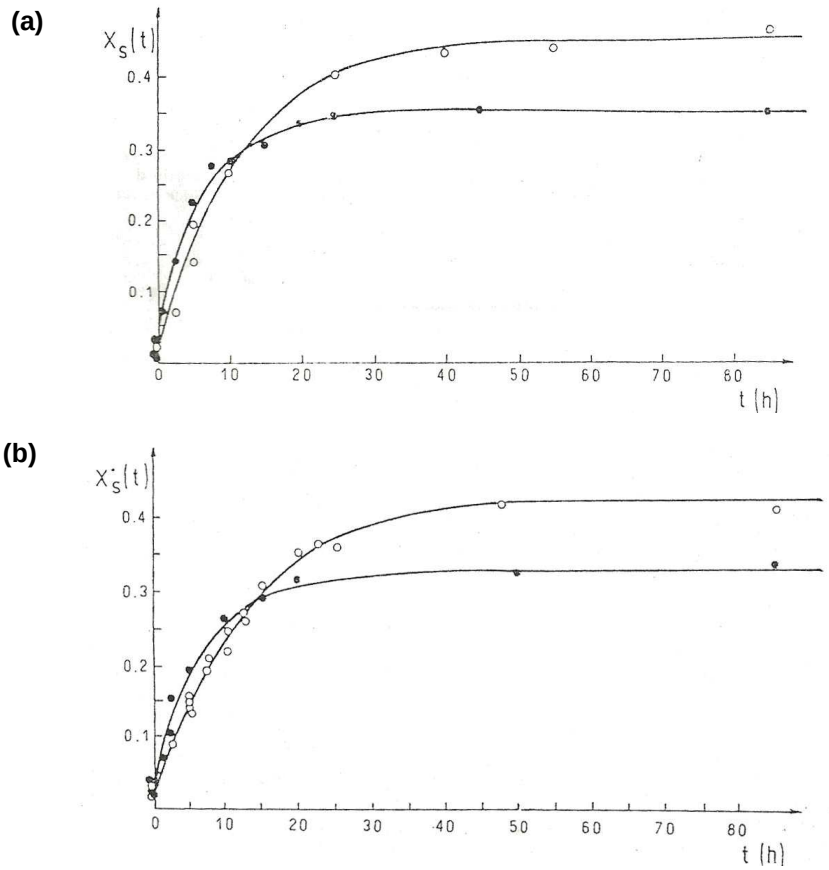

Figura I.22 Variación en el contenido de sal en función del tiempo de salado. • salado por vía húmeda; ○ salado por vía mixta. (a) proceso con escamas, (b) proceso sin escamas

I.4.4 Modelos matemáticos para la descripción del proceso de salado

En la práctica es necesario conocer los efectos de las distintas variables, tanto intrínsecas como operativas, a fin de poder predecir los tiempos de salado necesarios y la composición del producto luego del proceso. Para ello, los modelos predictivos resultan de gran valor.

En la literatura pueden encontrarse distintos abordajes en el estudio y el modelado de la deshidratación osmótica (DO) durante el salado. Así, se han aplicado para la descripción de este proceso modelos fenomenológicos basados en la Ley de difusión de Fick, la cual representa el mecanismo difusional y modelos empíricos o semiempíricos. En general, cuando se quiere utilizar un modelo fenomenológico se emplea el modelo de Crank, el cual consiste en un grupo de soluciones de la Ley de Fick en estado estacionario, para diferentes geometrías, condiciones de contorno y condiciones iniciales (Crank, 1975). Este modelo ha sido ampliamente empleado en la descripción de la DO de diversos productos cárnicos y pesqueros (Wang y col., 2000; Telis y col., 2003; Gou y col., 2003; Graiver y col., 2006; Corzo y Bracho, 2007, entre otros). Mediante el modelo de Crank es posible estimar la difusividad efectiva (D_e) del agua y de los solutos, para lo cual se deben simular los experimentos con las condiciones de contorno asumidas y resolver las ecuaciones ya sea analítica o numéricamente.

En la práctica, el modelo de Crank tiene algunas limitaciones en su aplicación, dadas por los siguientes supuestos: 1) se asume un cuerpo semiinfinito, por lo tanto la transferencia de masa es unidireccional, 2) se asume que el agente osmótico es un medio infinito, por lo cual se requiere una relación solución/alimento muy grande, 3) aunque tiene en cuenta la forma y las dimensiones, sólo existen soluciones analíticas para láminas planas, cilindros, cubos y esferas, por lo tanto se requieren técnicas numéricas para el modelado de alimentos irregulares, 4) el punto de equilibrio debe determinarse en forma experimental, 5) se asume que la transferencia de masa se da sólo por mecanismos difusivos o fickeanos, 6) los sólidos ganados y los solutos perdidos no tiene influencia sobre D_e (Coeficiente de Difusividad constante), 7) se desprecian los cambios de volumen debidos a la transferencia de masa

(*"swelling"*, encogimiento) y 8) la resistencia externa a la transferencia de masa es despreciable frente a la resistencia interna (Ochoa Martínez y Ayala Aponte, 2005).

Ahora bien, en el momento de planificar una experiencia es posible establecer los parámetros operativos en los valores deseados a fin de obtener las condiciones de contorno asumidas por el modelo. Sin embargo, durante el salado las características y propiedades físicas del músculo tales como volumen, densidad, porosidad, D_e, etc. se ven modificadas, con lo cual no se cumplen todas las hipótesis asumidas por el modelo. Por otra parte, durante el salado se presentan mecanismos de transferencia de masa no fickeanos (mecanismos HDM) debidos a los gradientes de presión (Ver **Sección I.4.1**). En tal sentido, pueden encontrarse numerosos estudios en los cuales se agrega un término independiente al modelo de Crank a fin de corregir los valores de D_e obtenidos, considerando la existencia de los mecanismos mencionados (Barat y col., 2004; Gallart-Jornet y col., 2007a y 2007b; Nguyen y col., 2010, entre otros). En virtud de las consideraciones realizadas, es posible suponer que los valores de D_e obtenidos explican al mismo tiempo tanto la variación de las propiedades físicas del músculo como la influencia de las características de la disolución y de las variables del proceso. Por este motivo, D_e se convierte en un parámetro cinético fuertemente dependiente de las condiciones experimentales (Ochoa Martínez y Ayala Aponte, 2005). En la **Tabla I.4** se presentan los valores de difusividad efectiva en distintas especies pesqueras, donde puede observarse que los coeficientes de D_e obtenidos para agua varían en cuatro órdenes de magnitud, mientras que para sal la variación es de un orden de magnitud.

Así, la alta complejidad del sistema en estudio compromete en muchos casos la precisión predictiva de los modelos matemáticos utilizados en la descripción de la DO. Por tal motivo, en numerosos estudios la información experimental es interpretada bajo esquemas empíricos o semiempíricos, los cuales son matemáticamente más simples que los modelos fenomenológicos previamente mencionados. Debe considerarse que estos modelos son válidos sólo bajo condiciones de trabajo similares a las cuales fueron obtenidos y en ciertos casos, no permiten la extrapolación fuera del rango experimental. En la

literatura pueden encontrarse diversos modelos empíricos aplicados a la DO de alimentos (Azuara y col., 1992; Ochoa Martínez y Ayala Aponte, 2005; Sopade y col., 2007; Schmidt y col., 2009). Entre los utilizados para predecir la cinética de DO en pescado se encuentra el modelo propuesto por Zugarramurdi y Lupín (1980), el cual ha sido aplicado en *yellowtail* (Berhimpon y col., 1990) y láminas de sardina brasilera (*Sardinella aurita*) bajo diferentes condiciones de procesamiento (Corzo y Bracho, 2005 y 2006a; Bellagha y col., 2007), obteniéndose muy buenos resultados. Por otra parte, el modelo de Peleg (1988) ha sido utilizado en la descripción del proceso de DO de diversos alimentos, tales como garbanzos (Turhan y col., 2002), papas (Khin y col., 2006), pelones (Khoyi y Hesari, 2007) y más relacionados con la temática del presente trabajo de Tesis en cuanto al tipo de matriz, láminas de sardina brasilera (*Sardinella aurita*) (Corzo y Bracho, 2006b) y pechuga de pollo (Schmidt y col., 2009).

Tabla I.4 Coeficientes de difusividad efectiva para agua y sal en distintas especies pesqueras

$D_{e,w}$ (m²/s)	$D_{e,s}$ (m²/s)	Especie	T (ºC)	Concentración salmuera (g/100 g)	Referencia
	$1,1 \times 10^{-10}$ a $1,5 \times 10^{-10}$	Salmón de mar (*Salmo salar*)	10	nd	Wang y col. (2000)
$2,1 \times 10^{-12}$ a $3,0 \times 10^{-12}$		Sardina (*Sardinella aurita*)	30-35	15-27	Corzo y Bracho (2007)
	$2,0 \times 10^{-9}$	Salmón de mar (*Salmo salar*)	4	Salado seco	Gallart-Jornet y col. (2007a)
	$0,5 \times 10^{-9}$ a $0,9 \times 10^{-9}$	Salmón de mar (*Salmo salar*)	4	4-25	Gallart-Jornet y col. (2007a)
	$5,2 \times 10^{-10}$ a $5,8 \times 10^{-10}$ $1,5 \times 10^{-10}$ a $1,8 \times 10^{-10}$	Salmón de mar (*Salmo salar*) Bacalao (*Gadus morrhua*)	4	15-25	Gallart-Jornet y col. (2007b)
	$1,3 \times 10^{-10}$	Róbalo (*Dicentrachus labrax*)	4	Salado mixto	Fuentes y col. (2008)
$9,8 \times 10^{-10}$ a $1,2 \times 10^{-8}$	$2,5 \times 10^{-9}$ a $4,5 \times 10^{-9}$	Sardina (*Sardinella aurita*)	5-20	Salado seco 15-26,5	Boudhrioua y col. (2009)
	$4,0 \times 10^{-10}$ a $5,4 \times 10^{-10}$	Bacalao (*Gadus morrhua*)	2	6-24	Nguyen y col. (2010)

I.5 CONSIDERACIONES SOBRE LA ETAPA DE MADURACIÓN

I.5.1 Cambios fisicoquímicos durante la maduración

La maduración constituye la etapa del proceso durante la cual la anchoíta adquiere las características sensoriales típicas del producto salado-madurado. En esta etapa se produce una compleja secuencia de transformaciones fisicoquímicas, las cuales dependen de diversos parámetros de proceso así como de las características biológicas del pescado. En la **Figura I.23** se presenta un esquema de los cambios que experimenta el músculo del pescado durante un proceso de salado-madurado, involucrando modificaciones tanto en la fracción proteica como en la fracción grasa (Campello, 1985). Este proceso presenta ciertas analogías con el madurado de jamones en cuanto al tipo de reacciones involucradas, el cual ha sido extensamente estudiado (Martín y col., 1998 y 1999; Gandemer, 2002; Andrés y col., 2004; Toldrá, 2006; Larrea y col., 2006 y 2007; Mora y col., 2011). En jamones, la proteólisis y la lipólisis constituyen los principales mecanismos mediante los cuales se produce el desarrollo del flavor del producto. El mencionado en primer término contribuye también al desarrollo de la textura, mientras que la lipólisis se encuentra más relacionada con la calidad sensorial final, especialmente con el aroma (Gandemer, 2002; Toldrá, 2006).

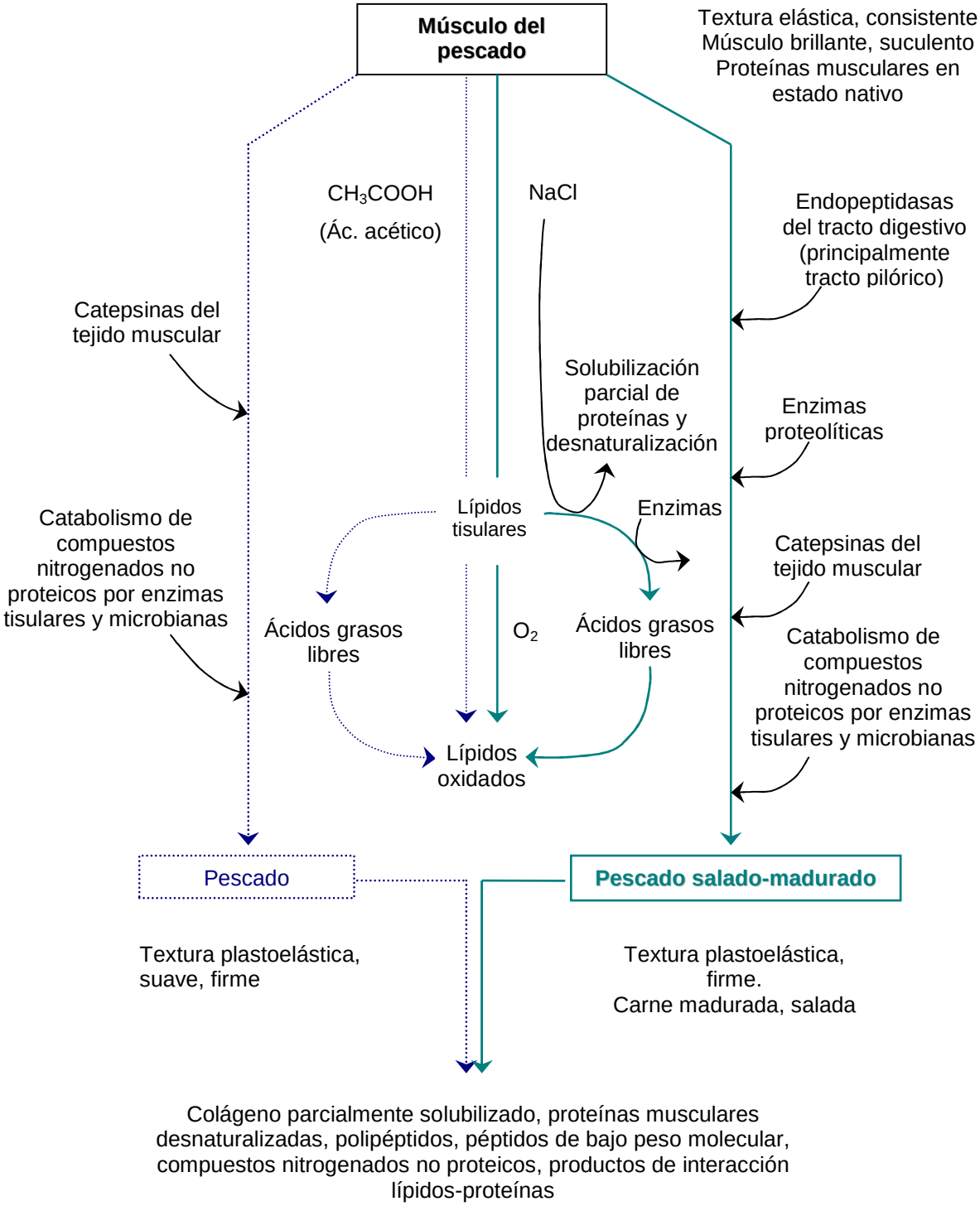

Figura I.23 Principales cambios fisicoquímicos en el pescado durante el proceso de salado-madurado y de marinado

Fuente: Campello (1985)

Existen estudios acerca de algunos de los cambios fisicoquímicos que tienen lugar durante la maduración de *E. anchoita*. En cuanto a las modificaciones en la fracción proteica, se ha determinado una pérdida en el contenido de proteínas y un incremento en el contenido de Nitrógeno no proteico (NNP) (Boeri y col., 1975; Filsinger y col., 1978). Por otra parte, las condiciones a las cuales se encuentra sometido el pescado en los tambores son altamente prooxidantes (alta concentración de NaCl, baja a_w, presencia de sangre, enzimas endógenas y bacterianas) y teniendo en cuenta el elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en la materia prima (Massa y col., 2007), es esperable la manifestación de fenómenos oxidativos (Labuza, 1980; Samson y Stodolnik, 2001; Aubourg y Ugliano, 2002; Guillén y Ruiz, 2004; Félix y col., 2007; Fu y col., 2009). En relación a ello, se ha observado un incremento en el índice de ésteres (Filsinger y col., 1982) y en el de ácidos grasos libres (Roldán y col., 1985), lo cual estaría indicando la ocurrencia de lipólisis.

Otro aspecto relacionado con la maduración que ha sido investigado localmente, es la formación de Nitrógeno Básico Volátil Total (NBV-T) durante el proceso (Filsinger y col., 1984). La determinación de NBV-T es utilizada a nivel internacional para evaluar la frescura de productos frescos y congelados, ya que se considera representativa del grado de alteración de los productos del mar (Huidobro y Tejada, 1990; Huss, 1999, Pons Sánchez-Cascado, 2005). Con el término general de nitrógeno básico volátil total (N-BVT) se incluye la medición de trimetilamina (N-TMA) (producida por el deterioro bacteriano), dimetilamina (producida por enzimas autolíticas durante el almacenamiento en congelación), amoníaco (producido por desaminación de aminoácidos y catabolitos de nucleótidos) y otros compuestos nitrogenados básicos volátiles asociados al deterioro de los productos pesqueros (Huss, 1999). En pescado fresco, excluyendo los escualos, el valor de NBV-T establecido como límite máximo tolerable es de 30 mg/100 g, por encima del cual se considera que el pescado no es apto para el consumo humano (Pons Sánchez-Cascado, 2005). Ahora bien, Filsinger y col. (1984) determinaron un aumento en el NBV-T durante el proceso de salado-madurado de anchoíta, el cual se originaría durante el mencionado proceso, presentando una buena correlación con la puntuación sensorial del producto. Asimismo, se ha observado un comportamiento similar de este valor

durante la maduración de *Engraulis encrasicholus* (Hernández-Herrero y col., 1999a; Pons Sánchez-Cascado y col., 2005).

En la literatura, existe una mayor información disponible en cuanto a los cambios fisicoquímicos de la *E. encrasicholus* salada-madurada. En relación a esta especie se han estudiado los cambios en la fracción proteica, mediante la determinación de Nitrógeno total y Nitrógeno no proteico, contenido de aminoácidos libres y análisis electroforético. Al igual que en *E. anchoita*, se ha observado un aumento en el NNP y también en el contenido de aminoácidos libres (Durand, 1981; Pérez-Villareal y Pozo, 1992; Hernández-Herrero y col., 1999a y 1999b, Besteiro y col., 2000b). Asimismo, el análisis mediante electroforesis en geles de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) ha mostrado una importante degradación hidrolítica de las proteínas musculares, resultando especialmente afectada la cadena pesada de miosina (Hernández-Herrero y col., 2000). Por otra parte, Hernández-Herrero y col. (1999a) han detectado durante la maduración un aumento en el número de TBA y el índice de peróxidos, ambos parámetros relacionados con el desarrollo de la oxidación lipídica. Cabe mencionar que, si bien los resultados obtenidos tanto en *E. anchoita* como en *E. encrasicholus* indicarían que el proceso de maduración implica una modificación en la fracción grasa, hasta el momento no se encuentra disponible en bibliografía información específica sobre los cambios en la composición de ácidos grasos de la misma.

I.5.2 Teorías de maduración

En general, se encuentra ampliamente aceptado que la maduración de las especies pelágicas ocurre por vía enzimática. Sin embargo, existen tres hipótesis relacionadas con los distintos mecanismos implicados en dicho proceso. En primer lugar, la *teoría microbiológica* establece que la microflora presente determina el tipo de cambios fisicoquímicos que tienen lugar durante la maduración. Por otra parte, se encuentra la *teoría autolítica*, asignando a las enzimas musculares y del tracto gastrointestinal un rol clave en la transformación del producto. Por último, la *teoría enzimática* postula que la maduración es el

resultado de una combinación de la acción microbiana y de la actividad enzimática endógena (enzimas musculares y digestivas) (Voskresensky, 1965; Campello, 1985; Triqui y Reineccius, 1995a; Hernández-Herrero y col., 1999b; Besteiro y col., 2000b). A su vez, la importancia relativa de las enzimas musculares y digestivas en la maduración de pequeños pelágicos ha sido estudiada por diversos autores. Las enzimas digestivas (tripsinas) de estas especies poseen una gran actividad proteolítica (Martínez y col., 1988; Martínez y Serra, 1989; Heu y col., 1995). En tal sentido, estudios realizados en arenque y en espadín indicarían que las mismas son responsables de la completa maduración de dichos productos (Steffánson y Guðmundsdóttir, 1995). Resultados similares han sido obtenidos en estudios realizados por Hernández-Herrero y col. (1999b) para *E. encrasicholus*, en los cuales se ha observado que la evisceración y limpieza rigurosas llevan a una maduración más lenta y que finalmente, el producto no adquiere el flavor característico. A su vez, Durand (1981) ha mencionado que es indispensable la evisceración parcial del pescado, eliminando parte de las enzimas digestivas, a fin de evitar el desarrollo de un sabor amargo durante la maduración (Voskresensky, 1965). Asimismo, se han aislado enzimas proteolíticas (catepsinas) del músculo de *Engraulis japónica*, asociadas a la obtención de productos fermentados (Heu y col., 1997) y de *E. anchoita* (Pérez Borla, 1985). En relación a ellas, Besteiro y col (2000b) han señalado el efecto de las proteasas musculares sobre las características sensoriales relacionadas al flavor, sabor y aroma de la *E. encrasicholus* salada-madurada.

I.5.3 Características sensoriales de la anchoíta salada-madurada

La anchoíta salada-madurada posee características sensoriales que la definen como producto. En relación a ello, Filsinger y col. (1982) han descripto los cambios sensoriales durante el proceso y han especificado las características correspondientes al producto en su punto óptimo de maduración, siendo los atributos considerados el sabor, el aroma, el color de la carne, la adherencia de la carne al espinazo y la textura. Según los autores mencionados, en el punto óptimo de maduración la anchoíta debe presentar un color rosado uniforme; sabor

ajamonado; aroma agradable, a ésteres volátiles, característico; consistencia firme y resistente al tacto, no elástica y baja adherencia de la carne al espinazo. Posteriormente, han desarrollado una escala que permite evaluar la calidad sensorial del producto madurado en la cual se tienen en cuenta los mismos atributos. En ella, se contemplan las características que puede presentar un producto sobremadurado o con fallas, entre las cuales se pueden mencionar el sabor rancio, off-flavors; color del filete rojo oscuro, con puntos rojo oscuro o negros, color más intenso en la zona del espinazo; aroma rancio, ácido, amoniacal o sulfuroso; filete que presenta humedad al tacto, de consistencia friable que se rompe durante el fileteado o bien muy adherido al espinazo (Filsinger y col., 1987).

Por otra parte, Besteiro y col. (2000a) han identificado once atributos sensoriales que indicarían el grado de maduración de *E. encrasicholus*. Los atributos seleccionados fueron el color gris de la superficie externa (CES Grey); el color rojo de la superficie externa (CES Red), de la cara interna del filete (CIS Red) y en la zona del espinazo (CBM Red); el aroma a jamón Ibérico (O: Iberian Ham), a harina de pescado (O: Fish meal); el flavor a anchoíta (F: anchovy), a pescado salado (F: salted Fish) y amargo (F: Bitter) y finalmente, en cuanto a la textura, la firmeza (T: Firm) y la suculencia (T: Juicy). En la **Figura I.24** se presenta el perfil sensorial del producto en diferentes estadios de maduración. Es posible observar que durante el proceso, la superficie externa de la anchoíta pierde su coloración gris y adquiere un color rojizo, al igual que la cara interna del filete y la zona donde se encuentra unido el espinazo. A su vez, el producto adquiere un aroma similar al jamón Ibérico, una textura suculenta y de cierta firmeza, prevaleciendo el sabor típico a la anchoíta. En cuanto al producto sobremadurado, el mismo presenta un color rojo más intenso, un predominio del sabor a pescado salado sumado a un sabor amargo, una pérdida en la firmeza, manifestándose en el mismo un aroma a harina de pescado.

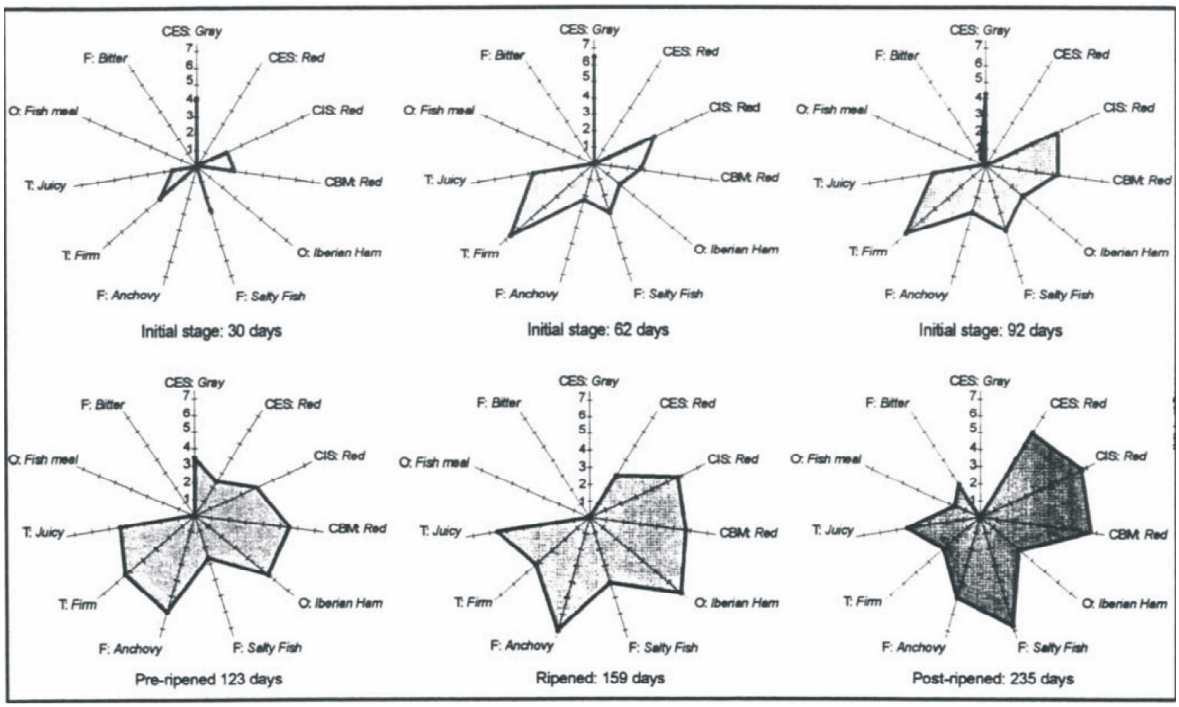

Figura I.24 Perfil sensorial de la anchoíta salada durante la maduración

Fuente: Besteiro y col. (2000a)

I.5.4 Índices de maduración para anchoíta

A nivel industrial, la evaluación del grado de maduración de la anchoíta se realiza mediante la inspección visual y otros ensayos subjetivos basados en la experiencia de los productores (Besteiro y col., 2000a). Sin embargo, resulta necesario contar con métodos objetivos para determinar en qué estadio se encuentra el producto. A tal fin, se han propuesto tres índices basados en distintos parámetros fisicoquímicos. Uno de ellos es el Nitrógeno Básico Volátil Total (NBV-T), el cual presenta una correlación lineal con el tiempo de maduración y exponencial con la puntuación sensorial (R^2 > 0,8537) (Filsinger y col., 1984). Este índice ha sido también utilizado en el seguimiento del proceso de maduración de *E. encrasicholus* con resultados similares (Hernández-Herrero y col., 1999a). Por otra parte, se encuentra el Índice de Ésteres, relacionado con el contenido de ácidos grasos libres, el cual se correlaciona linealmente con la evaluación sensorial (Filsinger y col., 1982; Roldán y col., 1985; Pérez-Villareal y

Pozo, 1992). Este índice ha resultado útil en la evaluación del grado de maduración, no así en la predicción de la calidad de la anchoíta-salada-madurada (Filsinger y col., 1987). Finalmente, el Índice de Proteólisis, calculado como la relación entre el Nitrógeno no Proteico y el Nitrógeno Total, ha sido utilizado para evaluar principalmente el grado de maduración en *E. encrasicholus* (Durand, 1981; Pérez-Villareal y Pozo, 1992; Hernández-Herrero y col., 1999b; Besteiro y col., 2000b; Pons-Sánchez-Cascado y col., 2005).

I.5.5 Alteraciones e inocuidad del producto

La anchoíta salada-madurada posee un contenido de NaCl de 14-21 %, con una a_w cercana a 0,75. En estas condiciones, el desarrollo de la flora deteriorante o patógena potencialmente presente se ve imposibilitado (**Figura I.25**), reduciéndose la actividad microbiana a grupos de bacterias, hongos y levaduras halófilas (Huss y Valdimarson, 1990). Por otra parte, según la **Figura I.25** el valor de a_w ubica al producto en el rango de máxima oxidación de lípidos y pardeamiento no enzimático, así como también de una importante actividad hidrolítica y enzimática.

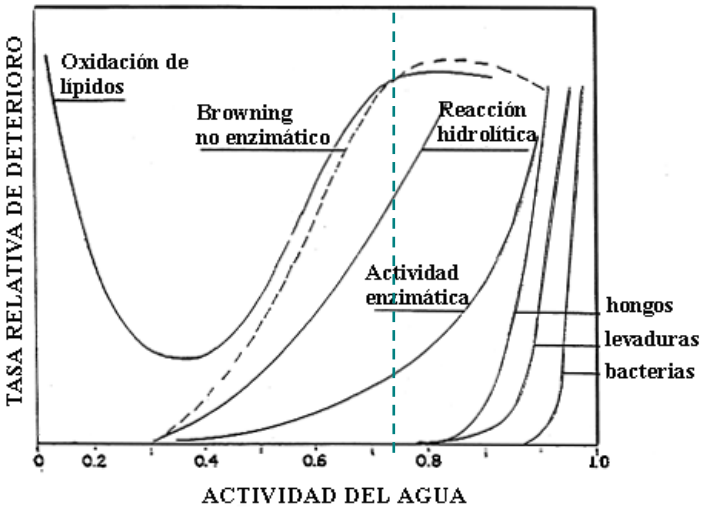

Figura I.24 Velocidades relativas de las distintas vías de alteración en función de la a_w

Fuente: Labuza (1980)

I.5.5.1 Microflora presente durante el salado-madurado

De acuerdo a la concentración de NaCl presente, durante el proceso de salado-madurado predomina la flora halófila. Según la **Tabla I.5**, las bacterias halófilas pueden ser clasificadas en función de su requerimiento o tolerancia a la salinidad.

Existe una gran diversidad de microorganismos halófilos, tanto en el *phylum* procarionte (eubacteria) como en el eucarionte y en el *phylum Archaea*, los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en los medios hipersalinos (zonas áridas hipersalinas, costas, agua de mar, pescado salado). Los microorganismos halófilos cuentan con estrategias que les permiten enfrentar al estrés osmótico: mantienen altas concentraciones intracelulares de sal y sintetizan solutos compatibles que les permiten balancear su presión osmótica (Flannery, 1956; Ventosa y col., 1998; González-Hernández y Peña, 2002). Dentro de las *Archaeobacterias* se encuentran las bacterias halófilas extremas, también conocidas por el nombre halófilas rojas, ya que son responsables de la formación de un limo rojizo en la superficie de productos marinos salados. La presencia de estas bacterias en dichos productos, especialmente *Halococcus* y *Halobacterium,* da lugar a la aparición de off-flavors y de aromas relacionados al deterioro (sulfuro de hidrógeno e indol) (Huss y Valdimarson, 1990).

Tabla I.5 Clasificación de las bacterias de acuerdo a su tolerancia salina

Microorganismo	Concentración de NaCl	
	M	%
No halófilos	0-0,25	0-1,5
Bacterias marinas	0,25-1,0	1,5-6
Halófilas moderadas	0,5-2,5	3-15
Halófilas estrictas	1,5-4,0	9-24
Halófilas extremas	3,0-5,0	18-30

Las bacterias, mohos y las levaduras halófilos son contaminantes naturales de la sal (Connell, 1990; Huss y Valdimarson, 1990, Félix, 2006) y de esta forma se trasladan al pescado salado, donde encuentran un sustrato rico en nutrientes que permite su desarrollo.

En la literatura se pueden encontrar algunas investigaciones acerca de la microflora presente en anchoíta salada-madurada, en general bacterias halófilas moderadas y extremas (Campello, 1985; Villar y col., 1985; Hernández-Herrero y col., 1999a y 1999c; Yeannes y col., 2003; Yeannes y col., 2005; Félix y col., 2007, 2008 y en prensa).

I.5.5.2 Formación de aminas biógenas en anchoíta salada-madurada

La histamina pertenece al grupo de las aminas biógenas y es considerada el principal agente causal de la intoxicación “tipo histamina”. Sin embargo, deben tenerse en cuenta los niveles de otras aminas tales como la putrescina, cadaverina, espermina y espermidina, las cuales pueden estar presentes en el alimento y actuar como potenciadores de la histamina. Durante mucho tiempo esta patología fue atribuida exclusivamente al consumo de pescados de las familias *Scomberesocidae* y *Scombridae* (atún, caballa y arenque, entre otros), razón por la cual era denominada “envenenamiento por escómbridos” o “escombrotoxicosis”. Sin embargo, también se han dado casos de este tipo de patología por el consumo de otras especies de pescado, así como de otros alimentos tales como quesos, vinos y productos cárnicos (Yeannes, 1995; Pons Sánchez-Cascado, 2005). En general, la presencia de aminas biógenas, en especial histamina, está asociada a procesos de deterioro, pero éstas pueden encontrarse presentes en productos fermentados o madurados sin estar indicando deterioro. Así, los productos de la pesca fermentados o madurados pueden exhibir altas concentraciones de las mismas, al igual que los chacinados, quesos, salsa de soja, etc (Yeannes, 1995).

La principal vía de formación de histamina es por descarboxilación enzimática microbiana, según la siguiente ruta (Yeannes, 1995):

$$\text{Histidina} \xrightarrow{\text{Histidina descarboxilasa}} \text{Histamina}$$

La histidina es un aminoácido esencial, el cual se encuentra presente principalmente en los pigmentos (hemoglobina, mioglobina y hematina), en los citrocromos (especialmente en el citocromo C) y en enzimas como la catalasa. La formación bacteriana de histamina depende de la disponibilidad de histidina libre, la acción descarboxilasa y de las condiciones del medio (temperatura, pH, etc). Para que ocurra la formación de histamina deben coexistir los tres factores mencionados (Yeannes, 1995).

En cuanto a las especies pelágicas, las mismas se caracterizan por su alto contenido de histidina libre (Burt y Hardy, 1992). Sumado a ello, debido a la proteólisis que ocurre durante la maduración de la anchoíta salada se han determinado elevadas concentraciones de histidina libre hacia el final del proceso, alrededor de 1800 ppm. Este valor no sería preocupante en la medida que no estén dadas las condiciones de temperatura, pH y flora bacteriana con capacidad histidina-descarboxilasa (Yeannes y Casales, 1995).

Ahora bien, dentro de la flora halófila típica de la anchoíta salada-madurada se ha determinado la presencia de microorganismos con capacidad histidina-descarboxilasa (Yeannes, 1995; Hernández-Herrero y col., 1999c; Lackshmanan y col., 2002; Pons Sánchez-Cascado y col., 2005; Tsai y col., 2005). Por lo tanto, es posible considerar como “peligro” la formación de histamina en este producto, por lo que debe ser considerada su prevención al diseñar las variables del proceso (Paredi y Yeannes, 1987; Yeannes y Casales, 1995)

I.5.6 Variables que afectan al proceso de maduración de anchoíta

El proceso de salado-madurado difiere entre los distintos productores y actualmente, los factores que afectan la calidad del producto final no se

encuentran totalmente dilucidados. Existen estudios que indican la influencia de las características intrínsecas de la materia prima (Durand, 1982; Filsinger y Yeannes, 1992 y 1994) y de algunas condiciones durante el procesamiento (Filsinger, 1987; Pérez-Villareal y Pozo, 1992, Gudmundsdóttir y Stefánsson, 1997).

De acuerdo a Filsinger y Yeannes (1992), la velocidad de maduración, evaluada sensorialmente, varía en función de la época de captura de la anchoíta (*E. anchoita*), la cual se encuentra relacionada con la composición del músculo. Así, el tiempo de maduración requerido ha sido de 16, 12 y 8 meses para anchoíta de mayo (9,4-13,6 % de lípidos), julio (4,1-5,5 % de lípidos) y septiembre (3,6-4,0 % de lípidos), respectivamente. A su vez, los autores han determinado que la temperatura posee una importancia fundamental durante el procesamiento de la anchoíta capturada durante el mes de mayo, ya que permite eliminar el exceso de grasa e incrementar la velocidad de maduración. Pérez-Villareal y Pozo (1992) han registrado un comportamiento similar en cuanto a la influencia de la temperatura, durante la maduración de *E. encrasicholus*.

Por otra parte, Filsinger (1987) ha estudiado el efecto del nivel de prensa aplicada sobre la velocidad de maduración de *E. anchoita* a partir del índice de ésteres y la evaluación sensorial, determinando un nivel de prensa óptimo de 131,5 g_f/cm^2. Asimismo, ha observado que un mayor nivel de prensa aumenta el contenido de NaCl en el producto y disminuye la velocidad de maduración, dando como resultado un producto que no posee las características sensoriales deseadas. En contraste, un menor nivel de prensa acelera el proceso, pudiendo resultar un producto sobremadurado.

Otra variable que puede afectar al proceso y las características del producto obtenido es el tipo de corte utilizado en las distintas etapas. Este aspecto es de gran interés ya que Pons Sánchez-Cascado y col. (2005) han determinado que una evisceración temprana (previa a la operación de presalado) disminuye el contenido de aminas biógenas en la anchoíta madurada. En tal sentido, en la **Sección I.5.2** se han realizado algunas consideraciones en relación a la presencia o no de las vísceras sobre las características del producto obtenido. Asimismo, Pérez-Villareal y Pozo (1992) han determinado una menor

velocidad de maduración en *E. encrasicholus* totalmente eviscerada y Gudmundsdóttir y Stefánsson (1997), en arenque parcial y totalmente eviscerado y filetes, han observado que sólo los mencionados en primer término adquieren las características típicas del producto madurado.

Cabe señalar que si bien existen algunos estudios relacionados con las variables operativas del proceso de salado-madurado de *E. anchoíta* y de ciertas características del producto obtenido, el conocimiento global del mismo así como de los cambios involucrados en las diversas áreas relacionadas es de gran relevancia. Así, los aspectos nutricionales y sensoriales, vinculados a la adecuación del proceso en función de las características de la materia prima, la influencia de las diversas variables tecnológicas y de la participación microbiana en el mismo presentan actualmente un conocimiento científico muy limitado. Por otra parte, en muchos saladeros las modificaciones del proceso son de naturaleza empírica, basándose en el método de prueba y error. Por ello, aquellas modificaciones en el proceso que produzcan una reducción en el tiempo de maduración o una mejora en las características sensoriales del producto final tienen relevancia, debido fundamentalmente a su posible transferencia al sector industrial. En ese sentido, es necesario considerar que la contribución asociada a la transferencia tecnológica e incorporación del conocimiento científico a nivel industrial, en un marco de mayores regulaciones debido al aumento creciente de las exigencias internas y externas en cuanto a su control de calidad, pueden redundar en una revalorización del producto que nos ocupa.

OBJETIVOS

En virtud de lo expuesto, los objetivos del presente trabajo de Tesis Doctoral se detallan a continuación:

Objetivo general

- Obtener información acerca del efecto de las variables tecnológicas (prensa, temperatura y tipo de cortes), de la composición química y del ecosistema bacteriano sobre el proceso de salado-madurado de *Engraulis anchoita*.

A fin de cumplimentar dicho objetivo general se plantearon los siguientes

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto de ciertas variables operativas (tipo de corte y temperatura) sobre la cinética de deshidratación osmótica durante el presalado
- Analizar modelos matemáticos empíricos existentes y su aplicabilidad en la descripción del presalado
- Considerar el efecto del contenido de lípidos de la anchoíta fresca, como componente de mayor variabilidad estacional en esta especie, sobre el proceso de salado y madurado
- Obtener información acerca del efecto de las variables introducidas en el proceso de maduración (nivel de prensa, temperatura y tipo de corte), sobre las características fisicoquímicas y sensoriales del producto
- Obtener modelos, a partir de índices fisicoquímicos, que permitan describir el proceso de maduración, considerando las variables estudiadas
- Relacionar índices fisicoquímicos de maduración y medidas instrumentales con las características sensoriales de la anchoíta salada-madurada
- Obtener información acerca del ecosistema bacteriano durante el salado-

madurado de *Engraulis anchoíta*, los grupos principales que lo conforman, así como determinar su tipo participación en el proceso y efectuar la identificación presuntiva de los géneros involucrados

Capítulo II

Materiales y métodos

A fin de cumplimentar los objetivos planteados en el presente trabajo de Tesis se llevaron a cabo dos tipos de experiencias diferentes: 1) experiencias de salado por vía húmeda y 2) experiencias de salado-madurado. En ambos casos se consideró la influencia de la composición inicial de la anchoíta -variable intrínseca- , del tipo de corte utilizado y de la temperatura sobre el proceso y las características del producto obtenido. Además, en las experiencias de salado-madurado se introdujo como variable el nivel de prensa aplicado.

En primer lugar, las experiencias de salado por vía húmeda - correspondientes a la etapa de presalado - se llevaron a cabo a fin de determinar el efecto de las variables implementadas sobre el proceso y a su vez, evaluar la aplicación de modelos matemáticos con fines predictivos. Por otra parte, el objetivo de las experiencias de salado-madurado realizadas fue obtener información acerca del efecto de las variables consideradas sobre la velocidad de maduración y las características fisicoquímicas y sensoriales de la anchoíta en función del tiempo. A continuación, se describen en forma detallada las experiencias realizadas en cada caso, así como también la metodología correspondiente.

II.1 EXPERIENCIAS DE SALADO POR VÍA HÚMEDA

II.1.1 Materia prima

Las experiencias de salado se efectuaron con *Engraulis anchoita* del efectivo Bonaerense, proveniente del puerto de Mar del Plata (Provincia de Buenos Aires), y con el efectivo Patagónico, desembarcado en Puerto Madryn (Provincia de Chubut). El pescado utilizado fue capturado en distintos meses de temporadas de zafra sucesivas (agosto a diciembre), con el objeto de conocer la influencia de la variación estacional de la composición de la materia prima sobre la etapa de presalado (**Tabla II.1**). Todas las experiencias se realizaron con

pescado fresco, el cual fue mantenido en hielo desde la captura (en buques de media altura) hasta su procesamiento en el laboratorio. En todos los casos se utilizó anchoíta de un tamaño correspondiente a 33-35 piezas/kg de pescado (calibre "B").

II.1.2 Preparación de la muestra y desarrollo experimental

Se realizaron cuatro experiencias de salado de *E. anchoita* por vía húmeda, las cuales se detallan en la **Tabla II.1**. Las variables operativas ensayadas fueron los diferentes tipos de corte y la temperatura, sumando un total de 15 lotes. Se destinaron aproximadamente 5 kg de anchoíta a cada lote. En las Experiencias 1, 2 y 3 se trabajó con diferentes temperaturas durante el salado, mientras que en la Experiencia 4 se evaluó el salado por vía húmeda en distintos cortes de anchoíta.

Tabla II.1 Experiencias de salado de anchoíta realizadas por vía húmeda

	Mes de captura Procedencia	Corte	Temperatura (ºC)	Lote
Experiencia 1	Junio 2004[1] Puerto Madryn	Entero	5 ± 1	%líp-E-T5
			8 ± 1	%líp -E-T8
			15 ± 1	%líp -E-T15
			18 ± 1	%líp -E-T18
Experiencia 2	Junio 2004[1] Puerto Madryn	Entero	8 ± 1	%líp -E-T8
			10 ± 1	%líp -E-T10
			18 ± 1	%líp -E-T18
			21 ± 1	%líp -E-T21
Experiencia 3	Octubre 2006 Mar del Plata	Entero	10 ± 1	%líp -E-T10
			18 ± 1	%líp -E-T18
			25 ± 1	%líp -E-T25
			35 ± 1	%líp -E-T35
Experiencia 4	Noviembre 2006 Mar del Plata	Entero	15 ± 1	%líp -E-T15
		H&G		%líp -H&G-T15
		Filete		%líp -F-T15

[1]Las muestras fueron capturadas con 20 días de diferencia
H&G: Descabezado y parcialmente eviscerado

Codificación de los lotes: A fin de facilitar la comprensión de los resultados se generó la codificación de los lotes de modo que incluya la información de las variables correspondientes en cada caso: contenido de lípidos, tipo de corte y temperatura. Así, el código se compone de la siguiente forma: contenido de lípidos-corte-temperatura. Para identificar el tipo de corte se utilizó la letra "E" para pescado entero, "H&G" para pescado descabezado y parcialmente eviscerado (de "heading and gutting", sigla comúnmente utilizada en la industria pesquera para indicar "descabezado y eviscerado") y "F" para filetes. A modo de ejemplo, el lote %líp-E-T8 corresponde a la experiencia de presalado realizada con ejemplares con un determinado tenor de lípidos, enteros, manteniendo la temperatura de la salmuera a 8 ± 1 ºC.

En todos los casos se utilizó pescado con piel, realizándose los cortes en forma manual. El descabezado y eviscerado se llevó a cabo en una única operación simultánea, según la técnica descripta en la **Figura I.12**, **Sección I.3.1**. Los filetes se obtuvieron separándolos manualmente de la columna vertebral en el pescado H&G. Las dimensiones de las piezas obtenidas fueron: 136 ± 5 cm de longitud y 11 ± 1 mm de espesor para pescado entero (E); 112 ± 9 cm de longitud y 11 ± 1 mm de espesor para pescado descabezado y eviscerado (H&G) y finalmente, 112 ± 9 cm de longitud y 5 ± 1 mm de espesor para los filetes (F).

Previo a la realización de las experiencias se preparó salmuera saturada (26 % NaCl) utilizando sal gruesa (cristales de 5 mm de diámetro), libre de nitratos y nitritos (CAA, Capítulo 6, Art. 461) y agua potable. Se colocaron los ejemplares de anchoíta dentro de bachas junto con la salmuera, en una relación 1:1 a fin de respetar las condiciones de procesamiento a nivel industrial. Se utilizó una malla que posibilitó mantener inmerso el pescado durante el transcurso de toda la experiencia. La salmuera se mantuvo a saturación mediante la adición de un exceso de sal, determinándose periódicamente su concentración mediante el método de Mohr (Kirk y col., 1996). Las bachas se conservaron en cámara adiabática a la temperatura correspondiente a cada lote. Se extrajeron muestras de aproximadamente 200 g (15-20 ejemplares enteros, 40-60 piezas de pescado H&G, 80-100 filetes) a distintos tiempos de salado hasta alcanzar el equilibrio. En

cada muestreo se extrajo una igual cantidad de salmuera a fin de mantener constante la relación salmuera:pescado. Las muestras se escurrieron y secaron con papel absorbente, almacenándose en refrigeración (T = 4 ± 1 ºC) hasta su análisis. Se realizaron determinaciones del contenido de agua y de NaCl en la porción comestible (músculo) de la anchoíta.

II.1.3 Análisis fisicoquímico

II.1.3.1 Composición proximal del músculo de *E. anchoita*

Teniendo en cuenta las consideraciones realizadas en la Introducción general sobre la importancia de la composición química proximal y siendo ésta una de las variables a considerar, se realizó esta determinación en la anchoíta fresca de acuerdo a la siguiente metodología:

- **Contenido de agua:** se determinó mediante secado en estufa a 105 ± 1 ºC hasta peso constante (AOAC, 1990. Sec 984.25).

- **Lípidos totales**: mediante el método de hidrólisis ácida (AOAC, 1990. Sec. 922.06), recomendado para todo alimento sometido a algún tipo de procesamiento (Masson, 1997). Se pesaron 2 g de muestra y se trataron con 2 mL de etanol hasta humedecer la muestra. Se adicionaron 10 mL de solución de HCl (25 partes de HCl + 11 partes de H_2O) y se colocó en baño maría a 70-80 ºC durante 30 minutos. Se pasó el material a una ampolla de decantación y se trató con 25 mL de éter etílico más 25 mL de éter de petróleo. Se dejó decantar hasta lograr la separación de las fases. Se filtró la fase superior sobre un erlenmeyer de 125 mL previamente tarado. Se repitió dos veces el procedimiento de extracción del líquido remanente utilizando 15 mL de la mezcla de extracción. Se evaporó el éter en un baño termostático a 80 ºC y luego en estufa a 100 ºC hasta peso constante. Se calculó el contenido de grasa presente en la muestra mediante la diferencia de peso del erlenmeyer vacío y con el residuo graso, luego de la evaporación.

- **Proteína total**: mediante el método de Kjeldahl (AOAC, 1993. Sec. 920.152). La muestra se sometió a digestión con ácido sulfúrico concentrado usando sulfato de cobre y sulfato de potasio como catalizadores. Posteriormente, se agregó NaOH 40% y se destiló el nitrógeno liberado hacia una solución de ácido bórico. El destilado fue titulado con ácido sulfúrico normalizado. Se utilizó el factor 6,25 para trasformar el nitrógeno total en proteína total.

- **Cenizas**: se realizó la determinación a partir del residuo seco, el cual fue calcinado inicialmente en mechero bajo campana hasta que no hubo desprendimiento de humo en la muestra carbonizada. A continuación, el residuo fue calcinado en mufla a 500 ºC hasta cenizas blancas (AOAC, 1993. Sec. 945.46).

II.1.3.2 Análisis efectuados durante el salado

Durante el salado, se determinó el contenido de agua (Según **Sección II.1.3.1)** y el contenido de NaCl (Kirk y col., 1996). Para la determinación de NaCl en anchoíta salada, el residuo seco fue tratado con agua destilada durante 5 min a 100 ºC, luego se filtró y se llevó a un volumen final de 250 mL. En anchoíta fresca, el residuo seco se calcinó a 500 ºC (AOAC, 1993), llevándose luego a un volumen final de 100 mL. Alícuotas de estos extractos fueron tituladas, utilizando una solución normalizada de $AgNO_3$ y solución de K_2CrO_4 como indicador.

Una vez finalizado el salado se determinó además, el contenido de proteínas (Ver **Sección II.1.3.1**) y la actividad de agua a_w, tanto en el músculo como en la salmuera. La determinación de a_w se llevó a cabo mediante un higrómetro digital Aqualab, modelo CX-2T (Decagon®, Pulman, Estados Unidos).

Estas determinaciones se realizaron por triplicado.

II.1.4 Modelos matemáticos

El estudio y modelado de la deshidratación osmótica que resulta del

proceso de salado ha sido abordado tanto desde una perspectiva teórica como empírica. En este contexto, se han aplicado diversos modelos derivados de la segunda ley de Fick así como también modelos empíricos. En virtud de las consideraciones realizadas en la **Sección I.3.4** de la Introducción general y dada la complejidad que supone el estudio del salado de pescado entero, se han seleccionado para la evaluación de la deshidratación osmótica de anchoíta durante la etapa de presalado dos modelos empíricos: el Modelo de Peleg (1988) y el Modelo de Zugarramurdi y Lupín (1977, 1980).

II.1.4.1 Modelo de Peleg

Se modeló la cinética de transferencia de agua y sal mediante la ecuación de Peleg (1988).

$$X_i = X_i^0 \pm \frac{t}{k_1 + k_2 t} \qquad \textbf{Ec. II.1}$$

donde: X_i: fracción másica de agua y NaCl (base seca, g/g_{bs}) a tiempo t (h)

X_i^0: fracción másica de agua y NaCl (base seca, g/g_{bs}) a t=0

k_1 $h(g/g_{bs})^{-1}$) y k_2 ($(g/g_{bs})^{-1}$): parámetros del modelo.

En la **Ecuación II.1** el signo "±" corresponde a "+" para ganancia de NaCl (de aquí en adelante "sal") y a "-" si se trata de pérdida de agua. La constante k_1, denominada constante de velocidad de Peleg, se relaciona según la **Ecuación II.2** con la velocidad de transferencia de masa al inicio del proceso ($t=t^0$). La constante k_2, denominada constante de capacidad, se relaciona con los valores de humedad y sal alcanzables a $t \rightarrow \infty$, donde $X_i = X_i^{eq}$ (**Ec. II.3**).

$$\frac{dX_i}{dt} = \pm \frac{1}{k_1} \qquad \textbf{Ec. II.2}$$

$$X_i^{eq} = X_i^0 \pm \frac{1}{k_2}$$ **Ec. II.3**

II.1.4.2 Modelo de Zugarramurdi y Lupín (Z&L)

El siguiente modelo fue propuesto por Zugarramurdi y Lupín (1977, 1980) para explicar la dinámica de salado de pescado, la cual presenta un acercamiento exponencial a los valores de agua y sal de equilibrio.

$$\frac{dX_i}{dt} = -k.(X_i^{eq} - X_i)$$ **Ec. II.4**

donde: X_i: fracción másica de agua y NaCl (base seca, g/g_{bs}) a tiempo *t* (h)

X_i^{eq}: fracción másica de agua y NaCl (base seca, g/g_{bs}) en el equilibrio

k: constante de velocidad específica ($(g/g_{bs})h^{-2}$)

La **Ecuación II.5** se obtiene integrando la **Ecuación II.4**, considerando la condición inicial X_i (0)=X_i^0.

$$X_i = X_i^0.e^{-k.t} + X_i^{eq}.(1 - e^{-k.t})$$ **Ec. II.5**

Los parámetros de los modelos para cada una de las condiciones experimentales fueron obtenidos por regresión no lineal, utilizando el software OriginPro 7.5 (OriginLab Corporation, Northampton, Estados Unidos).

II.1.5 Análisis Estadístico

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar los efectos de

las distintas variables sobre la cinética de transferencia de agua y de sal. En aquellos casos en los cuales se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0{,}01$), se utilizó a posteriori un test de comparaciones múltiples (test de Tukey). Los análisis se realizaron utilizando el sofware STATISTICA 5.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, Estados Unidos).

En cada caso se evaluó la bondad de ajuste del modelo mediante el coeficiente de determinación (R^2) y el error cuadrado medio (*RMSE*, **Ec. II.6**).

$$RMSE = 100\sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(\frac{X_i - X_{ip}}{X_i}\right)^2} \qquad \textbf{Ec. II.6}$$

donde: X_i: valor experimental

X_{ip}: valor predicho por el modelo

n: número de datos experimentales

II.2 EXPERIENCIAS DE SALADO-MADURADO

II.2.1 Materia prima

La materia prima utilizada en las experiencias de salado-madurado realizadas en el marco del presente trabajo de Tesis fue *Engraulis anchoita* procedente del puerto de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, capturada durante los meses de agosto y noviembre de los años 2005, 2006, 2007 y 2008.

II.2.2 Desarrollo experimental

Se realizaron cinco experiencias de salado-madurado, en las cuales se introdujeron las siguientes variables: tipo de corte (entero, H&G y filete), temperatura (20, 15 y 5 ºC) y prensa aplicada durante la maduración (19, 30, 80 y 140 g_f/cm^2), con un total de 11 lotes ensayados. En la Experiencia 1 se trabajó con el corte tradicional (presalado entero y madurado H&G), en cámara adiabática a 20 ± 1 ºC utilizando un valor de prensa (140 g_f/cm^2), el cual de acuerdo a Filsinger (1987) permite la obtención de un producto con las características sensoriales deseadas. En la Experiencia 2 se introdujo como variable el tipo de corte (entero, H&G y filete), con un nivel de prensa similar al utilizado en la industria del salado local y en diversos trabajos de investigación (Campello, 1985; Besteiro y col., 2000a) (30 g_f/cm^2) a la temperatura de cámara adiabática del laboratorio (20 ± 1 ºC). A su vez, para el corte tradicional se aplicó un menor valor de prensa (19 g_f/cm^2) y una temperatura de maduración de 15 ± 1 ºC, la cual corresponde a la sala de maduración de una planta procesadora. En la Experiencia 3 se analizaron dos tipos de corte, tradicional y filetes, aplicando un nivel de prensa intermedio (80 g_f/cm^2) a una temperatura de 15 ± 1 ºC. En la Experiencia 4 se trabajó con el corte tradicional, con iguales condiciones operativas que las de la Experiencia 3. Por último, en la Experiencia 5 se trabajó en ambos lotes con el corte tradicional, en un caso con los niveles de las variables prensa y temperatura habituales en la industria local (P = 30 g_f/cm^2 y T = 15 ± 1

ºC) y en otro, con un nivel de prensa intermedio a temperatura de refrigeración. Las condiciones de procesamiento en cada caso se encuentran detalladas en la **Tabla II.2**.

Tabla II.2 Diseño experimental para el estudio del salado-madurado de anchoíta

	Mes y año de captura	Lote	Corte		Prensa (g_f/cm^2)	
			Presalado	Madurado		
Experiencia 1	Agosto 2005	**05t-P140-T20**	Entero	H&G	140	Procesamiento en el laboratorio T = 20 ±1 ºC[1]
Experiencia 2	Noviembre 2006	**06t-P19-T20**	Entero	H&G	19	
		06t-P30-T20	Entero	H&G	30	
		06H&G-P19-T20	H&G	H&G	19	
		06F-P19-T20	Filete	Filete	19	
		06t-P30-T15	Entero	H&G	30	Procesamiento en planta fabril T = 15 ± 1 ºC[1]
Experiencia 3	Noviembre 2007	**07t-P80-T15**	Entero	H&G	80	
		07F-P80-T15	Filete	Filete		
Experiencia 4	Agosto 2008	**08t-P80-T15**	Entero	H&G	80	
Experiencia 5	Noviembre 2008	**08t-P30-T15**	Entero	H&G	30	
		08t-P80-T5	Entero	H&G	80	Procesamiento en planta fabril T = 5 ± 1 ºC[1]

[1]T: temperatura durante la maduración
H&G: descabezado y eviscerado.
t: corte tradicional (presalado entero y madurado H&G); H&G: presalado y madurado H&G; F: presalado y madurado de filete. P: prensa; T: temperatura.

Al igual que en las experiencias de salado por vía húmeda, el código utilizado para la identificación de los lotes incluye la información de las variables correspondientes a cada caso y se compone de la siguiente forma: año y corte utilizado-prensa-temperatura. En cuanto al tipo de corte empleado se utilizó “t” cuando se aplicó el corte “tradicional”, es decir presalado de pescado entero y madurado de pescado descabezado y parcialmente eviscerado, “H&G” cuando se utilizó pescado descabezado y parcialmente eviscerado desde el presalado y “F” cuando se utilizaron filetes en las etapas de presalado y madurado. A modo de ejemplo, el lote 06F-P19-T20 corresponde a la experiencia de salado-madurado

realizada con pescado capturado durante el año 2006, sobre filetes, con una prensa de 19 g_f/cm^2, siendo la temperatura promedio durante la maduración de 20 ± 1 ºC.

En todas las experiencias se utilizó pescado fresco, capturado en barcos de media altura, el cual fue mantenido en hielo hasta su procesamiento. En todos los casos, cuando el pescado arribó a puerto la etapa del *rigor mortis* había finalizado. La anchoíta fresca utilizada fue clasificada según la denominación de la industria como un calibre "B", el cual corresponde a 33-35 piezas/kg.

Según lo detallado en la **Tabla II.2**, varios de los lotes fueron procesados en el laboratorio y otros en un saladero de la ciudad de Mar del Plata. En ambos casos se respetaron las condiciones usuales de procesamiento en fábrica, a excepción de las variables introducidas en cada caso relacionadas con la temperatura, nivel de prensa y tipo de cortes utilizados. Para el presalado se empleó salmuera saturada en una relación pescado/salmuera 1:1 y se mantuvo el pescado en inmersión durante 24 h. Para los lotes procesados en forma tradicional (t) se utilizó pescado entero, el cual luego del presalado fue descabezado y eviscerado manualmente (Ver **Figura I.12**, **Sección I.3.1.5**). Por otra parte, en los lotes 06H&G-P19-T20, 06F-P19-T20 y 07F-P80-T15 se efectuaron los cortes - descabezado y eviscerado y fileteado respectivamente - en forma manual previo a la etapa de presalado. En todos los casos se llenaron las latas o tambores, colocando alternadamente capas de pescado y de sal, con una relación final de pescado/sal de 1:0,2. Los recipientes fueron llenados por encima de su capacidad, colocando un "cuello" (Ver **Figura I.15**, **Sección I.3.1.6**). En la parte superior se colocó una tapa de madera - de menor diámetro que el tambor - y prensa, constituida por bloques de hormigón de aproximadamente 25 kg cada uno. Inicialmente se utilizó una prensa de aproximadamente 160 g_f/cm^2, con el objetivo de lograr una rápida pérdida de agua por parte del pescado. En esta etapa, cuyo periodo de duración es de 8 ± 2 días dependiendo del tenor graso y de la frescura de la materia prima, el nivel de pescado disminuye gradualmente y una vez que se alcanza el nivel de máxima capacidad del tambor se quitan los bloques necesarios para obtener el nivel de prensa deseado en cada caso. Los lotes procesados en la planta fabril se mantuvieron en la sala de maduración del

saladero (T = 15 ± 1 ºC), mientras que el lote 08t-P80-T5 se conservó en cámara de refrigeración durante la maduración (T = 5 ± 1 ºC). En el lote 05t-P140-T20 se trabajó con un total de 20 latas de 5 kg cada una, en el lote 08t-P30-T15 se realizó el seguimiento de un tambor de aproximadamente 250 kg, en los lotes 07t-P80-T15 y 07F-P80-T15 se utilizaron 6 latas y en los restantes, 3 tambores de 10 kg de capacidad por cada lote, respectivamente.

En todos los casos se extrajeron muestras de aproximadamente 1 kg a distintos tiempos de maduración, descartando las dos capas superiores de pescado, las cuales pueden encontrarse sometidas a situaciones extremas -mayor disponibilidad de O_2, incidencia de microorganismos que crecen en la superficie- que no representan la totalidad de la lata o del tambor. El pescado fue sumergido brevemente en una salmuera saturada a fin de eliminar los restos de sal, secado con papel absorbente y fileteado para efectuar los respectivos análisis. Las muestras se conservaron en refrigeración (T = 4 ± 1ºC) hasta su posterior análisis.

II.2.3 Análisis efectuados durante la maduración

Los análisis detallados a continuación fueron llevados a cabo tanto en la anchoíta fresca (t = 0) como en las muestras tomadas durante el proceso de salado-madurado.

II.2.3.1 Composición proximal del músculo de *Engraulis anchoita*

Se determinó el contenido de agua, lípidos totales, proteínas y cenizas de acuerdo a la metodología descripta en la **Sección II.1.3.1**.

II.2.3.2 Contenido de NaCl

Se determinó mediante el método de Mohr (Kirk y col., 1996), descripto en la **Sección II.1.3.2**.

II.2.3.3 pH

Se homogeneizaron 10 g de muestra junto con 10 mL de agua destilada. Se midió el pH utilizando un electrodo combinado de vidrio (Lees, 1969).

II.2.3.4 Actividad de agua

Se midió la a_w de las muestras mediante un higrómetro digital Aqualab, modelo CX-2T (Decagon®, Pulman, Estados Unidos).

II.2.3.5 Determinación de índices de maduración

Dentro de los índices de maduración aplicados a este producto, el Nitrógeno Básico Volátil Total (NBV-T) y la relación Nitrógeno Total/Nitrógeno no Proteico (NT/NNP) han sido los más utilizados debido a que presentan una buena correlación con el tiempo de maduración y el puntaje sensorial (Durand, 1981; Filsinger y col., 1984; Hernández-Herrero y col., 1999a, 1999b; Pons-Sánchez-Cascado y col., 2005). En virtud de ello, los mismos fueron seleccionados como índices objetivos para evaluar la maduración bajo las diferentes condiciones estudiadas.

II.2.3.5.1 Nitrógeno Básico Volátil Total (NBV-T)

Para la cuantificación del NBV-T se utilizó la técnica de destilación directa modificada por Giannini y col. (1979). Esta modificación reemplaza el tiempo de destilación establecido en los métodos originales (destilación por arrastre de vapor y destilación directa) por un volumen de destilado, lo cual permite independizarse de la potencia del equipo calefactor y por lo tanto, emplear un equipo de destilación común. Por otra parte, permite incrementar la cantidad de ácido bórico sobre la cual se recoge el destilado, asegurando de esta manera una suficiente cantidad de ácido para neutralizar las bases presentes. Esta técnica permite determinar concentraciones de NBV-T más elevadas de lo esperado en un pescado fresco, como es el caso de la anchoíta salada-madurada (Ver

Sección I.5.4), incrementando la concentración de la solución de ácido bórico. Para la determinación de NBV-T, se colocaron 10 g de muestra en balón de destilación junto con 300 mL de agua destilada y 1,5 g de óxido de magnesio. Se destilaron las bases nitrogenadas liberadas hacia una solución de acido bórico al 3 %, hasta completar un volumen de 230 mL en el vaso colector. El destilado se tituló con ácido sulfúrico normalizado utilizando indicador de pH mixto (1 parte de rojo de metilo y 3 partes de verde de bromocresol). El punto final está dado por el viraje del indicador hacia un color gris, a un pH de 5,2. El contenido de NBV-T (mg/100g) se calculó de acuerdo a la **Ecuación II.7**.

$$NBV-T(mg/100g)=\frac{V\times A\times 140.08}{m} \qquad \textbf{Ec. II.7}$$

siendo: *V*: volumen de solución de ácido sulfúrico consumido en la titulación (mL)

A: normalidad de la solución de ácido sulfúrico/0,1

m: masa de muestra (g)

II.2.3.5.2 Nitrógeno Total/Nitrógeno no Proteico (NT/NNP)

Se determinó NT en 0,5 g de muestra mediante el método de Kjeldahl (AOAC, 1993. Sec. 920.152). Para la determinación de NNP, se trataron 25 g de muestra con 25 mL de solución de TCA (7,5 %), se centrifugó a 3000 rpm por 10 min y se filtró el sobrenadante. Se repitió el procedimiento de extracción con TCA 7,5 % en el precipitado. Se tomó una alícuota de 10 mL del sobrenadante y se determinó el contenido de Nitrógeno mediante el método de Kjeldahl (Hernández-Herrero y col., 1999b).

II.2.3.6 Determinación de la composición de ácidos grasos

Los lípidos totales se extrajeron a partir de 100 g de muestra utilizando una mezcla cloroformo-metanol-agua (2:2:1,8), de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959). Para ello se obtuvieron dos extractos independientes por cada muestra

analizada, los cuales fueron almacenados bajo atmósfera de nitrógeno y en oscuridad a -18 ºC para su posterior análisis.

El perfil de ácidos grasos fue determinado mediante cromatografía gas-líquido, utilizando KOH en metanol como agente de transesterificación, de acuerdo a la norma ISO 5509 (International Organization for Standardization, 2000). Se disolvieron 100 mg de extracto graso en hexano y se trataron con KOH 1M (en metanol) durante 10 min a 70 ºC. Se realizó la separación de los ácidos grasos en un cromatógrafo gaseoso (Shimadzu® GC-17A, Kyoto, Japón) equipado con columna capilar de sílica fundida (Omegawax 320, Supelco®, Bellefonte, PA, USA) (30 m x 0,32 mm d.i.; 0,25 µm film) y detector de ionización en llama (FID). El programa de temperatura utilizado fue: temperatura inicial, 190 ºC; rampa 1,5 ºC/min; temperatura final, 225 ºC (isoterma de 13 min); temperatura del inyector y del detector, 250 ºC. El volumen inyectado fue 1 µL y el gas portador utilizado, nitrógeno. Los tiempos de retención y áreas de los picos se procesaron utilizando el software Shimadzu® SMI Class – GC 10. Para la identificación de los ácidos grasos se compararon los tiempos de retención y las áreas de las muestras con la mezcla de estándares de referencia PUFA-1, Marine Source (Supelco®), diluida en hexano, de concentración 50 mg/mL. Los ácidos grasos se cuantificaron a través de la relación porcentual de las áreas de los picos con respecto al área total.

II.2.3.7 Determinación de sustancias reactivas al ácido 2–tiobarbitúrico

Se utilizó el número de TBA (nº TBA) como indicador de la oxidación lipídica a lo largo de la maduración. Este valor se relaciona con la cantidad de malonaldehído y otros productos de oxidación presentes en la muestra (Pokorný y col., 2005).

Para la cuantificación de las sustancias reactivas al TBA se utilizó el método de extracción ácida, de acuerdo a Tironi y col. (2007). Se homogeneizaron 2 g de muestra con 16 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5 % P/V. Los homogenatos se mantuvieron en hielo durante 30 minutos y

posteriormente se filtraron. Se tomó una alícuota de 2 mL del filtrado y se agregaron 2 mL de solución de TBA 0,5 % P/V. Se incubaron las mezclas a 70 ºC durante 30 minutos en tubos cerrados y en oscuridad (Botsoglou, 1994). Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (Shimadzu® UV-1601 PC, Kyoto, Japón) a 532 nm (pigmento rosado) para malondialdehído (MDA) y a 455 nm (pigmento amarillo) para aldehídos, de acuerdo a Meir y col. (1992) (Zhuang y col., 1997). En los casos en que la absorbancia no se encontrara en el rango 0,15-1 se corrigieron los volúmenes de la alícuota tomados.

Se calculó el nº TBA a ambas longitudes de onda de acuerdo a la ley de Lambert y Beer (**Ec. II.8**).

$$n^{o}\,TBA(mgMDA/kg) = \frac{Abs \times PM \times V_t \times V_e \times 1000}{m \times b \times \varepsilon} \qquad \textbf{Ec. II.8}$$

siendo: *Abs*: absorbancia medida

PM: peso molecular de las sustancias reactivas al TBA. A 532 nm, PM del MDA (72g); a 455 nm, promedio de los PM del propanal, butanal, hexanal, heptanal y propanal-metilacetal (89,6 g) (Meir y col., 1992)

V_t: volumen de alícuota del extracto+volumen de solución de TBA

V_e: volumen del extracto (16 mL)

V_a: volumen de la alícuota

m: masa de muestra

b: camino óptico (1 cm)

ε: coeficiente de extinción molar del compuesto coloreado. ε_{532nm}= 1,56 x 10^5 M^{-1} cm^{-1} (correspondiente al MDA); a ε_{455nm}= 0,457 x 10^5 M^{-1} cm^{-1} (correspondiente al promedio de los aldehídos mencionados anteriormente).

II.2.4 Calorimetría Diferencial de Barrido

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) permite determinar las temperaturas a las cuales ocurren procesos endo o exotérmicos en una muestra sometida a un programa de temperatura, frente a una sustancia de referencia, así como obtener las entalpías asociadas a dichos procesos.

A tal efecto, se utilizó esta técnica para determinar las temperaturas y entalpías de desnaturalización de las proteínas musculares de la anchoíta, así como analizar los posibles cambios en estos parámetros en función del tiempo de maduración. Esta técnica presenta la ventaja de posibilitar el análisis de las proteínas *in situ*, sin necesidad de llevar a cabo la solubilización del tejido muscular. A partir del análisis de los termogramas obtenidos es posible extraer información acerca de la estabilidad proteica en términos de la temperatura de pico ($T_{máx}$) y de los correspondientes cambios de entalpía asociados a las distintas proteínas presentes (actina, fragmentos de miosina y proteínas sarcoplasmáticas). Así, la técnica de DSC ha sido ampliamente utilizada en el estudio de las propiedades térmicas de las proteínas musculares de diferentes especies pesqueras así como ha permitido obtener información acerca del efecto de diferentes procesos sobre las mismas (Thorarinsdottir y col., 2002; Jensen y Jørgensen, 2003; Medina-Vivanco y col., 2004; Tironi y col., 2007; Tironi y col., 2010).

A tal fin, se determinó la estabilidad térmica de las proteínas del músculo de anchoíta a distintos tiempos de madurado, así como también bajo diferentes condiciones de procesamiento. Mediante esta técnica se analizaron los lotes 07t-P80-T15, 07F-P80-T15 (Experiencia 3), 08t-P80-T15, 08t-P30-T15 y 08t-P80-T5 (Experiencias 4 y 5), tomando porciones de músculo de la zona del lomo del filete (25-30 mg de muestra húmeda) colocándolas en cápsulas de aluminio, las cuales fueron cerradas herméticamente. Para efectuar el análisis se utilizó un Calorímetro Diferencial de Barrido DSC Q100-1072 (TA Instruments®, USA). Las corridas de las distintas muestras se realizaron por triplicado. Se trabajó en un rango de temperaturas de 0 a 100 ºC, con una isoterma de 2 minutos a 0 ºC y una velocidad de calentamiento β = 10 ºC/min. Posterior a la corrida, las cápsulas

fueron perforadas y colocadas en estufa a 105 ± 1 ºC hasta peso constante, a fin de obtener las masas secas respectivas.

Los termogramas obtenidos fueron analizados mediante el programa informático TA Instruments® Universal Analysis, obteniéndose las temperaturas de desnaturalización de las proteínas a partir de las $T_{máx}$, así como las entalpías de desnaturalización correspondientes a través del cálculo del área bajo la curva obtenida.

II.2.5 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial fue realizada a fin de obtener información acerca de la intensidad de los distintos atributos a lo largo del proceso y determinar el grado de maduración. Para ello se utilizó la tabla desarrollada por Filsinger y col. (1982), la cual ha sido adoptada a nivel internacional por distintos autores para evaluar el grado de maduración tanto de *E. anchoita* como de *E. encrasicholus* (Roldán y col., 1985; Filsinger, 1987; Hernández-Herrero y col., 1999b; Triqui y Zounic, 1999). Las características sensoriales que contempla dicha tabla son: sabor, color de la carne, aroma, textura y adherencia de los filetes al espinazo. Cada atributo es puntuado de 0, correspondiente a la anchoíta fresca; a 8, el cual corresponde a un producto sobremadurado o que se descarta por fallas. El puntaje 6 equivale a la anchoíta en su punto óptimo de maduración, presentando un tono rosado uniforme, sabor ajamonado, aroma característico y filetes de textura firme, los cuales pueden ser separados correctamente del espinazo.

II.2.5.1 Preparación de las muestras

Se evaluaron sensorialmente todos los lotes ensayados, los cuales fueron previamente descriptos en la **Tabla II.2**. Para ello, se extrajeron muestras a lo largo de la maduración, las cuales fueron evaluadas el mismo día de la correspondiente toma de muestra. La preparación de las muestras se llevó a cabo en un área independiente al área de prueba. Para su evaluación, los ejemplares fueron sumergidos brevemente en una salmuera, a fin de retirar el exceso de sal

superficial y los restos de escamas y secados con papel absorbente. Para evitar influenciar a los jueces, las muestras se presentaron codificadas con números aleatorios de tres dígitos de acuerdo a una tabla de números al azar (ICMSF, 1983).

II.2.5.2 Área de prueba

El lugar físico seleccionado para llevar a cabo las pruebas fue el Laboratorio de Preservación y Calidad de Alimentos de la UNMdP, el cual cuenta con cabinas de evaluación sensorial acondicionadas en temperatura, ventilación e iluminación para minimizar los prejuicios de los evaluadores, de acuerdo a lo establecido por la Norma IRAM 20003 (IRAM, 1995).

II.2.5.3 Panel de jueces

Las muestras fueron evaluadas por un panel compuesto por 6 jueces entrenados en productos pesqueros y en el uso de la Tabla de Evaluación sensorial empleada.

II.2.5.4 Ensayo

Se utilizó como guía la Tabla desarrollada por Filsinger y col. (1982) modificada. En la tabla original el orden en el que aparecen los atributos a evaluar es: Sabor, Color de la carne, Aroma, Textura y Adherencia al espinazo. Sin embargo, este orden no concuerda con el de la evaluación, ya que por ejemplo el sabor es el último atributo a evaluar y figuraba originalmente en primer lugar. Por lo tanto, se utilizó la **Tabla II.3**, en la cual se reordenaron los atributos a fin de evitar confundir al juez, respetando los descriptores originales.

Tabla II.3 Planilla de Evaluación Sensorial

PLANILLA DE REFERENCIA PARA LA EVALUACIÓN SENSORIAL					
Factor / Puntaje	**0**	**2**	**4**	**6**	**8**
Adherencia del espinazo	Muy adherido a la carne. No se separa	Muy adherido, no se separa fácilmente	Adherido, se separa el filet incompleto	Muy poca adherencia, se puede separar bien (adecuado fileteo)	La carne se rompe al separarla
Aroma	A pescado fresco	Neutro, a salmuera	Suave, no intenso. A ésteres volátiles	Agradable, a ésteres volátiles. "Aroma característico"	A rancio. Ácido, amoniacal o sulfuroso. Aromas extraños
Color de la carne	Perláceo uniforme. Típico del pescado crudo	Perláceo en la periferia. Rosado/rojo al centro o rosado no uniforme	Carne rosada tenue. Rojo intenso o rosado en el centro	Rosado intenso uniforme	Rojo oscuro/negro. Manchas rojas. Puntos negros
Textura	Húmeda. Muy elástica	Poco húmeda. Menos elástica	Muy poco elástica, más compacta. Sin humedad	No elástica. Firme y resistente al tacto	Desgranada. Sin resistencia
Sabor (superpuesto a la sal)	A pescado crudo	Neutro	Ligeramente ajamonado	Ajamonado. A carne cocida	A rancio. Sabores extraños

Los atributos fueron evaluados tal como se detalla a continuación:

Adherencia del espinazo: se evaluó al separar manualmente los filetes. Cuando el espinazo se separa fácilmente de los dos filetes y no le queda músculo remanente entre las espinas que lo conforman, se considera totalmente madurado y le corresponde el puntaje 6. Los distintos puntajes se van otorgando de acuerdo al porcentaje de músculo que queda pegado a la columna o si al intentar separar los filetes, alguno de ellos o los dos se rompen.

Aroma: se evaluó en los ejemplares luego de ser fileteados

Color de la carne: se evaluó el color correspondiente a la cara interna del filete

Textura: se evaluó mediante la percepción de la humedad al tacto y de la elasticidad sometiendo el filete a tracción manual (**Figura II.1**)

Sabor: los jueces degustaron el filete

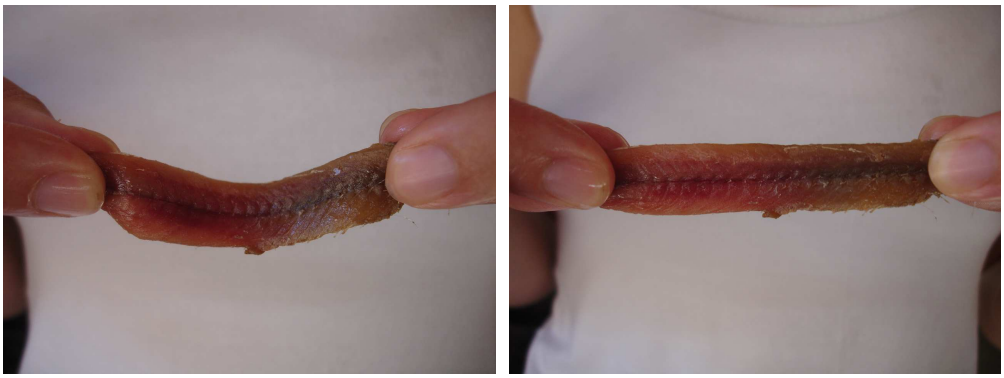

Figura II.1 Evaluación de la textura de la anchoíta

Se evaluaron sólo dos muestras en una misma sesión a fin de evitar la saturación de los jueces. Por cada muestra se presentaron a los jueces dos ejemplares seleccionados al azar, ofreciéndose como neutralizante trozos de manzana verde, agua sin gas y galletitas de agua. Para la evaluación de las muestras se proveyó a los jueces de la planilla presentada a continuación.

Nombre: Fecha:

Edad: Muestra: Serie:

INSTRUCCIONES: Pruebe la muestra y califíquela de acuerdo a la planilla de referencia.

Factor	**Puntaje**
Adherencia del espinazo	_____
Aroma	_____
Color	_____
Textura	_____
Sabor	_____

II.2.6 Medición instrumental del color superficial

El color es uno de los atributos sensoriales que define a la anchoíta salada-madurada y tiene un rol fundamental en su apariencia y aceptabilidad. Hasta el momento, la Tabla de Evaluación Sensorial desarrollada por Filsinger y col. (1982) ha sido ampliamente aceptada y empleada para caracterizar este atributo a lo largo de la maduración. La medición instrumental del color permitiría realizar una evaluación objetiva del mismo, sin necesidad de contar con un panel de jueces entrenados. Por lo tanto, en forma complementaria se realizó la medición de color en muestras con distinto tiempo de maduración mediante un colorímetro a fin de correlacionar los valores obtenidos con la evaluación sensorial.

Las mediciones de color superficial se llevaron a cabo sobre la cara interna del filete, en la zona ventral y en la zona ubicada a 1 cm de la cola. Los valores presentados son el promedio de las mediciones efectuadas sobre cinco filetes distintos seleccionados al azar por cada muestra. Para ello, se utilizó un colorímetro triestímulo (Nippon Deshoku® NR-3000, Tokyo, Japón) con iluminante D_{65}, observador estándar de 2º y escala de color CIELab (CIE, 1976). En este espacio de color, *L** indica luminosidad y *a** y *b** son las coordenadas de cromaticidad. La coordenada *L** varía entre -100 (negro) y +100 (blanco), *a** toma valores entre -60 (azul) y +60 (amarillo) y *b** también varía entre -60 (verde) y +60 (rojo).

Las diferencias individuales en los valores L^*, a^* y b^* con respecto a una muestra de Referencia se calcularon según la **Ecuación II.9** (CIE, 1978).

$$\Delta E = \sqrt{\left(L^* - L_r^*\right)^2 + \left(a^* - a_r^*\right)^2 + \left(b^* - b_r^*\right)^2} \qquad \textbf{Ec. II.9}$$

donde el subíndice *r* corresponde a los parámetros de la muestra de referencia.

II.2.7 Medición instrumental de textura

La textura es una manifestación sensorial y funcional de las propiedades estructurales, superficiales y mecánicas de los alimentos detectadas por el sentido del tacto, la vista y el oído. Estas propiedades resultan de una combinación de características físicas y químicas, que incluyen la forma, tamaño, número, naturaleza y disposición de los elementos estructurales constituyentes de los alimentos. La medida de la textura depende principalmente de la percepción de la respuesta del alimento cuando actúan sobre él determinadas fuerzas durante la masticación o la manipulación previa a la ingestión (Szczesniak, 2002).

Este atributo se ve modificado durante el proceso y caracteriza al producto en su punto óptimo de maduración. Hasta el momento, el estudio de la textura de la anchoíta salada-madurada se ha limitado al uso de la Tabla de Evaluación Sensorial desarrollada por Filsinger y col. (1982). En ésta, se describe la evolución de este atributo a lo largo de la maduración (además de sabor, aroma, color y adherencia al espinazo), empleando los descriptores “húmeda” y “muy elástica” para la anchoíta fresca y “no elástica” y “firme y resistente al tacto” para el producto en su punto óptimo de maduración. Al igual que con la medición de color, se pretende correlacionar la medición instrumental de la textura con la evaluación sensorial, lo cual permitiría evaluar el producto sin necesidad de contar con un panel entrenado.

La metodología utilizada para el estudio de la textura no se encuentra estandarizada para los distintos productos por lo que puede hallarse en la bibliografía una amplia variedad en lo que respecta a tipos de ensayos. Si bien no existen antecedentes en la medición instrumental de la textura de este producto, existen estudios realizados en otros productos pesqueros donde fueron aplicadas diferentes metodologías (Hyldig y Nielsen, 2001). Para enumerar algunos ejemplos, Sigurgisladottir y col. (2000) estudiaron la textura en salmón ahumado mediante ensayos de corte con cuchilla. Por otra parte, Casas y col. (2006) estudiaron la textura en distintas zonas del filete de salmón de mar mediante ensayos de corte con distintas probetas y Análisis del Perfil de Textura (TPA) y finalmente, Corzo y col. (2006a) estudiaron la evolución de la firmeza durante la

deshidratación osmótica de láminas de sardina (*Sardinella aurita*) mediante ensayos de compresión.

En el presente trabajo de Tesis se evaluó la textura de la anchoíta salada-madurada mediante una metodología de ensayo de corte o cizalla. Para el ensayo, se utilizó un Analizador de Textura TA-TX2i (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK), equipado con una celda de carga de 25 kg y controlado por el software Texture Expert®. La sonda utilizada fue una cuchilla con las siguientes características: espesor=3 mm, ancho=70 mm. Los parámetros del ensayo fueron: velocidad pre y post-ensayo 3 mm/seg, velocidad de ensayo 0,5 mm/seg, distancia 20,0 mm. Las determinaciones se realizaron sobre filetes de anchoíta con distinto grado de maduración, los cuales fueron cortados a una longitud uniforme de 10 cm y colocados en la platina del instrumento, de forma tal que fueran cortados por la cuchilla en forma transversal. A partir de las curvas de fuerza de corte en función del tiempo obtenidas (**Figura II.1**) se calculó la fuerza máxima de corte (FMC) como el punto máximo de la curva, la energía absorbida (A) como el área bajo la curva y la pendiente (*e*). Los parámetros obtenidos a partir de este ensayo se relacionan con la firmeza, el trabajo necesario para cortar el alimento y la elasticidad, respectivamente (Bourne, 1978). Los resultados presentados son el promedio de 10 repeticiones.

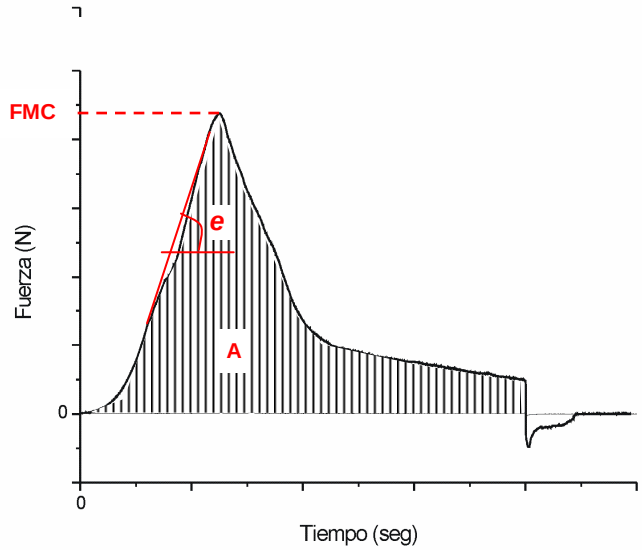

Figura II.1 Gráfico típico obtenido para un ensayo de corte

II.2.8 Análisis microbiológico

El estudio de la microflora se realizó sobre dos experiencias de salado-madurado. Se estudió el lote 05t-P140-T20 (Experiencia 1) y los lotes 07t-P80-T15 y 07F-P80-T15, correspondientes a la Experiencia 3 en la cual se utilizó el corte tradicional y filetes (Ver **Tabla II.2**). Se llevó a cabo el análisis microbiológico de esta última, a fin de evaluar la influencia de la presencia de las vísceras sobre la microflora presente durante el salado-madurado. En ambos casos, para el análisis microbiológico se tomó cada muestra de una lata intacta, es decir de una lata no abierta previamente a fin de evitar su posible contaminación.

II.2.8.1 Preparación de la muestra

Se extrajeron muestras del producto en diferentes estadios de maduración contenido en las latas, en forma aséptica.

Previo a la siembra para el recuento en placa de bacterias halófilas, se realizó un pre-enriquecimiento para recuperación de formas injuriadas. Para ello, se preparó un homogenato con 10 g de músculo, procedente de 6-8 anchoítas diferentes y 90 mL de caldo sal estéril (extracto de carne, 3 g/L; peptona, g/L; NaCl, 150 g/L; ICMSF, 1983), el cual fue incubado a 35-37 ºC durante 30 min. A partir de la muestra homogeneizada (suspensión madre de dilución 10^{-1}), se prepararon diluciones decimales seriadas.

II.2.8.2 Recuentos microbianos

La determinación del número de microorganismos o unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (ufc/g), se realizó en función del tipo de microorganismo, mediante el recuento de placa sembrada en masa o en superficie. El cálculo de recuentos microbianos se realizó a partir del número de colonias desarrolladas en la placa, teniendo en cuenta tanto el factor de dilución como el volumen del inóculo sembrado en cada caso.

II.2.8.2.1 Metodología implementada en la Experiencia 1

En esta Experiencia se buscó determinar la facilidad de crecimiento o no de los grupos bacterianos presentes en función de la concentración salina del medio. Dado que es esperable que las bacterias presentes en el producto sean del tipo halófilas, se utilizó el medio de cultivo Gibbons, el cual posee la siguiente formulación: $MgSO_4.7H_2O$, 20 g/L; KCl, 2 g/L; citrato trisódico, 3 g/L; extracto de levadura, 10 g/L; peptona ácida de caseína, 7,5 g/L; agar, 20 g/L; Fe^{2+}; 10 ppm; Mn^{2+}; 0,1 ppm; adicionando **30**, **50**, **70**, **100**, **150** y **200 g/L de NaCl** respectivamente. Este medio de cultivo provee los nutrientes necesarios para el crecimiento de halófilas moderadas y también extremas (pertenecientes al grupo *Archaeobacteria*), las cuales requieren KCl -acumulado dentro de la célula para compensar la alta concentración salina del medio en el cual se desarrollan- y el catión Mg^{2+} para mantener la integridad de la pared celular (Holt, 1989). A su vez, el medio Gibbons ha sido exitosamente utilizado en el estudio de la incidencia de bacterias halófilas extremas en anchoíta salada-madurada con resultados, en cuanto al tiempo requerido para obtener recuentos positivos, similares a otros medios de cultivo que presentan una mayor complejidad en su preparación (Yeannes y col., 2003 y 2005, Félix y col., 2007 y 2008; Félix y col., en prensa).

Una vez fraccionado el medio en placas de Petri, se sembró en superficie, por duplicado, 0,1 mL de las diluciones decimales adecuadas, el cual se diseminó con la ayuda de una espátula de Drigalsky estéril hasta su absorción en el medio. Las placas fueron incubadas en estufa a 35-37 ºC hasta observar crecimiento. Se realizó el recuento de colonias desarrolladas en el medio Gibbons a cada concentración de sal.

II.2.8.2.2 Metodología implementada en la Experiencia 3

Dentro del grupo de las bacterias halófilas se encuentran los Micrococos y Estafilococos, los cuales presentan una alta tolerancia a la salinidad. El objetivo en este caso fue determinar la presencia de halófilas en general y particularmente, de estos géneros durante el proceso de maduración de la anchoíta.

Cocos Gram-positivos catalasa-positivos (Micrococos y estafiilococos)

Para el recuento de estos géneros se preparó un homogenato con 10 g de muestra, procedente de 6-8 anchoítas distintas, con 90 mL de agua peptonada estéril (ICMCF, 1983). A partir del mismo se obtuvieron las diluciones seriadas sucesivas.

La enumeración se llevó a cabo en el medio de cultivo selectivo y diferencial Agar Manitol Salado (Manitol Sal Agar, MSA, Britania), el cual posee 7,5 % de NaCl. Se sembró en superficie un inóculo de 0,1 mL, el cual fue diseminado con un asa de vidrio estéril. Las placas sembradas se incubaron a 35-37 ºC en condiciones de aerobiosis durante 48-72 horas.

Medio Gibbons con 15 y 20 % NaCl

Se sembraron diluciones de las muestras homogeneizadas en medio Gibbons 15 y 20 % de NaCl, según lo detallado en la **Sección II.2.8.2.1.** Las placas fueron incubadas a 35-37 ºC hasta observar crecimiento.

II.2.8.3 Aislamiento e identificación de cepas

II.2.8.3.1 Aislamiento y conservación de las cepas bacterianas

Se procedió al aislamiento de las colonias representativas a fin de determinar su capacidad proteolítica, lipolítica, de histidina-descarboxilasa y de degradación del OTMA, las cuales podrían tener incidencia directa sobre el proceso de maduración. Además, con el objetivo de llevar a cabo cuando fuera posible, la identificación de los microorganismos presentes durante la maduración de la anchoíta. La selección de las colonias se realizó en base al color de las mismas y a los siguientes caracteres morfológicos: tamaño, forma, borde, perfil y superficie.

Las colonias seleccionadas se sembraron en estría por agotamiento en medio Gibbons con una concentración salina igual a la del medio del cual fueron

aisladas. Posteriormente se obtuvieron los cultivos puros en caldo Gibbons, de composición idéntica a la del medio sólido, pero sin agar. Los cultivos se mantuvieron bajo refrigeración a 4 ± 1 ºC hasta su utilización para las pruebas bioquímicas de caracterización e identificación y para la determinación de su capacidad proteolítica, lipolítica, aminoácido descarboxilasa y OTMA reductasa *in vitro*.

II.2.8.3.2 Caracterización de las cepas

Cabe mencionar que se agregó KCl y Mg^{2+} a la formulación de todos los medios de cultivo utilizados a fin de cubrir los requerimientos de las bacterias halófilas extremas (**Sección II.2.8.2.1**). Además, fueron preparados con 3, 5, 7, 10, 15 y 20 % de NaCl, respectivamente, a fin de respetar la concentración salina del medio a partir del cual fue aislado cada cultivo puro.

Morfología microscópica

Se utilizó la tinción de Gram para clasificar las cepas aisladas en Gram-positivas y Gram-negativas (Merck, 1994). Para ello se preparó un frotis a partir del cultivo puro utilizando una solución de ácido acético al 2 % en lugar de agua, debido a la fragilidad osmótica de las células de las bacterias halófilas (Holt, 1989). Se estudió, a su vez, la morfología (cocos, bacilos) y tipo de agrupación celular mediante la observación al microscopio de la preparación anterior.

Movilidad

Se determinó por siembra en agar blando (ICMSF, 1983). Los tubos se inocularon por punción y se incubaron a 35-37 ºC. Se consideró positivo el ensayo en el cual se observa difusión lateral alrededor de la picadura central de la siembra.

II.2.8.3.2.1 Pruebas bioquímicas para la identificación

Se llevaron a cabo las siguientes pruebas bioquímicas:

Presencia de citocromo-oxidasa

Para determinar si los microorganismos aislados presentan la enzima citocromo-oxidasa, se parte de colonias de un cultivo puro en un medio nutritivo. En un tubo de hemólisis se colocó una suspensión densa del cultivo analizado, en aproximadamente 0,2 mL de H_2O destilada. Posteriormente, se colocó en cada tubo un disco de oxidasa conteniendo oxalato de tetrametil-p-fenilendiamina (Oxoid). Se consideró positivo el ensayo por la inmediata aparición del color rosado intensificado a fucsia.

Presencia del enzima catalasa

La catalasa es una enzima que cataliza la descomposición de H_2O_2 en H_2O y O_2. Para determinar su presencia, se extrajo material de la colonia con un ansa y se lo suspendió sobre agua oxigenada 10 volúmenes sobre portaobjetos. Se consideró el ensayo positivo cuando se observa la producción de burbujas (ICMSF, 1983).

Reducción de nitratos

Para esta determinación se incubaron los cultivos puros en un caldo con nitrato potásico (Mc Faddin, 1980) hasta obtener un buen crecimiento. Posteriormente, se añadió a cada tubo 1 mL de una solución de ácido sulfanílico al 0,8% p/v en ácido acético 5 N, se homogeneizó, agregándose luego una solución de α-naftilamina al 0,5% p/v en ácido acético 5 N. La aparición de una coloración rosa, roja o castaña antes de transcurridos los 30 segundos a partir del goteo se consideró como positiva para la presencia de nitritos.

Utilización del citrato

Esta prueba permite la detección de microorganismos capaces de utilizar el citrato como única fuente de carbono. Se prepararon tubos inclinados conteniendo medio sólido citrato de Simmons (Britania). Los tubos fueron sembrados por estriado e incubados a 35-37 ºC. Se consideró la reacción positiva al observar un cambio de color del indicador del verde al azul, debido a la alcalinización del medio provocada por la utilización del citrato.

Oxidación y/o fermentación de la glucosa

Para esta determinación, se prepararon tubos conteniendo 10 mL de medio OF (Merck) semisólido y se inocularon por punción dos tubos por cada cultivo en estudio. Efectuada la inoculación, uno de cada par de tubos fue cubierto con 2 cm de vaselina estéril, incubándose a 35-37º C. El cultivo fue considerado anaerobio facultativo cuando se observó producción de ácido (señalado por el viraje amarillo del indicador de pH) en ambos tubos. Por el contrario, si el ácido fue producido sólo en el tubo aerobio, o en la superficie del tubo de anaerobiosis, el cultivo se consideró aerobio.

Pruebas en agar hierro triple azúcar

El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite investigar la capacidad microbiana de producción de ácido y gas a partir de glucosa, lactosa y sacarosa. Asimismo, permite la identificación de la producción de H_2S. Mediante esta prueba es posible diferenciar entre bacterias fermentadoras de los distintos azúcares y además bacterias productoras de H_2S, a partir de sustancias orgánicas que contengan azufre (tiosulfato de sodio). La fermentación de los azúcares da lugar a la formación de ácido, el cual se detecta por medio del viraje del indicador (rojo de fenol) al amarillo. La producción de H_2S se detecta mediante la aparición de un color negro en la zona de siembra debido a la formación de sulfuro de hierro. Para la determinación se prepararon tubos inclinados conteniendo el medio TSI (Britania), los cuales se inocularon por punción y por estría en superficie. Los tubos fueron incubados a 35-37 ºC. Se registró la producción de gas y coloración del medio en el fondo del tubo y en el pico. Los resultados se interpretaron de la siguiente forma:

- Pico alcalino/fondo alcalino: no hay fermentación de azúcares
- Pico alcalino/fondo ácido: fermentación de glucosa
- Pico ácido/fondo ácido: Glucosa y lactosa y/o sacarosa fermentadas

II.2.8.3.2.2 Presencia de exoenzimas microbianas

Se estudio la capacidad proteolítica, lipolítica, histidina-descarboxilasa y de

degradación del OTMA de las cepas aisladas.

Actividad proteolítica

Se determinó mediante siembra en agar leche (FIL IDF 73, 1974: extracto de levadura, 3 g/L; peptona de carne, 5 g/L, agar, 15 g/L), al cual se le agregó NaCl, KCl y sal de Mg^{2+}. Una vez esterilizado el medio, se adicionó 1 mL de solución de leche descremada estéril al 10 % por placa. Las placas se dividieron en cuadrantes, sembrándose por estriado en superficie hasta cuatro cultivos puros por placa. Las placas fueron incubadas a 35-37 ºC hasta la obtención de un buen desarrollo, considerando el ensayo positivo cuando fue posible observar aureolas o zonas claras alrededor de las colonias desarrolladas.

Actividad lipolítica

Para estudiar la actividad lipolítica de las distintas cepas aisladas se utilizó un medio sólido conteniendo tributirina (FIL IDF 73, 1974), suplementado con NaCl, KCl y sal de Mg^{2+}. Las placas se dividieron en cuadrantes, se sembraron por estriado en superficie y fueron incubadas a 35-37 ºC hasta observar crecimiento. Se consideró el ensayo positivo con la aparición de un halo más claro alrededor de las colonias.

Capacidad histidina-descarboxilasa

Se determinó la capacidad histidina-descarboxilasa de los cultivos puros mediante la siembra en el medio diferencial de Niven (Niven et al., 1981), el cual contiene los aminoácidos precursores, en este caso la histidina. Para cubrir los requerimientos de las halófilas se agregaron las sales de Mg^{2+}, K^{+} y NaCl. Las placas se dividieron en cuadrantes y se sembraron por estriado en superficie. Se incubaron en estufa a 35-37 ºC hasta observar crecimiento. Las reacciones de descarboxilación de los aminoácidos están acompañadas por un aumento del pH, debido a la basicidad de las bases formadas. El medio en el cual son inoculadas las bacterias contiene como indicador de pH púrpura de bromocresol, el cual presenta un color púrpura a pH neutro y amarillo a un pH menor a 5,8. El pH del medio de cultivo es de 5,3 por lo que se considera positiva la colonia que produce un viraje del medio hacia el violeta.

Capacidad OTMA-reductasa

A fin de estudiar la capacidad de reducir el OTMA de las cepas aisladas se utilizó un medio semisólido con la siguiente composición: peptona bacteriológica o de carne, 20 g/L; extracto de carne, 3 g/L; extracto de levadura, 3 g/L; NaCl, 150 y 200 g/L; KH_2PO_4, 4 g/L; K_2HPO_4, 5,75 g/L; $MgSO_4$, 0,5 g/L; rezasurín, 0,001 g/L; Agar, 4 g/L (pH 6,8). Una vez esterilizado el medio, se dejó enfriar por debajo de los 45 ºC, se agregó OTMA, 5 g/L y se fraccionó en tubos de 5 mL. Los tubos fueron inoculados por punción y cubiertos con 1 mL de vaselina (2 partes de vaselina + 1 parte de parafina) e incubados a 35-37 ºC. La reducción microbiana del OTMA se manifiesta mediante el viraje del medio a un color amarillo.

II.2.9 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de dos vías a fin de determinar la existencia de diferencias entre los lotes y el efecto del tiempo de maduración sobre los distintos parámetros estudiados. En aquellos casos en los cuales se observaron diferencias estadísticamente significativas, se utilizó a posteriori un test de comparaciones múltiples (test de Tukey). Los resultados experimentales se procesaron con STATISTICA 5.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, USA).

Capítulo III

Estudio de la deshidratación osmótica de anchoíta (E. anchoita) durante la etapa de presalado

El presalado (salado por vía húmeda) es la primera etapa del proceso de elaboración de la anchoíta salada-madurada, en la cual es posible efectuar modificaciones significativas en las variables operativas que incidan sobre las características y calidad del producto final.

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos para las diferentes experiencias de salado por vía húmeda realizadas, en cuanto a la evolución del contenido de agua y de NaCl en función del tiempo. A su vez, se analiza el efecto de la temperatura, el contenido de lípidos de la materia prima fresca y el tipo de corte utilizado sobre la cinética de deshidratación osmótica, así como aspectos relativos a las condiciones de equilibrio. Por último, se evalúa la aplicación de los modelos de Peleg y de Zugarramurdi y Lupín para describir la cinética del proceso y su capacidad predictiva para los valores de equilibrio.

III.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

En la **Tabla III.1** se presenta la composición química proximal y el contenido inicial de NaCl de la materia prima utilizada en cada experiencia de salado. La anchoíta fresca presentó diferencias significativas en el contenido de lípidos y de agua ($p < 0,01$), mientras que se determinaron niveles similares de proteínas y de cenizas entre los distintos lotes estudiados. La información obtenida en relación a la composición se encuentra dentro del rango de los valores disponibles en la bibliografía para esta especie (Ver **Tabla I.2**). Cabe señalar que el contenido de lípidos se encuentra estrechamente relacionado con la condición biológica en las especies pelágicas. Además, las variaciones en el mismo tienen influencia sobre el procesamiento (Huss, 1999). Por tal motivo, se considera que el tenor graso es una variable intrínseca cuyo efecto debe ser evaluado.

Tabla III.1 Composición de la anchoíta fresca utilizada en las distintas experiencias de salado

	Composición (g/100g$_{bh}$)				
	Agua*	**Lípidos***	**Proteínas**	**Cenizas**	**NaCl**
Experiencia 1	71,86^{a} ± 0,35	7,76^{a} ± 0,17	18,79 ± 0,85	1,46 ± 0,01	0,13 ± 3,5 x 10^{-5}
Experiencia 2	72,45^{a} ± 0,24	6,82^{b} ± 0,12	18,90 ± 0,46	1,48 ± 0,02	0,13 ± 9,4 x 10^{-5}
Experiencia 3	75,66^{b} ± 0,70	2,69^{c} ± 0,15	19,80 ± 0,87	1,56 ± 0,03	0,23 ± 5,6 x 10^{-3}
Experiencia 4	75,21^{b} ± 0,10	3,75^{d} ± 0,33	19,45 ± 0,50	1,52 ± 0,06	0,37 ± 4,0 x 10^{-3}

Se presenta el valor medio ± desviación estándar
* Presentan variaciones significativas. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p < 0,01)

En la **Tabla III.2** se presentan los códigos correspondientes a los distintos lotes y las variables operativas asociadas, definidos previamente en la **Sección II.1.2.**

Tabla III.2 Codificación de los distintos lotes evaluados

	LOTE	Lípidos (g/100g)	Corte	Temperatura (ºC)
Experiencia 1	776-E-T5	7,76	Entero	5 ± 1
	776-E-T8			8 ± 1
	776-E-T15			15 ± 1
	776-E-T18			18 ± 1
Experiencia 2	682-E-T8	6,82	Entero	8 ± 1
	682-E-T10			10 ± 1
	682-E-T18			18 ± 1
	682-E-T21			21 ± 1
Experiencia 3	269-E-T10	2,69	Entero	10 ± 1
	269-E-T18			18 ± 1
	269-E-T25			25 ± 1
	269-E-T35			35 ± 1
Experiencia 4	375-E-T15	3,75	Entero	15 ± 1
	375-H&G-T15		H&G	
	375-F-T15		Filete	

III.2 TRANSFERENCIA DE MASA DURANTE EL PRESALADO

En las **Figuras III.1**, **III.2**, **III.3** y **III.4** se presentan los resultados obtenidos para la evolución del contenido de agua (X_w) y de sal (NaCl) (X_s) durante el presalado en los distintos lotes estudiados. A tal efecto, se llevó a cabo un análisis de varianza y de comparación de medias a fin de determinar la influencia del tiempo, la temperatura y los cortes sobre el contenido de agua y de sal. En base a los resultados obtenidos, el efecto de las variables temperatura y tipo de corte es altamente significativo sobre el contenido de agua y de sal en función del tiempo ($p < 0,001$). A su vez, se detectó interacción entre la temperatura o tipo de corte y el tiempo de salado ($p < 0,001$).

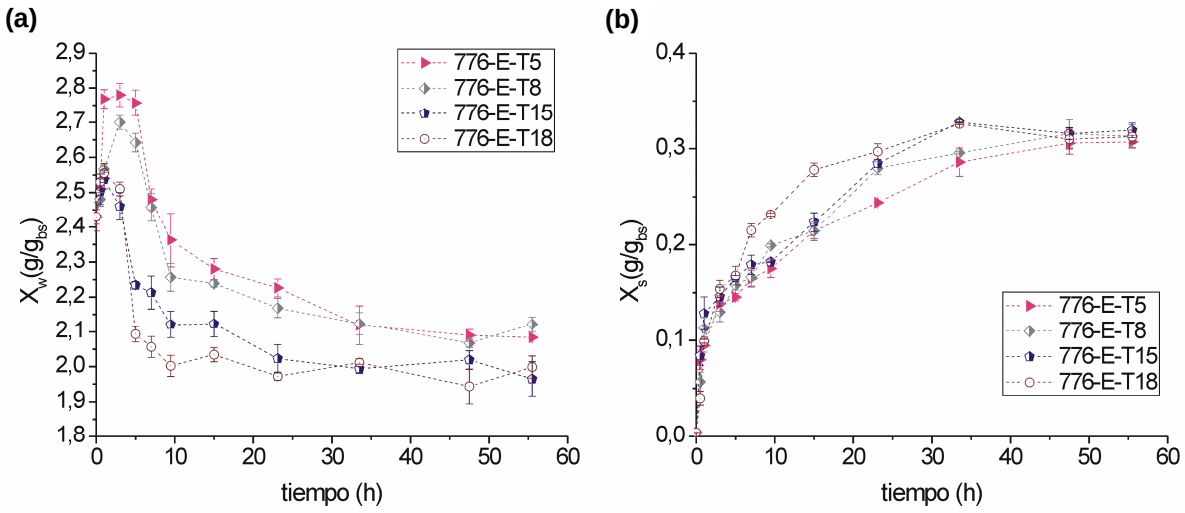

Figura III.1 Evolución del contenido de agua (X_w) y de NaCl (X_s) durante el presalado de anchoíta entera con 7,75 % de lípidos a distintas temperaturas

(Experiencia 1)

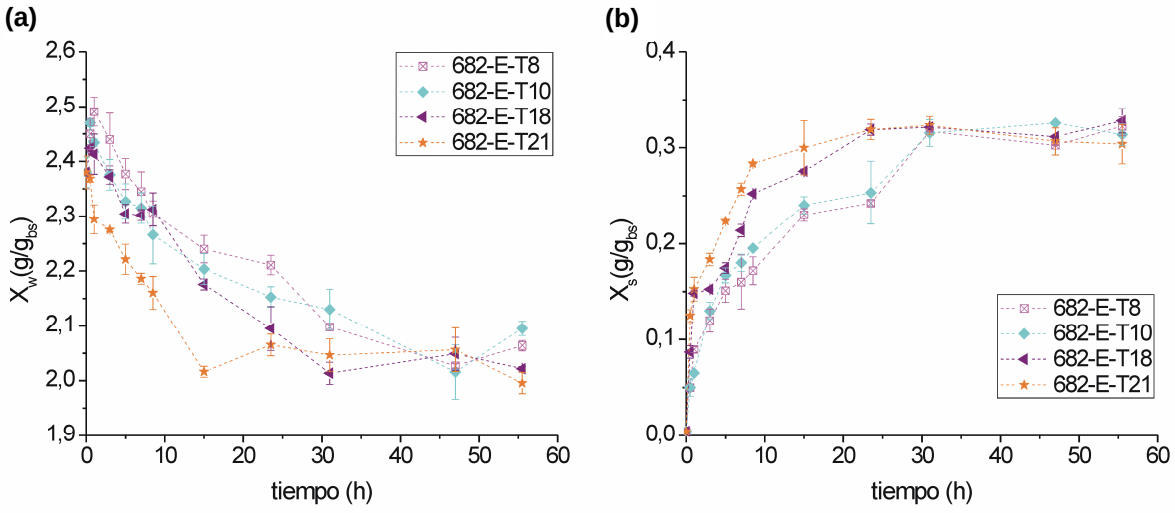

Figura III.2 Evolución del contenido de agua y de (X_w) y de NaCl (X_s) durante el presalado de anchoíta entera con 6,82 % de lípidos a distintas temperaturas (Experiencia 2)

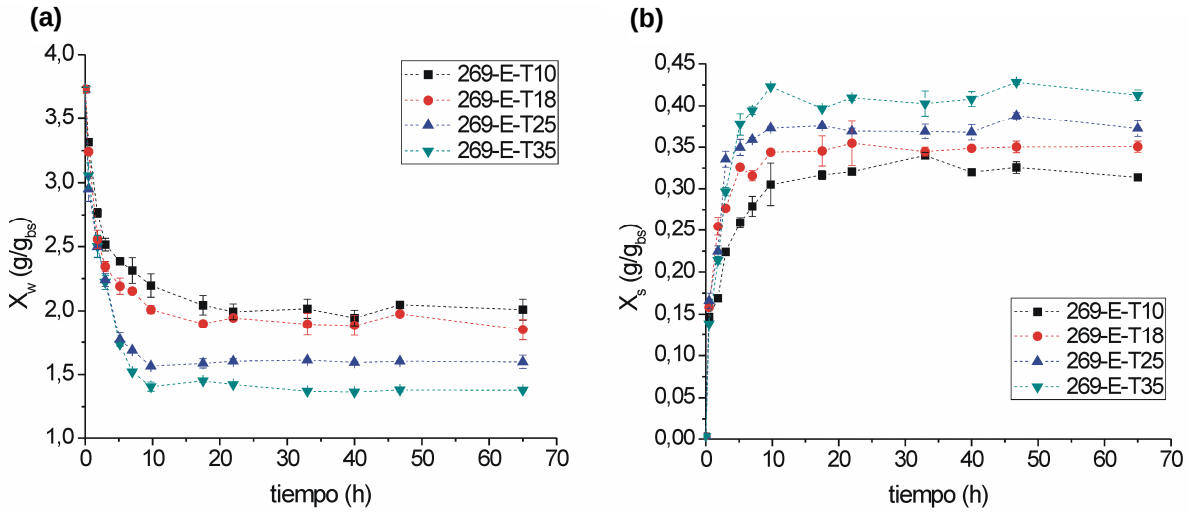

Figura III.3 Evolución del contenido de agua y de (X_w) y de NaCl (X_s) durante el presalado de anchoíta entera con 2,69 % de lípidos a distintas temperaturas (Experiencia 3)

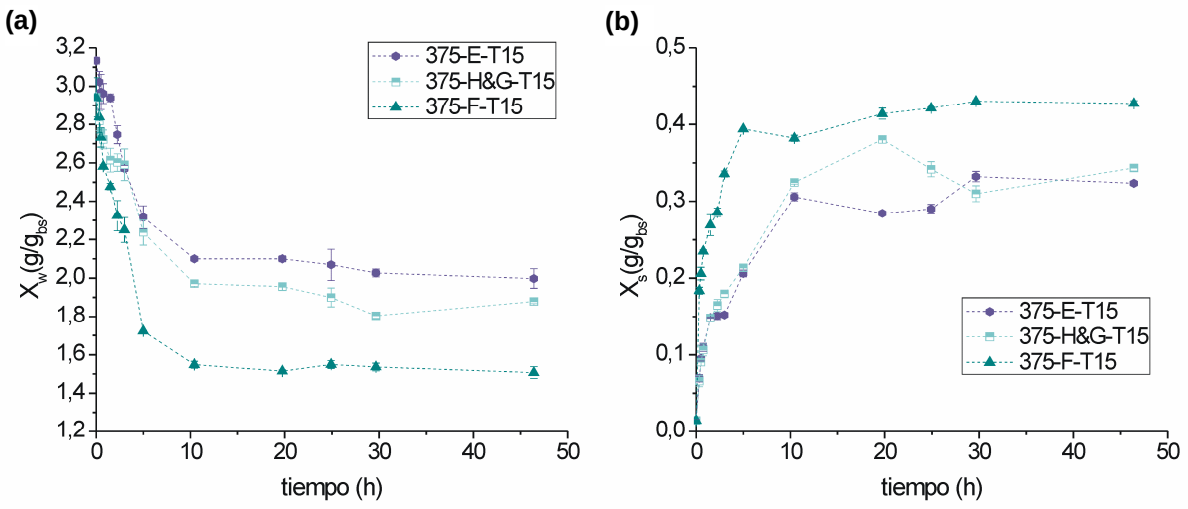

Figura III.4 Evolución del contenido de agua y de (X_w) y de NaCl (X_s) durante el presalado de distintos cortes de anchoíta (entero, H&G, filetes) con 3,75 % de lípidos a 15 ºC (Experiencia 4)

En todos los lotes estudiados, se observa que las curvas de contenido de sal en función del tiempo presentaron el comportamiento característico de un proceso de absorción, con un acercamiento exponencial a los valores de equilibrio. Sin embargo, en los lotes correspondientes a las Experiencias 1 y 2 (**Figuras III.1** y **III.2**), se visualiza un incremento durante las primeras horas en el contenido de agua respecto de su tenor inicial (**Figuras III.1 a y III.2 a**). Este comportamiento se debe al "*swelling*" o hinchamiento de las proteínas, el cual es provocado por la inmersión del músculo en soluciones salinas con contenidos de NaCl mayores a su fuerza iónica (Hamm, 1961; Cabrer y col., 2002; Gou y col., 2003; Schmidt y col., 2009). Hamm (1961) ha determinado que el anión Cl^- es un promotor del "*swelling*", por lo cual el tratamiento del músculo con soluciones de NaCl produce un aumento en su capacidad de retención de agua. De acuerdo a Offer y Trinick (1983), este fenómeno está dado por la unión del anión Cl^- a los filamentos de actina y de miosina, provocando un incremento en las cargas negativas y consecuentemente, un aumento en las fuerzas de repulsión, lo cual

lleva al hinchamiento del músculo (**Figura III.5**). Al aumentar la concentración de NaCl a valores mayores al 6 % (1 M), el músculo se encoge y reduce su capacidad de retención de agua (*salting out*), lo cual de acuerdo a Lawrie (2005) y Schmidt y col. (2008) se debe a la depolimerización de los filamentos gruesos de la miosina. En el presente trabajo de Tesis, el aumento en el contenido de agua durante las primeras horas de tratamiento ha sido observado en los lotes con un mayor tenor graso a bajas temperaturas, siendo ambos, factores los que retrasan la velocidad de transferencia de masa. En cuanto al efecto del contenido de lípidos, los mismos se encuentran formando parte del músculo y una capa subcutánea (Huss, 1999; Casales y col., 1992), constituyendo una barrera a la difusión tanto del agua hacia el exterior como de la sal hacia su interior (Collignan y col., 2001). En tal sentido, Gallart-Jornet y col. (2007a) realizaron un estudio comparativo del salado de una especie magra (bacalao, *Gadus morrhua*) y de una especie grasa (salmón de mar, *Salmo salar*), determinando en esta última una menor velocidad de transferencia masa. Los autores mencionan que la grasa constituye un factor limitante para la penetración de la sal, ya sea debido a que ésta reemplaza la fase acuosa -que sirve de vector para la transferencia de masa- o debido a que puede representar una barrera física. Por otra parte, el incremento de la temperatura no sólo puede acelerar la velocidad de difusión del agua y de la sal (Corzo y Bracho, 2004 y 2007; Bellagha y col., 2007; Gallart-Jornet y col., 2007a; Boudhrioua y col., 2009; Nguyen y col., 2010), sino que también produciría un cambio en la propiedades viscoelásticas de la matriz sólida, resultando en un ablandamiento de la estructura (Chiralt y col., 2001). Adicionalmente, el aumento de la temperatura reduce la viscosidad de la solución osmótica, favoreciendo la difusión de los solutos. En base a lo expuesto, resulta lógico que en los lotes de menor contenido de lípidos no se haya manifestado el "*swelling"* ya que los mismos alcanzan más rápidamente una concentración de NaCl en el músculo superior a 1 M, concentración a la cual se reduce abruptamente su capacidad de retención de agua.

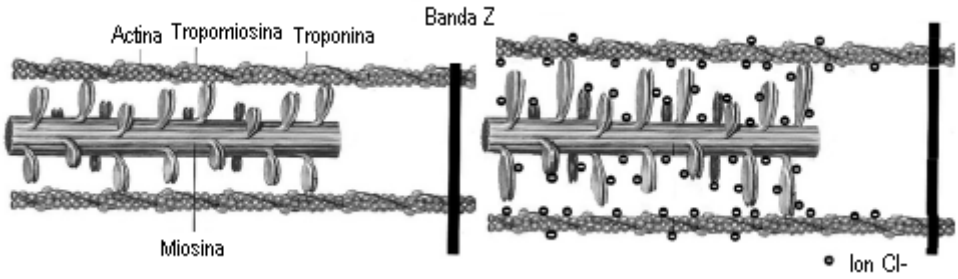

Figura III.5 Formación del complejo anión Cl^- - proteínas miofibrilares relacionado con el incremento en la capacidad de retención de agua del músculo.

Fuente: Schmidt y col. (2008)

Por otra parte, la dinámica de ganancia de sal y de pérdida de agua exhibe diferencias interesantes en función del tipo de corte utilizado. Como puede verse en la **Figura III.4**, el lote 375-F-T15 (filetes) presenta una mayor pendiente al inicio del proceso de salado que los lotes 375-H&G-T15 (pescado H&G) y 375-E-T15 (pescado entero), indicando una mayor velocidad inicial de transferencia de sal y de agua. Este comportamiento puede ser explicado en base al análisis de los siguientes factores: a) las piezas del lote 375-F-T15 (filetes) tienen la mitad del espesor que las de los lotes 375-H&G-T15 y 375-E-T15 (pescado H&G y entero, respectivamente), lo que reduce la resistencia interna a la transferencia de masa dada por la longitud del camino difusivo (Rastogi y col., 2005); b) la relación área superficial-longitud característica (semiespesor) es mayor en el lote 375-F-T15, por lo tanto la velocidad de transferencia de agua y de sal aumenta (Rastogi y col., 2005) y c) los lotes 375-H&G-T15 y 375-E-T15 poseen la piel, la cual constituye una resistencia adicional a la transferencia de masa entre el músculo y la salmuera (Zugarramurdi y Lupín, 1980), mientras que en el lote 375-F-T15 la cara interna del filete se encuentra expuesta directamente facilitando el proceso difusivo. Además, los resultados del ANOVA muestran un incremento significativo del contenido de sal al inicio del presalado en los tres lotes mencionados, mientras que la reducción en el contenido de agua presenta un comportamiento diferente entre los lotes. Así, durante la primera 1,5 h la reducción en el contenido de agua resultó significativa sólo en el lote 375-F-T15 (filetes) ($p < 0,01$). Durante este periodo, la concentración de sal alcanzada fue de 0,87 y 0,99 M para los lotes 375-E-T15 y 375-H&G-T15, respectivamente. Estos valores se encuentran

dentro del rango de máximo "*swelling*" y capacidad de retención de agua (0,8–1 M) (Offer y Trinick, 1983), lo cual explicaría la retención de agua en los lotes citados. En el caso del lote 375-F-T15, el contenido de sal aumenta rápidamente superando el valor 1 M (t=0,3 h), momento a partir del cual se produce la desnaturalización de las proteínas musculares, resultando en la deshidratación del músculo (Offer y Trinick, 1983; Thorarinsdottir y col., 2002; Gallart-Jornet y col., 2007b).

III.3 ANÁLISIS DEL ESTADO DE EQUILIBRIO

A fin de determinar el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio, se estableció como condición que no hubiera variaciones significativas en el contenido de agua y de sal a través del tiempo ($p > 0,01$). De esta forma, se obtuvieron los tiempos de equilibrio para los distintos lotes estudiados, los cuales se presentan en la **Tabla III.3**. Se puede observar que el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio (t^{eq}) disminuye simultáneamente con el contenido de lípidos de la materia prima y también al aumentar la temperatura, para un mismo contenido de lípidos

Así, en el pescado entero se alcanzaron valores similares para el contenido de agua en el equilibrio, encontrándose los mismos dentro del rango 1,927-2,182 g/g_{bs} para una temperatura de 5 a 21 ºC. Por otra parte, los lotes 269-E-T25 y 269-E-T35, correspondientes a temperaturas de 25 y 35 ºC respectivamente, resultaron más deshidratados ($p < 0,01$). En cuanto al contenido de NaCl de equilibrio, los valores hallados no presentaron diferencias significativas entre lotes ($p > 0,01$), a excepción del lote 269-E-T35. De acuerdo a los resultados obtenidos, el contenido inicial de lípidos no constituiría un factor determinante en los contenidos de agua y de sal de equilibrio, al menos dentro del rango estudiado. Con respecto al efecto del tipo de corte, el lote 375-F-T15 presentó una mayor deshidratación en el equilibrio que 375-E-T15 y 375-H&G-T15, alcanzando un menor contenido de agua y un mayor contenido de sal ($p < 0,01$).

Tabla III.3 Valores relacionados al equilibrio para los distintos lotes

Lote	t^{eq} (h)	X_w^{eq}*	X_s^{eq}**	Y_s^{anch}	K_{eq}**	a_w^{anch}	a_w^{salm}	Proteínas*** (g/g_{bsc})
776-E-T5	33,5	2,157 ± 0,031[a]	0,300 ± 0,012[a]	2,376	0,555	0,849	0,854	0,47
776-E-T8	33,5	2,182 ± 0,029[a]	0,301 ± 0,017[a]	2,36	0,551	0,852	0,861	0,49
776-E-T15	33,5	2,025 ± 0,06[ab]	0,294 ± 0,043[a]	2,484	0,58	0,857	0,851	0,48
776-E-T18	23	1,992 ± 0,035[ab]	0,305 ± 0,018[a]	2,616	0,611	0,862	0,858	0,47
682-E-T8	31	2,063 ± 0,036[ab]	0,314± 0,010[a]	2,603	0,608	0,867	0,863	0,51
682-E-T10	23,5	2,092 ± 0,053[ab]	0,318 ± 0,007[a]	2,602	0,608	0,848	0,851	0,5
682-E-T18	23,5	2,045 ± 0,037[ab]	0,346 ± 0,059[ab]	3,225	0,754	0,838	0,845	0,49
682-E-T21	15	2,036 ± 0,029[ab]	0,310 ± 0,010[a]	2,608	0,609	0,853	0,848	0,51
269-E-T10	17	2,009 ± 0,038[ab]	0,360 ± 0,019[ab]	2,749	0,642	0,855	0,849	0,64
269-E-T18	9,75	1,927 ± 0,055[abc]	0,348 ± 0,004[a]	3,091	0,722	0,848	0,845	0,62
269-E-T25	5,15	**1,625 ± 0,064**[b]	**0,369 ± 0,011**[a]	3,888	**0,909**	0,812	0,807	0,57
269-E-T35	5,15	**1,447 ± 0,119**[c]	**0,406 ± 0,015**[b]	4,799	**1,121**	0,789	0,792	0,55
376-E-T15	19,75	2,048 ± 0,059[ab]	0,309 ± 0,022[a]	2,581	0,603	0,861	0,856	0,61
376-H&G-T15	10,42	1,902 ± 0,065[ab]	0,336 ± 0,034[a]	3,022	0,706	0,857	0,851	0,59
376-F-T15	5	1,563 ± 0,077[c]	0,412 ± 0,019[b]	4,51	1,054	0,792	0,787	0,48

*Fracción en peso de agua (X_w^{eq}) y sal (X_s^{eq}) sobre base seca. Valor promedio ± desviación estándar. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas entre lotes ($p < 0,01$)

** Concentración de la salmuera en el equilibrio igual a 4,28 ± 0,27 mol/lt.

*** Valores de proteína calculados tomando como base de cálculo $1-X_w-X_s$ (Base seca corregida)

La constante de equilibrio del sistema puede ser calculada en base a la relación entre la concentración de sal en el pescado y en la salmuera (Zugarramurdi y Lupín, 1976), de acuerdo a la **Ecuación III.1**.

$$K_{eq} = \frac{Y_s^{anch}}{Y_s^{salm}} \qquad \textbf{Ec. III.1}$$

donde: K_{eq}: constante de equilibrio

Y_s^{anch}: concentración molar de NaCl, considerada en verdadera solución en el contenido total de agua del pescado

Y_s^{salm}: la concentración molar de NaCl en la salmuera

Los valores obtenidos para la constante de equilibrio en anchoíta son presentados en la **Tabla III.3**. En pescado entero, K_{eq} se encuentra dentro del rango 0,551 - 1,121 y los mayores valores obtenidos (resaltados en la **Tabla III.3**) están asociados a las temperaturas más altas utilizadas. Por otra parte, la tendencia obtenida en las K_{eq} para los lotes correspondientes a la Experiencia 4, en la cual se evaluaron distintos tipos de corte, indica que a mayor superficie del músculo expuesta directamente a la salmuera, mayor es la concentración de sal alcanzable (lote 376-F-T15 -filetes- > lote 376-H&G-T15 -pescado H&G- > lote 376-E-T15 -pescado entero-). Así, los valores de equilibrio obtenidos para los distintos cortes concuerdan con datos bibliográficos para el salado de diferentes especies pesqueras. Zugarramurdi y Lupín (1976, 1980) estudiaron el salado mixto de anchoíta descabezada y eviscerada (H&G) y el salado húmedo de anchoíta entera, determinando que en el primer caso la K_{eq} se acerca al valor unitario, mientras que en el pescado entero alcanza un valor aproximado de 0,6. Para el caso de filetes de bacalao salados, se alcanzó en el músculo una concentración de sal en el equilibrio igual a la correspondiente a la salmuera externa ($K_{eq} \approx 1$), utilizando tanto salado por vía húmeda (salmuera saturada) como por vía seca (salado en pila) (Barat y col., 2003). Por otra parte, los valores de K_{eq} obtenidos durante la deshidratación osmótica de láminas de sardina en

salmuera de distintas concentraciones (0,15-0,27 g_{NaCl}/g) varían entre 0,85 y 1,96, de acuerdo a los resultados obtenidos por Corzo y Bracho (2005).

A fin de comprender las diferencias observadas en las constantes de equilibrio en función del tipo de corte debe tenerse en cuenta que, considerando el salado como un proceso de deshidratación osmótica, el equilibrio estaría dado estrictamente por la igualación de los potenciales químicos a ambos lados de la membrana, lo cual depende de la reducción de la a_w en el músculo (Ochoa Martínez y Ayala Aponte, 2005; Rastogi y col., 2005). Como puede observarse en la **Tabla III.3**, en el equilibrio la a_w en el músculo y en la salmuera toman valores similares para cada lote. La a_w del músculo se ve afectada no sólo por el contenido de sal sino también por la interacción sal-proteína y por la presencia de compuestos solubilizados. Durante el proceso de salado, el incremento de la concentración de NaCl dentro del músculo promueve la solubilización de parte de las proteínas, las cuales pueden ser expulsadas hacia la salmuera (Offer y Trinick, 1983; Barat y col., 2003). Considerando la Experiencia 4 (presalado de anchoíta con distintos cortes), hacia el final del salado la pérdida de proteínas resultó mayor en el lote 375-F-T15, comparado con los lotes 375-E-T15 y 375-H&G-T15 (contenido de proteínas en la materia prima fresca: 0,84 g/g_{bsc}) (Ver **Tabla III.3**). Por otra parte, en los lotes en los cuales se utilizó pescado entero la pérdida de proteínas se encuentra dentro del rango 0,22-0,25 g/g_{bsc}, considerando un contenido inicial de 0,71; 0,73 y 0,87 g/g_{bsc} para los lotes correspondientes a las Experiencias 1, 2 y 3 respectivamente. Estos resultados son consistentes con la hipótesis propuesta por Zugarramurdi y Lupín (1976, 1980), quienes expresan que en el pescado entero la difusión de las proteínas solubilizadas hacia la salmuera se dificulta debido a la presencia de la piel. Así, estas proteínas permanecen dentro del músculo ejerciendo un efecto osmótico adicional, el cual contribuye a la igualación de los potenciales. Este hecho lleva a que en el pescado entero, la concentración salina requerida en el músculo para alcanzar el equilibrio sea menor, resultando en una constante de equilibrio menor a la unidad. Ahora bien, en la **Tabla III.3** se encuentran resaltados dos valores de K_{eq} para pescado entero correspondientes a los lotes 269-T-T25 y 269-E-T35, los cuales resultaron mayores a los obtenidos para los otros lotes, superando uno de ellos la unidad. La diferencia observada en las K_{eq} puede deberse al menor contenido de agua de los

mismos en el equilibrio y en el caso del lote 269-E-T35 también a un mayor contenido de sal ($p < 0,01$). Este comportamiento puede atribuirse, en parte, a la reducción de la capacidad de retención de agua a mayores temperaturas debido a la desnaturalización térmica de las proteínas (Birkeland y col., 2005, Sankar y Ramachandran, 2005). En tal sentido, Sankar y Ramachandran (2005) han determinado una temperatura de desnaturalización cercana a 20 ºC en proteínas de carpa (citado por Corzo y col., 2007). Otro factor que contribuye a los valores de K_{eq} obtenidos es la mayor pérdida de proteínas en los lotes 269-T-T25 y 269-E-T35, en comparación con el resto de los lotes de pescado entero, debido probablemente a que las temperaturas relativamente elevadas promueven la degradación proteica y de la piel, la cual pierde su capacidad de barrera a la transferencia de masa.

III.4 PARÁMETROS DE LOS MODELOS DE PELEG Y DE ZUGARRAMURDI Y LUPÍN

De acuerdo a Turhan y col. (2002) el modelo de Peleg brinda la posibilidad de estimar los valores de equilibrio utilizando los datos experimentales obtenidos para un corto tiempo de salado. Sin embargo, en la literatura se pueden encontrar distintos criterios al momento de seleccionar el rango de datos experimentales a utilizar para la obtención de los parámetros del modelo (Peleg, 1988; Corzo y Bracho, 2006b; Khin y col., 2006; Khoyi y Hesari, 2007; Schmidt y col., 2009). Se debe considerar que el rango de datos seleccionado afecta no sólo a los valores de los parámetros k_1 y k_2 sino también al ajuste del modelo. En tal sentido, Turhan y col. (2002) han utilizado el modelo de Peleg para estudiar la absorción de agua en garbanzos, determinando una mejora en el ajuste del mismo al ampliar el rango de datos seleccionado. Asimismo, Sopade y col. (2007) han demostrado que los modelos de Peleg, Pilosof y Singh-Kulshrestha, aplicados a fenómenos de transferencia de masa, también son sensibles a la porción de la curva de sorción utilizada para el cálculo. Con respecto al modelo de Z&L, los autores incluyen los datos experimentales de equilibrio para obtener los parámetros (Zugarramurdi y

Lupín, 1977, 1980). No obstante, el criterio utilizado en otros trabajos donde se emplea este modelo no ha sido especificado (Bellagha y col., 2007; Corzo y Bracho, 2005; 2006a). Por ello, en el presente trabajo de Tesis, se han evaluado dos alternativas para la selección del rango de datos a utilizar en el cálculo de los parámetros del modelo: incluir los datos correspondientes al periodo dinámico (es decir, antes de ser alcanzado el equilibrio) o bien el conjunto completo de datos. A fin de determinar la opción más viable, se llevó a cabo este procedimiento con los datos experimentales obtenidos para los lotes 375-E-T15, 375-H&G-T15 y 375-F-T15 (Experiencia 4), permitiendo la evaluación del comportamiento de los modelos en función de los distintos cortes estudiados. En las **Tablas III.4** y **III.5** se presentan los valores de los parámetros ajustados mediante las **Ecuaciones II.1** y **II.5**, correspondientes a los modelos de Peleg y de Z&L respectivamente.

Los valores de R^2 superiores a 0,8232 indicaron que ambos modelos permiten explicar satisfactoriamente la cinética de salado. En base a los parámetros estadísticos R^2 y *RMSE*, el ajuste de ambos modelos mejora sustancialmente al utilizar para el cálculo el conjunto completo de datos experimentales, especialmente en lo referido a la pérdida de agua. Estos resultados concuerdan con los informados en diversos trabajos relativos al modelo de Peleg (Turhan y col., 2002; Sopade y col., 2007) y confirman un comportamiento análogo para el modelo de Z&L. En consecuencia, el cálculo de los parámetros para los lotes restantes se efectuó a partir del conjunto completo de datos, presentándose los resultados obtenidos en las **Tablas III.6** y **III.7**. Los valores de R^2 y *RMSE* obtenidos en este caso indican también que ambos modelos pueden describir adecuadamente la transferencia de agua y de sal durante el salado. En el caso de los lotes 776-E-T5 y 776-E-T8 se obtuvieron menores valores de R^2, lo cual puede ser atribuido al fenómeno de "*swelling*", el que se manifiesta en los mismos al comienzo del proceso de salado (Ver **Sección III.2)**. En términos generales, los valores de *RMSE* obtenidos para el ajuste del contenido de sal en función del tiempo fueron mayores que los correspondientes al contenido de agua.

Tabla III.4 Parámetros del modelo de Peleg para la transferencia de masa durante el salado húmedo de distintos cortes de anchoíta (lotes correspondientes a la Experiencia 4)

	Contenido de agua				Contenido de sal			
	Parámetros del modelo de Peleg		Parámetros estadísticos		Parámetros del modelo de Peleg		Parámetros estadísticos	
	k_1^w h $(g/g_{bs})^{-1}$	k_2^w $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)	k_1^s h $(g/g_{bs})^{-1}$	k_2^s $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)
Ajuste del modelo considerando datos experimentales del período dinámico								
375-E-T15	4,0415 ± 0,3424	0,5510 ± 0,0558	0,9596	11,89	8,0898 ± 1,2194	3,0651 ± 0,3012	0,9108	15,18
375-H&G-T15	3,9829 ± 0,7611	0,7873 ± 0,2300	0,8307	2,98	5,0609 ± 0,3388	4,1741 ± 0,1565	0,9869	17,79
375-F-T15	1,8785 ± 0,2603	0,8097 ± 0,1284	0,9357	13,65	1,0869 ± 0,1178	3,0104 ± 0,1084	0,9787	12,58
Ajuste del modelo considerando conjunto completo de datos experimentales								
375-E-T15	3,1876 ± 0,2572	0,7849 ± 0,0222	0,9668	2,72	8,0547 ± 0,8229	3,1029 ± 0,0981	0,9571	15,04
375-H&G-T15	3,6961 ± 0,3117	0,8009 ± 0,0247	0,9627	2,88	7,6267 ± 0,9256	2,8241 ± 0,1071	0,9433	12,47
375-F-T15	1,8536 ± 0,1448	0,6223 ± 0,0156	0,967	5,1	1,6594 ± 0,1353	2,4418 ± 0,0432	0,9694	8,13

Tabla III.5 Parámetros del modelo de Z&L para la transferencia de masa durante el salado húmedo de distintos cortes de anchoíta (lotes correspondientes a la Experiencia 4)

	Contenido de agua				Contenido de sal			
	Parámetros del modelo de Z&L		Parámetros estadísticos		Parámetros del modelo de Z&L		Parámetros estadísticos	
	k_w $(g/g_{bs})h^{-2}$	X_w^{eq} $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)	k_s $(g/g_{bs})h^{-2}$	X_s^{eq} $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)
Ajuste del modelo considerando datos experimentales del período dinámico								
375-E-T15	0,1902 ± 0,0236	1,9089 ± 0,0838	0,9628	3,86	0,3309 ± 0,0649	0,2893 ± 0,0247	0,8732	20,26
375-H&G-T15	0,2362 ± 0,1014	2,0108 ± 0,2624	0,8232	4,95	0,8435 ± 0,0830	0,2039 ± 0,0070	0,9733	24,81
375-F-T15	0,6070 ± 0,1302	2,1190 ± 0,0918	0,9361	24,89	2,2337 ± 0,2558	0,3012 ± 0,0096	0,9584	18,96
Ajuste del modelo considerando conjunto completo de datos experimentales								
375-E-T15	0,2254 ± 0,0133	2,0324 ± 0,0189	0,9776	1,96	0,2898 ± 0,0314	0,3074 ± 0,0091	0,9351	21,1
375-H&G-T15	0,3308 ± 0,0455	1,8000 ± 0,0448	0,8364	6,63	0,2781 ± 0,0304	0,3356 ± 0,0101	0,9382	18,83
375-F-T15	0,2806 ± 0,0143	1,5108 ± 0,0211	0,9813	3,16	0,9514 ± 0,1147	0,3995 ± 0,0108	0,9041	15,04

Tabla III.6 Parámetros del modelo de Peleg para la transferencia de masa durante el salado húmedo de anchoíta entera a diferentes temperaturas (lotes correspondientes a las Experiencias 1, 2 y 3)

	Contenido de agua				Contenido de sal			
	Parámetros del modelo de Peleg		Parámetros estadísticos		Parámetros del modelo de Peleg		Parámetros estadísticos	
	k_1^w h $(g/g_{bs})^{-1}$	k_2^w $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)	k_1^s h $(g/g_{bs})^{-1}$	k_2^s $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)
776-E-T5	92,6635 ± 30,5922	1,6181 ± 0,7619	0,6034	6,8	17,7673 ± 2,0260	3,1541 ± 0,1254	0,9218	21,7
776-E-T8	56,0200 ± 19,5182	2,4885 ± 0,6091	0,5683	5,2	16,9679 ± 1,7290	3,0075 ± 0,1069	0,9399	20,9
776-E-T15	23,7363 ± 5,0319	1,6786 ± 0,1978	0,8445	2,9	14,6174 ± 1,9918	2,9992 ± 0,1331	0,8917	24,6
776-E-T18	13,0551 ± 3,9339	1,6986 ± 0,2081	0,7469	4,8	12,0667 ± 0,7206	2,9494 ± 0,0529	0,9822	9,6
682-E-T8	111,6622 ± 26,6069	0,7575 ± 0,6143	0,8287	2,2	21,3508 ± 2,0173	2,8701 ± 0,1093	0,9461	21,9
682-E-T10	70,9123 ± 15,8301	1,6877 ± 0,4372	0,8367	1,8	17,3086 ± 1,2647	2,8998 ± 0,0769	0,9701	14,7
682-E-T18	57,3922 ± 15,3396	1,5548 ± 0,4371	0,7642	1,8	8,9883 ± 1,0270	3,0093 ± 0,0911	0,9321	18,5
682-E-T21	16,5506 ± 2,8417	2,4078 ± 0,1605	0,8651	1,4	4,3321 ± 0,7023	3,1871 ± 0,0998	0,8886	11,6
269-E-T10	0,7028 ± 0,0747	0,5634 ± 0,0102	0,9514	2,8	3,7933 ± 0,3579	3,0423 ± 0,0488	0,9574	10,9
269-E-T18	0,5709 ± 0,0482	0,5301 ± 0,0072	0,9703	2,4	1,9805 ± 0,1121	2,8348 ± 0,0215	0,9876	2,6
269-E-T25	0,5036 ± 0,0375	0,4446 ± 0,0054	0,9757	5,1	2,0484 ± 0,4569	2,6093 ± 0,0823	0,8291	7,1
269-E-T35	0,6118 ± 0,0383	0,4018 ± 0,0047	0,9813	5,7	2,9701 ± 0,2397	2,3182 ± 0,0323	0,9706	3,3

Tabla III.7 Parámetros del modelo de Zugarramurdi y Lupín (Z&L) para la transferencia de masa durante el salado húmedo de anchoíta entera a diferentes temperaturas (lotes correspondientes a las Experiencias 1, 2 y 3)

	Contenido de agua				Contenido de sal			
	Parámetros del modelo de Z&L		Parámetros estadísticos		Parámetros del modelo de Z&L		Parámetros estadísticos	
	k_w $(g/g_{bs})h^{-2}$	X_w^{eq} $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)	k_s $(g/g_{bs})h^{-2}$	X_s^{eq} $(g/g_{bs})^{-1}$	R^2	*RMSE* (%)
776-E-T5	0,0260 ± 0,0154	2,0338 ± 0,1359	0,6044	6,8	0,1281 ± 0,0154	0,2857 ± 0,0106	0,8749	28,2
776-E-T8	0,0557 ± 2,1391	2,1390 ± 0,0426	0,5812	5,2	0,1307 ± 0,0140	0,2984 ± 0,0098	0,9045	27,2
776-E-T15	0,0809 ± 0,0163	1,9709 ± 0,0333	0,855	2,7	0,1349 ± 0,0180	0,3065 ± 0,0124	0,842	30,9
776-E-T18	0,1329 ± 0,0335	1,9427 ± 0,0381	0,7769	4,5	0,1766 ± 0,0114	0,3082 ± 0,0056	0,9682	16,4
682-E-T8	0,0129 ± 0,0107	1,6793 ± 0,4398	0,8295	2,2	0,1111 ± 0,0112	0,3030 ± 0,0099	0,9221	27,1
682-E-T10	0,0353 ± 0,0118	1,9945 ± 0,0660	0,8403	1,7	0,1352 ± 0,0112	0,3037 ± 0,0077	0,9471	21,3
682-E-T18	0,0398 ± 0,0147	1,9562 ± 0,0757	0,7703	1,6	0,2030 ± 0,0225	0,3119 ± 0,0094	0,8923	25,3
682-E-T21	0,1294 ± 0,0189	2,0270 ± 0,0162	0,872	1,3	0,3969 ± 0,0636	0,3003 ± 0,0097	0,8347	19,8
269-E-T10	0,4002 ± 0,0407	2,0770 ± 0,0313	0,9239	4,9	0,4362 ± 0,0418	0,3159 ± 0,0058	0,9198	16
269-E-T18	0,5244 ± 0,0485	1,9604 ± 0,0229	0,9616	3,7	0,8107 ± 0,0636	0,3402 ± 0,0039	0,9601	8,7
269-E-T25	0,5019 ± 0,0281	1,6034 ± 0,0226	0,9739	3,7	0,7402 ± 0,1194	0,3704 ± 0,0102	0,8216	10,8
269-E-T35	0,3990 ± 0,0171	1,3953 ± 0,0202	0,985	3,3	0,4551 ± 0,0235	0,4117 ± 0,0235	0,9789	10,9

En cuanto al sentido físico de los parámetros, la inversa de k_1 en el modelo de Peleg y de k en el modelo de Z&L pueden relacionarse con la velocidad inicial de transferencia de masa, según las **Ecuaciones II.2** y **II.4**. La tendencia general obtenida en estos parámetros indica que el incremento en la temperatura durante el salado, para un mismo contenido de lípidos, lleva a una disminución en la constante k_1 y a un aumento en la constante k, lo cual se traduce en una mayor velocidad inicial de transferencia de masa. Este hecho se debe a la influencia de la temperatura sobre la velocidad de los procesos difusivos, las propiedades viscoelásticas del alimento y la viscosidad de la salmuera, tal como ha sido explicado en la **Sección III.2**. En los lotes 269-E-T25 y 269-E-T35 no se observa la misma tendencia en estos parámetros cinéticos respecto de los lotes 269-E-T18 y 269-E-T10, debido posiblemente al cambio que sufre la matriz a causa de las relativamente elevadas temperaturas. A su vez, comparando los valores obtenidos para las Experiencias 1, 2, y 3 (con un contendido de lípidos de 7,76, 6,82 y 2,69 % respectivamente), es posible observar que al reducirse el contenido de lípidos de la materia prima, el valor de k_1 disminuye y el de k aumenta, indicando una mayor velocidad de transferencia de masa, en concordancia con lo mencionado en la **Sección III.2**. Por otra parte, los valores de estos parámetros también se han visto afectados por el tipo de corte utilizado (**Tablas III.4** y **III.5**). Así, el menor valor de k_1 y el mayor valor de k se obtuvo para el lote 375-F-T15, indicando una mayor velocidad de pérdida de agua y de ganancia de sal en los filetes, comparado con pescado entero (375-F-T15) y H&G (375-H&G-T15). Como podría esperarse, los parámetros obtenidos para el lote 375-H&G-T15 presentaron valores intermedios. Por otra parte, a partir del ajuste de los modelos se obtuvieron los parámetros k_2 (constante de capacidad de Peleg) y X^{eq} (modelo de Z&L), relacionados con el contenido de agua y de sal en el equilibrio de acuerdo a las **Ecuaciones II.3** y **II.4**. Los valores calculados para estos parámetros en los lotes correspondientes a pescado entero resultaron similares, considerando el intervalo de confianza, excepto en los lotes 682-E-T8, 269-T-T25 y 269-E-T35. Estos resultados concuerdan con los valores de equilibrio obtenidos experimentalmente, los cuales no mostraron diferencias significativas ($p > 0,01$).

De acuerdo a los parámetros estadísticos R^2 y *RMSE*, el modelo de Peleg resultaría más adecuado que el modelo de Z&L para la descripción de la cinética

de ganancia de sal. En cuanto a la descripción de la cinética de pérdida de agua, ambos modelos ajustan de forma similar para pescado entero mientras que en filetes sería más conveniente el uso del modelo de Z&L así como en pescado H&G, el modelo de Peleg.

III.4.1 Capacidad predictiva de los modelos para los valores de equilibrio

En muchos casos, el uso de modelos matemáticos predictivos brinda la posibilidad de obtener los valores de equilibrio bajo determinadas condiciones de proceso. Por lo tanto, resulta útil poder contrastar los valores de equilibrio predichos por los modelos con los valores de equilibrio experimentales. Tal como se ha mencionado en la **Sección III.3**, los valores de equilibrio experimentales se obtuvieron promediando los datos hallados una vez alcanzado el equilibrio, el cual se definió en base a la ausencia de variaciones significativas en el contenido de agua y de NaCl ($p < 0,01$). Así, los valores de equilibrio obtenidos mediante el modelo de Peleg se calcularon a través de la **Ecuación II.3**, mientras que los predichos por el modelo de Z&L están dados directamente por el valor del parámetro X^{eq}. Los resultados obtenidos se presentan en la **Tabla III.8**. El análisis comparativo de los valores de equilibrio calculados mediante ambos modelos permite apreciar que el modelo de Peleg predice un contenido de agua de equilibrio menor y un contenido de sal de equilibrio mayor que el modelo de Z&L. Teniendo en cuenta además los valores de equilibrio experimentales, el modelo de Peleg subestima los valores de equilibrio para agua y sobreestima los valores de equilibrio para sal. Por otra parte, los valores de equilibrio predichos por el modelo de Z&L se encuentran más cercanos a los valores experimentales, lo cual se verifica en los menores valores de *E* obtenidos. Estos resultados son de gran interés ya que de acuerdo a los valores de R^2 y *RMSE*, el modelo de Peleg resulta más conveniente para describir la cinética de ganancia de sal, pero en base a lo expuesto el modelo de Z&L predice mejor los valores de equilibrio.

Tabla III.8 Capacidad predictiva de los modelos de Peleg y de Z&L para los valores de equilibrio

	Contenido de agua					Contenido de sal				
		Modelo de Peleg		Modelo de Z&L			Modelo de Peleg		Modelo de Z&L	
	X_w* (g/g$_{bs}$)	X_{wp} (g/g$_{bs}$)	*E*	X_{wp} (g/g$_{bs}$)	*E*	X_s* (g/g$_{bs}$)	X_{sp} (g/g$_{bs}$)	*E*	X_{sp} (g/g$_{bs}$)	*E*
776-E-T5	2,1567	1,8142	15,88	2,0338	5,70	0,2995	0,3214	4,35	0,2857	7,23
776-E-T8	2,1817	2,0304	6,93	2,1391	1,95	0,3009	0,3368	11,94	0,2984	0,82
776-E-T15	2,0247	1,8365	9,29	1,9709	2,65	0,2940	0,3377	14,87	0,3065	4,26
776-E-T18	1,9922	1,8435	7,46	1,9427	2,48	0,3046	0,3434	0,32	0,3082	1,19
682-E-T8	2,0629	1,0640	48,42	1,6793	18,60	0,3138	0,3527	12,37	0,3030	3,45
682-E-T10	2,0915	1,7916	13,88	1,9945	4,13	0,3181	0,3491	9,74	0,3037	4,53
682-E-T18	1,8359	1,7410	14,86	1,9562	4,34	0,3461	0,3366	5,24	0,3119	2,48
682-E-T21	2,0360	1,9688	3,30	2,0270	0,44	0,3103	0,3180	0,41	0,3003	3,22
269-E-T10	2,0087	1,9572	2,56	2,0770	3,40	0,3601	0,3327	3,07	0,3159	2,15
269-E-T18	1,9275	1,8457	4,24	1,9604	1,71	0,3482	0,3568	2,46	0,3402	2,30
269-E-T25	1,6246	1,4910	8,22	1,6034	1,31	0,3692	0,3873	4,88	0,3704	0,30
269-E-T35	1,4474	1,2436	14,08	1,3954	3,59	0,4060	0,4354	0,42	0,4117	1,40
375-E-T15	2,0483	1,8592	9,23	2,0324	0,77	0,3075	0,3379	9,88	0,3074	0,04
375-H&G-T15	1,9017	1,6934	10,96	1,8000	5,35	0,3362	0,3688	9,71	0,3356	0,16
375-F-T15	1,5630	1,3350	14,58	1,5108	3,34	0,4116	0,4243	3,09	0,3995	2,93

* Calculados como el promedio del contenido de agua y de sal una vez alcanzado el equilibrio

E: Error relativo, calculado como $\left|\frac{X_i - X_{ip}}{X_i}\right| \times 100$, donde X_i: Valor de equilibrio experimental y X_{ip}: Valor de equilibrio predicho.

III.4.2 Efecto de la temperatura y del contenido de lípidos sobre las constantes de velocidad

Como puede observarse en las **Tablas III.4**, **III.5**, **III.6** y **III.7**, los valores de las constantes de velocidad presentan una variación en función de la temperatura y del contenido de lípidos de la materia prima, siendo esta última notablemente más amplia. En la literatura es posible encontrar estudios en los cuales el efecto de la temperatura sobre las constantes cinéticas para la DO ha sido modelado mediante la Ecuación de Arrhenius (Gou y col., 2003; Corzo y Bracho, 2006b; Corzo y Bracho, 2007). Sin embargo, hasta el momento no ha sido considerada en los modelos la influencia de la composición inicial de la materia prima. A tal fin, en el presente trabajo de Tesis se propusieron dos modelos que contemplen tanto la influencia de la temperatura como del contenido de lípidos (el componente que posee la variación más amplia en las especies grasas como la *E. anchoíta*) sobre la velocidad de deshidratación osmótica (**Ec. III.3** y **III.4**).

Constantes de velocidad de pérdida de agua:

$$\ln(K) = C - A \times 1/T + B \times L^{1/2}$$ **Ec. III.3**

Constantes de velocidad de ganancia de sal:

$$\ln(K) = C - A \times 1/T + B \times L$$ **Ec. III.4**

donde: *K:* constante de velocidad

T: temperatura (K)

L: contenido de lípidos (g/100 g)

C: constante

A, B: coeficientes del modelo

Tabla III.9 Regresión lineal múltiple para las constante de velocidad de los modelos de Peleg y Z&L en función de la temperatura y del contenido de lípidos de la materia prima

Parámetro	Valor estimado	Error estándar	*Valor t*	*p*
ln *(k_1^w) (Peleg)*				
Constante	-6,639	1,213	-5,473	< 0,0003
1/T				NS
$L^{1/2}$	3,844	0,502	7,661	< 0,0001
R^2	0,854			
F	58,691	*p* < 0,00002		
ln *(k_w) (Z&L)*				
Constante	2,641	1,104	2,392	0,038
1/T				NS
$L^{1/2}$	-2,082	0,457	-4,560	0,001
R^2	0,675			
F	20,795	*p* < 0,00104		
ln *(k_1^s) (Peleg)*				
Constante	-17,609	5,180	-3,399	0,008
1/T	5223,143	1517,162	3,443	0,007
L	0,261	0,051	5,126	< 0,001
R^2	0,869			
F	29,912	*p* < 0,0001		
ln *(k_s) (Z&L)*				
Constante	13,370	3,755	3,559	0,006
1/T	-3857,000	1099,629	-3,508	0,007
L	-0,230	0,037	-6,2861	< 0,0001
R^2	0,898			
F	39,804	*p* < 0,00003		

NS: no significativa

Los valores de los parámetros fueron obtenidos mediante regresión lineal múltiple, utilizando el programa informático STATISTICA 5.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, Estados Unidos), considerando como única fuente de variación la temperatura y

el contenido de lípidos inicial. De acuerdo a los resultados obtenidos, la temperatura no sería una variable predictiva estadísticamente significativa en el caso del modelo propuesto para las constantes de velocidad de pérdida de agua (p > 0,05). Este hecho estaría indicando que, dentro del rango experimental, el efecto de la temperatura resulta despreciable frente a la variación en las constantes de velocidad de pérdida de agua debido al diferente contenido de lípidos. En tal sentido, Corzo y Bracho (2006b) determinaron que la sensibilidad de la constante de velocidad de Peleg en función de la temperatura (30-38 ºC) es mayor al describir la cinética de ganancia de sal que la de pérdida de agua. Esto último concuerda con los resultados hallados, verificando el hecho que el término de temperatura no resulta relevante en el modelo propuesto para las constantes de pérdida de agua (**Ec. III.3**) y en cambio lo es en la **Ecuación III.4**, correspondiente a las constantes de ganancia de sal. Así, los valores obtenidos para los parámetros de los modelos se presentan en la **Tabla III.9**.

Para el caso de la constante de velocidad de Peleg, el modelo propuesto explica el 85,4 % de la variabilidad en k_1^w (constante de velocidad de pérdida de agua), y el 86,9 % en k_1^s (constante de velocidad de ganancia de sal). En cuanto a las constantes de Z&L, un 67,5 % de la variabilidad en la constante k_w (constante de velocidad de pérdida de agua) y un 89,8 % en k_s (constante de velocidad de ganancia de sal) pueden ser explicados mediante el modelo planteado. A su vez, de acuerdo al nivel de significación del contraste global F de la regresión (p < 0,001) se podría inferir que los modelos propuestos son estadísticamente significativos.

Los modelos sugeridos permiten calcular los valores que toman las constantes de velocidad de Peleg y de Z&L durante la DO de anchoíta entera, con un contenido de lípidos inicial en el rango de 2,69-7,76 % y temperaturas entre 5 y 35 ºC. En la **Ecuación III.3**, el coeficiente correspondiente al término $L^{1/2}$ es positivo para la constante de velocidad del modelo de Peleg (k_1^w, relación inversa con la velocidad de DO según **Ec. II.2**) y negativo para la del modelo de Z&L (k_1^s, relación directa con la velocidad de DO según **Ec. II.4**), indicando que un aumento en el contenido de lípidos se traduce en la reducción de la velocidad de pérdida de agua. En cuanto al coeficiente del término relacionado con el contenido de

lípidos (*L*) correspondiente a la **Ecuación III.4**, se obtuvo un resultado análogo al mencionado anteriormente, por lo cual un incremento en el tenor graso lleva a una disminución de la velocidad de ganancia de sal. Con respecto al efecto de la temperatura sobre la constante k_1^s, un incremento en la misma genera una disminución en dicha constante y por lo tanto, un aumento en la velocidad inicial de ganancia de sal. En relación a k_s, el coeficiente del término correspondiente a la temperatura en la **Ecuación III.4** es negativo, por lo cual un aumento en la *T* lleva a un aumento en el valor de esta constante.

En resumen, la dependencia de las constantes de velocidad de los modelos de Peleg y de Z&L en relación al contenido de lípidos de la materia prima y a la temperatura a la cual se realiza el salado, estaría representada por las siguientes ecuaciones:

Constantes de velocidad de Peleg:

$$\ln(k_1^w) = -6{,}639 + 3{,}844 \times L^{1/2}$$ **Ec. III.5**

$$\ln(k_1^s) = -17{,}609 + 5223{,}143 \times 1/T + 0{,}261 \times L$$ **Ec. III.6**

Constantes de velocidad de Z&L:

$$\ln(k_w) = 2{,}641 - 2{,}082 \times L^{1/2}$$ **Ec. III.7**

$$\ln(k_s) = 13{,}370 - 3857{,}000 \times 1/T - 0{,}230 \times L$$ **Ec. III.8**

CONCLUSIONES PARCIALES

- El contenido de lípidos de la anchoíta fresca, dentro del rango 2,69-7,76 %, constituye una variable intrínseca con un apreciable efecto sobre la velocidad de DO durante el presalado. Un mayor contenido de lípidos retarda el proceso, requiriendo un mayor tiempo de salado a igual temperatura para alcanzar el estado de equilibrio. Esta variable no afectó los contenidos de agua y de sal de equilibrio.

- El aumento en la temperatura de trabajo se tradujo en una mayor velocidad de transferencia de masa, si bien los valores de equilibrio alcanzados para el contenido de agua y de sal resultaron similares.

- Debe considerarse el efecto conjunto del contenido de lípidos y de la temperatura, ya que al trabajar con anchoíta de alto tenor graso (7,75 y 6,82 %) se manifestó el fenómeno de "*swelling*", más acentuado en los casos en los cuales se efectuó el presalado a bajas temperaturas (5-10 ºC). El periodo de "*swelling*" varió en función de la temperatura entre 3 y 9 h. Este hecho podría tener implicancias en la estabilidad microbiológica del producto, en el caso que la duración del presalado no supere dicho periodo, dado que no se lograría la reducción en la a_w asumida en esta etapa.

- La velocidad de DO en filetes de anchoíta resultó mayor que en el pescado entero y H&G. A su vez, los valores de equilibrio se vieron afectados por el tipo de corte utilizado, registrándose una mayor deshidratación en los filetes.

- Los modelos de Peleg y de Zugarramurdi y Lupín permiten describir adecuadamente las variaciones del contenido de agua y de NaCl en función del tiempo de salado. En ese sentido, si bien el modelo de Peleg resultó más adecuado para la descripción del periodo dinámico, el modelo de Zugarramurdi y Lupín permitió estimar con un menor error de predicción los valores de equilibrio.

- De acuerdo al modelo propuesto, las constantes de velocidad de ganancia de sal de Peleg y de Z&L presentan una dependencia inversa con la temperatura

y lineal con el contenido de lípidos de la anchoíta fresca. En cuanto a las constantes de velocidad de pérdida de agua de los mencionados modelos, las mismas dependen en forma cuadrática con respecto al contenido de lípidos, no constituyendo la temperatura una variable predictiva significativa.

DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Publicaciones científicas en revistas internacionales:

- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2010. "*Brining kinetics of different cuts of anchovy (Engraulis anchoíta)*". International Journal of Food Science and Technology, **45**: 2001-2007.

Presentaciones en Congresos (Póster y Trabajo extendido):

- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2010. "*Application of empirical models for describing osmotic dehydration kinetic of different cuts of anchovy (E. anchoita)"*. VI Congreso Argentino de Ingeniería Química. 26 a 29 e Septiembre de 2010. Mar del Plata, Argentina.
- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2007. *"Influencia de los diferentes cortes sobre la deshidratación osmótica de anchoita (E anchoita)"*. XI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos y 2do Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías. 12 al 14 de Septiembre de 2007, Buenos Aires, Argentina.
- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2006. *"Estudio de la cinética de Deshidratación Osmótica de Engraulis anchoita mediante el Modelo de Peleg"*. XIV Seminario Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ALACCTA). X Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos. V Congreso Nacional de Alimentación y Nutrición. Octubre de 2006, La Habana, Cuba.
- Czerner, Marina y Yeannes, María I. 2006. *"Determinación de la velocidad de penetración de sal en Engraulis anchoita del efectivo patagónico"*. X Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos y 1er Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías. Mayo de 2005, Mar del Plata.

Capítulo IV

Proceso de maduración de anchoíta (E. anchoita) salada. Aspectos fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos

Durante el proceso de maduración las características sensoriales de la anchoíta se ven modificadas, debido a una serie de complejas transformaciones fisicoquímicas que incluyen proteólisis, lipólisis y oxidación de lípidos. Es esperable que la modificación de una o varias de las variables del proceso (temperatura, tipo de corte y nivel de prensa) pueda incidir sobre los cambios fisicoquímicos que tiene lugar sobre el proceso y por lo tanto en las características sensoriales del producto final.

En virtud de ello, en el presente capítulo se presentan y analizan los resultados obtenidos en lo que se refiere a la variación durante la maduración de los distintos parámetros fisicoquímicos seleccionados, en función de las variables temperatura, nivel de prensa y tipo de corte. A su vez, se evalúa la incidencia de dichas variables sobre los aspectos sensoriales y la participación de la microflora presente en el proceso de maduración.

IV.1 CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Cabe señalar que la información obtenida sobre la composición de la anchoíta fresca (*E. anchoita*) utilizada como materia prima en las distintas experiencias, la cual es presentada en la **Tabla IV.1**, es concordante con la existente en bibliografía para esta especie (ver **Tabla I.3**, **Sección I.2.3.2**). Tal como fue mencionado previamente, la variación estacional de la composición tendría influencia sobre la velocidad de maduración de la anchoíta (Filsinger y Yeannes, 1992 y 1994). En este caso, es posible observar que la anchoíta fresca utilizada en las distintas experiencias puede ser diferenciada en base a su tenor de lípidos, presentando niveles similares en el contenido de agua, proteínas y cenizas ($p > 0,05$). De esta manera, a fin de evaluar la influencia de esta variable intrínseca sobre el proceso, pueden agruparse las experiencias realizadas de acuerdo al contenido inicial de lípidos de la materia prima correspondiente. El primer grupo estaría constituido por los lotes en los cuales se utilizó la anchoíta

con un mayor tenor graso, correspondientes a las Experiencias 1, 2 y 3; mientras que dentro del segundo grupo, se encuentran los lotes correspondientes a las Experiencias 4 y 5, de menor contenido inicial de lípidos.

Tabla IV.1 Composición proximal y contenido de NaCl de la anchoíta (*E. anchoita*) utilizada como materia prima en las distintas experiencias de salado-madurado

Lote	g/100 g				
	Agua	Lípidos	Proteínas	Cenizas	NaCl
Experiencia 1 (Agosto 2005)					
05t-P140-T20	75,64 ± 0,23 [a]	4,03 ± 0,24[a]	20,35 ± 0,72[a]	1,77 ± 0,10[a]	0,23 ± 0,04
Experiencia 2 (Noviembre 2006)					
06t-P19-T20					
06t-P30-T20					
06H&G-P19-T20	75,49 ± 0,44[a]	3,73 ± 0,33[a]	18,89 ± 0,51[a]	1,82 ± 0,06[a]	0,28 ± 0,004
06F-P19-T20					
06t-P30-T15					
Experiencia 3 (Noviembre 2007)					
07t-P80-T15	75,49 ± 0,54[a]	3,45 ± 0,47[a]	20,24 ± 0,52[a]	1,74 ± 0,01[a]	0,26 ± 0,01
07F-P80-T15					
Experiencia 4 (Agosto 2008)					
08t-P80-T15	75,81 ± 0,19[a]	2,42 ± 0,30[c]	20,36 ± 0,75[a]	1,68 ± 0,05[a]	0,20 ± 0,01
Experiencia 5 (Noviembre 2008)					
08t-P30-T15	75,38 ± 0,67[a]	2,04 ± 0,09[c]	21,24 ± 0,56[a]	1,82 ± 0,06[a]	0,22 ± 0,01
08t-P80-T5					

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

En base a los resultados presentados en la **Tabla IV.1**, es posible observar que la anchoíta capturada durante un mismo mes aunque en distintos años puede presentar variaciones en su composición química proximal -especialmente en el contenido de lípidos- así como también, la captura realizada en distintos meses

de un mismo año exhibir valores similares. Tal como fuera mencionado anteriormente, estas diferencias pueden ser atribuidas al efecto de diversos factores externos, tales como la temperatura del agua, la salinidad, las características de las corrientes marinas, la disponibilidad y composición del alimento; los cuales pueden variar de un año a otro afectando directamente el contenido de lípidos (Aizpún de Moreno y col., 1979; Ayala Galdos y col., 2002; Caballero y col., 2002; Shirai y col., 2002; Jensen y col., 2007). Por este motivo, al trabajar con esta especie y producto, es necesario tener en cuenta principalmente su concentración en lípidos más que la fecha de la captura, lo que tradicionalmente acontece en los saladeros. La importancia de este hecho radica en la necesidad de conocer el tenor de lípidos a fin de realizar una adecuada aplicación de las variables tecnológicas y así obtener productos de calidad uniforme, independientemente del momento de captura y de las diversas variables externas involucradas. Actualmente las empresas trabajan con personal de supervisión, el cual posee conocimientos empíricos en el tema y es el que determina el tiempo de presalado así como el nivel de prensa adecuado de acuerdo a la calidad, subjetivamente evaluada, de la materia prima.

IV.2 MODIFICACIONES FISICOQUÍMICAS DURANTE LA MADURACIÓN

IV.2.1 Parámetros de Control de proceso

De acuerdo a las consideraciones realizadas en la Introducción general, durante el proceso de maduración se producen una serie de modificaciones en diversos parámetros fisicoquímicos. A fin de realizar un seguimiento del mismo fueron seleccionados como parámetros de control la composición química proximal, el contenido de NaCl, la a_w y el pH, los cuales permiten ubicar al producto en cuanto a su estabilidad respecto de los distintos procesos posibles de alteración o deterioro.

En la **Figura IV.1** y en la **Tabla IV.2** se presenta la evolución de la composición química proximal y de los parámetros fisicoquímicos considerados para controlar el proceso. La tendencia observada para estos parámetros a lo largo de la maduración fue similar en todos los lotes estudiados. Como puede verse, durante de la etapa de presalado (t = 1 d) se produce la mayor pérdida de agua, cuyo contenido se reduce desde aproximadamente 75 a 55 - 60 g/100 g. Durante los primeros 6 a 10 días (dependiendo del lote en cuestión), la anchoíta fue sometida a un mayor valor de prensa, con lo cual se logra que el pescado pierda rápidamente agua y también parte de su contenido graso. Una vez estabilizado el nivel del pescado, se retira el peso necesario para mantener el nivel de prensa deseado durante la maduración. Ahora bien, coincidiendo con el periodo de mayor prensa, puede observarse que continúa la expulsión de agua del músculo hasta alcanzar un valor de 48 - 53,8 g/100 g, el cual se mantiene constante durante el resto de la maduración ($p > 0,01$). En forma simultánea a la pérdida de agua se registró un incremento en el contenido de NaCl y consecuentemente de cenizas, los cuales permanecieron constantes una vez estabilizado el contenido de humedad del producto ($p > 0,01$). Este comportamiento es similar al encontrado experimentalmente por otros autores durante el salado de *E. encrasicholus* (Hernández-Herrero y col., 1999a) y de *E. anchoita* (Zugarramurdi y Lupín 1977; Filsinger y col., 1978).

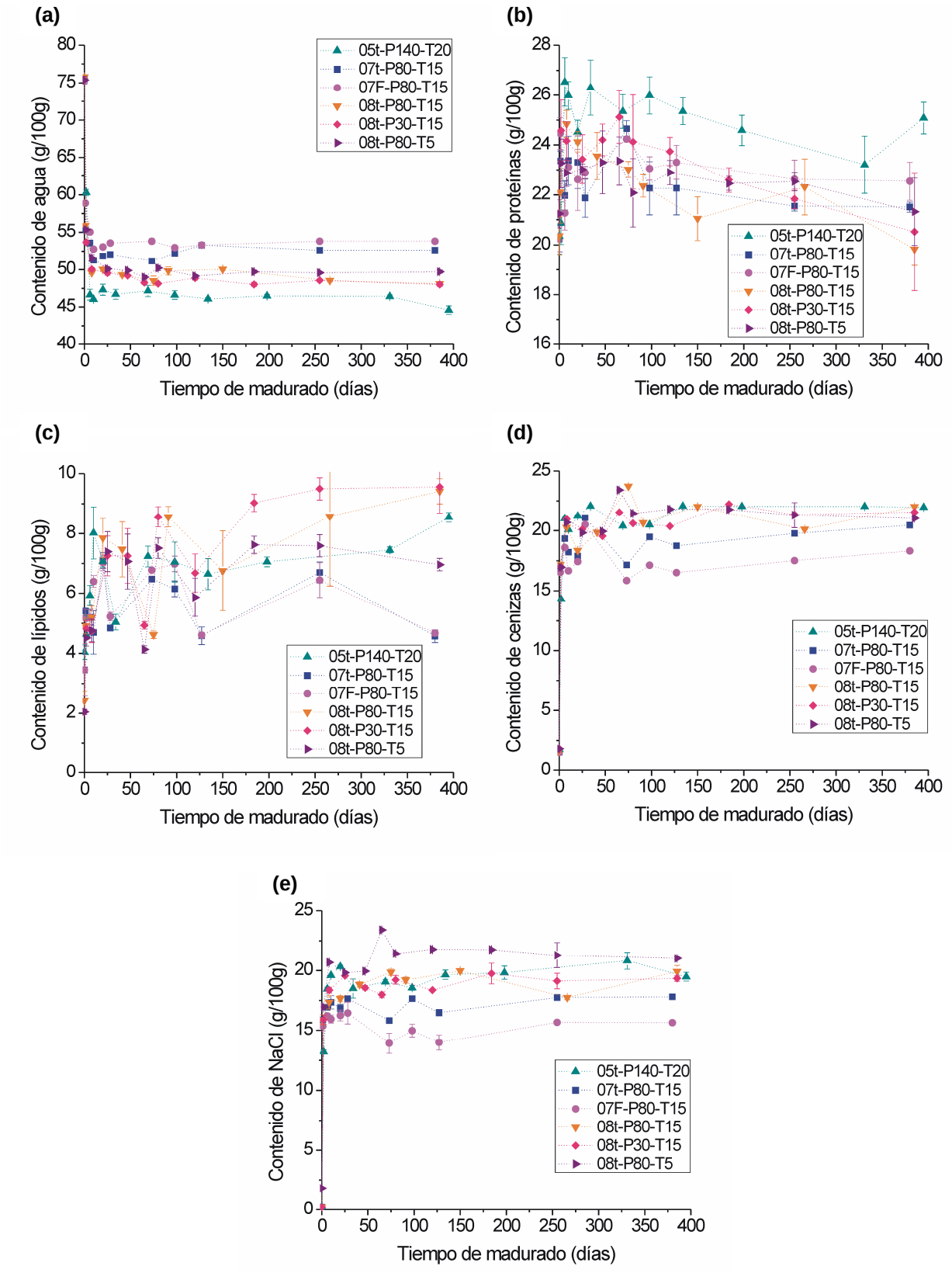

Figura IV.1 Variaciones en la composición química proximal y en el contenido de NaCl durante la maduración de anchoíta bajo diferentes condiciones de proceso (tipo de cortes, nivel de prensa y temperatura) (Experiencias 1, 3, 4 y 5)

Tabla IV.2 Modificaciones en la composición química proximal, contenido de NaCl, a_w y pH durante la maduración de anchoíta bajo diferentes condiciones de proceso (tipo de cortes, nivel de prensa y temperatura) (Experiencia 2)

	Tiempo de madurado (días)	g/100 g						
		Agua	Lípidos	Proteínas	Cenizas	NaCl	a_w	pH
Anchoíta fresca	0	75,49 ± 0,44	3,73 ± 0,33	18,89 ± 0,51	1,82 ± 0,06	0,38 ± 0,01	0,999 ± 0,001	6,07
Lote 06t-P19-T20	25	57,7 ± 0,15	4,6 ± 0,26	17,61 ± 1,23	20,18 ± 0,05	17,78 ± 0,51	0,781 ± 0,003	5,7
	112	55,52 ± 0,81	8,88 ± 0,35	14,81 ± 0,65	20,22 ± 0,06	17,96 ± 0,24	0,773 ± 0,004	5,68
Lote 06t-P30-T20	25	59,1 ± 0,66	5,68 ± 0,35	16,86 ± 1,23	19,83 ± 0,04	17,45 ± 0,31	0,79 ± 0,002	5,81
	112	54,63 ± 0,81	9,98 ± 0,24	15,45 ± 1,02	19,98 ± 0,02	17,92 ± 0,05	0,766 ± 0,004	5,58
Lote 06H&G-P19-T20	25	57,41 ± 0,05	4,65 ± 0,25	18,68 ± 1,23	18,70 ± 0,04	17,44 ± 0,35	0,784 ± 0,003	5,78
	112	54,94 ± 0,73	9,34 ± 0,26	14,68 ± 0,34	21,02 ± 0,10	17,99 ± 0,16	0,767 ± 0,006	6,01
Lote 06F-P19-T20	25	57,67 ± 0,19	5,12 ± 0,29	18,68 ± 1,23	18,7 ± 0,04	16,37 ± 0,01	0,798 ± 0,005	5,82
	112	55,89 ± 0,57	9,15 ± 0,62	15,03 ± 0,95	19,85 ± 0,08	17,66 ± 0,30	0,775 ± 0,004	5,98
Lote 06F-P30-T15	112	51,13 ± 0,63	10,94 ± 0,56	18,28 ± 0,86	18,97 ± 0,05	16,15 ± 0,12	0,775 ± 0,003	5,67

En cuanto a la evolución de los valores de a_w en el músculo, la misma se encuentra relacionada con las variaciones en el contenido de humedad y de NaCl. Así, se registra una abrupta disminución en las muestras analizadas luego del presalado (t = 1 d), alcanzando valores por debajo de 0,82; lo cual asegura la estabilidad microbiológica del producto. En las muestras analizadas luego de 6 a 10 días de comenzado el proceso de maduración, al retirar la prensa adicional, se observa una nueva reducción de la a_w, llegando a valores cercanos a 0,75; los cuales se mantuvieron constantes durante el periodo restante ($p < 0,01$).

De acuerdo a los resultados obtenidos en cuanto a la evolución del contenido de agua, NaCl y a_w; puede inferirse que luego del presalado (salado por vía húmeda) se establece un primer equilibrio salino y posteriormente dentro de la lata o tambor (salado mixto) se alcanzan nuevos valores de equilibrio, en concordancia con las publicaciones de Zugarramurdi y col. (1976 y 1980). Este hecho se debe fundamentalmente a que una vez colocado el pescado dentro de la lata o tambor, el mismo es sometido a un determinado valor de prensa, lo cual promueve la transferencia de masa mediante mecanismos hidrodinámicos, además de los difusivos (Ver **Sección I.4** de la Introducción general) (Barat y col., 2003). El efecto de la prensa sobre los valores de equilibrio puede observarse en los resultados obtenidos para el lote 07F-P80-T15, en el cual tanto el presalado como el madurado se realizaron con filetes. En este lote se alcanzó luego del presalado un contenido de agua de 56,87 ± 0,17 g/100 g y de NaCl de 15,89 ± 0,42 g/100 g, siendo la constante de equilibrio (K_{eq}) igual a 1,1 (Ver **Sección III.1.3**, cálculo de K_{eq}). Ahora bien, luego de 6 días en la lata y con la aplicación de prensa se registró un contenido de agua de 53,05 ± 0,14 g/100 g y de NaCl de 16,21 ± 0,23 g/100 g, con lo cual la K_{eq} para este lote se incrementó alcanzando un valor de 1,22. Sumado al efecto de la prensa, durante el procesamiento tradicional, los distintos cortes utilizados (pescado entero en el presalado y H&G en el tambor) implican diferentes constantes de equilibrio, por lo cual los valores de equilibrio correspondientes al salado por vía húmeda (presalado) fueron menores que los registrados en el salado mixto (tambor) (Ver **Sección III.3**).

Con respecto al contenido de lípidos, se ha observado un aumento en los valores obtenidos durante los primeros 6-10 días debido al cambio de base,

presentando fluctuaciones a lo largo del proceso de maduración ($p < 0,01$). Se han obtenido resultados similares para *E. encrasicholus* (Hernández-Herrero y col., 1999a) y para *E. anchoita* (Boeri y col., 1975). Cabe señalar que en la práctica industrial la pérdida de lípidos resulta visible en la salmuera formada en la superficie de los barriles. La misma corresponde a toda la masa de anchoíta contenida en el barril (aproximadamente 200 Kg), razón por la cual en la muestra tomada para efectuar los análisis no representa una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,01$). Además, debe considerarse que las variaciones encontradas se encuentran dentro del orden de la variabilidad intrínseca de la muestra (Boeri y col., 1975; Hernández-Herrero et al, 1999a).

Asimismo, el contenido de proteínas también se ve incrementado luego de 6 - 10 días y si bien se observó una variaciones en el mismo durante el resto del proceso, ésta no fue estadísticamente significativa ($p > 0,01$). Los cambios netos en el contenido de proteínas serán analizados en detalle en la **Sección IV.2.4**.

Por otra parte, fue posible registrar una reducción del pH del músculo durante los primeros 6 a 10 días, manteniéndose constante dicho parámetro en 5,63-5,74 durante el periodo restante ($p > 0,01$). Este resultado concuerda con los valores informados por diversos autores para el salado de especies pesqueras (Filsinger y col., 1978; Hernández-Herrero y col. 1999a y 2002; Pons Sánchez-Cascado y col., 2005).

En la **Tabla IV.3** se presenta la composición química proximal y el contenido de NaCl de los productos obtenidos luego del periodo estudiado en cada lote, donde puede verse que presenta variaciones en función de las distintas variables estudiadas.

Tabla IV.3 Composición proximal y contenido de NaCl de la anchoíta salada-madurada, obtenida luego de 120 días de maduración en la Experiencias 2 y 390 días en las Experiencias 1, 3, 4 y 5

Lote	g/100 g				
	Agua	Lípidos	Proteínas	Cenizas	NaCl
Experiencia 1					
05t-P140-T20	43,42 ± 0,20 [a]	7,45 ± 0,10 [a]	28,26 ± 1,15 [a]	22,02 ± 0,02 [a]	20,83 ± 0,71 [a]
Experiencia 2					
06t-P19-T20	55,52 ± 0,81 [b]	8,88 ± 0,35 [b]	14,81 ± 0,65 [bc]	20,22 ± 0,06 [b]	17,96 ± 0,25 [b]
06t-P30-T20	54,63 ± 0,81 [be]	9,98 ± 0,24 [b]	15,45 ± 1,02 [bc]	19,98 ± 0,02 [c]	17,92 ± 0,05 [b]
06H&G-P19-T20	54,94 ± 0,73 [be]	9,34 ± 0,26 [b]	14,68 ± 0,34 [b]	21,02 ± 0,10 [d]	17,99 ± 0,16 [b]
06F-P19-T20	55,89 ± 0,58 [b]	9,15 ± 0,62 [b]	15,03 ± 0,98 [bc]	19,85 ± 0,08 [c]	17,66 ± 0,30 [b]
06t-P30-T15	51,13 ± 0,63 [c]	10,94 ± 0,56 [c]	18,28 ± 0,86 [cd]	18,97 ± 0,05 [e]	16,15 ± 0,16 [c]
Experiencia 3					
07t-P80-T15	52,65 ± 0,28 [d]	4,57 ± 0,29 [d]	21,51 ± 0,20 [de]	20,25 ± 0,04 [f]	17,75 ± 0,17 [b]
07F-P80-T15	53,83 ± 0,10 [de]	4,60 ± 0,09 [d]	22,53 ± 0,78 [e]	18,32 ± 0,05 [g]	15,67 ± 0,07 [c]
Experiencia 4					
08t-P80-T15	48,14 ± 0,04 [f]	9,41 ± 0,42 [b]	19,83 ± 1,17 [de]	22,01 ± 0,10 [a]	19,92 ± 0,50 [ad]
Experiencia 5					
08t-P30-T15	48,03 ± 0,28 [f]	9,56 ± 0,87 [b]	20,52 ± 2,36 [de]	21,55 ± 0,07 [h]	19,76 ± 0,86 [ad]
08t-P80-T5	49,73 ± 0,21 [c]	6,96 ± 0,21 [a]	21,32 ± 1,87 [de]	21,03 ± 0,10 [d]	19,33 ± 0,33 [d]

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

IV.2.2 Evolución del contenido de Nitrógeno Básico Volátil Total

El NBV-T es utilizado a nivel internacional para evaluar la frescura de los productos pesqueros frescos y congelados (Huidobro y Tejada, 1990; Huss, 1999, Pons Sánchez-Cascado, 2005). Tal como fue mencionado previamente, Filsinger y col. (1984), al analizar el proceso de madurado en esta misma especie, demostraron la existencia de un aumento en el NBV-T, independientemente del producido por el cambio de la base de cálculo, el cual se genera durante el mencionado proceso. Luego de estos resultados se ha utilizado el NBV-T como índice de maduración en especies de pequeños pelágicos (Hernández-Herrero y

col., 1999a y 2002) (**Sección I.5.1** y **I.5.4**).

Como puede observarse en la **Figura IV.2** y en la **Tabla IV.4**, se registró un aumento neto en el contenido de NBV-T de la anchoíta madurada respecto del correspondiente a la materia prima fresca, presentando algunas diferencias entre los distintos lotes estudiados. En aquéllos codificados como 07t-P80-T15, 07F-P80-T15, 08t-P30-T15 y 08t-P80-T5 se registró una reducción en el contenido de NBV-T entre la muestra analizada el día 1 respecto de la correspondiente a los 6-10 días del proceso de maduración ($p < 0,01$). Por otra parte, en los lotes 05t-P140-T20 y 08t-P80-T15 se observó que el contenido de NBV-T en el periodo mencionado se mantuvo en niveles constantes ($p > 0,01$). En esta primera etapa de la maduración, donde el pescado se encuentra sometido a una mayor prensa que en el resto de este proceso, la pérdida de bases volátiles hacia la salmuera podría estar debida al arrastre de las mismas dada la importante cantidad de agua que es expulsada del músculo. Posteriormente, transcurrido este periodo se registró un aumento continuo del contenido de NBV-T en el músculo, excepto en el lote 08t-P80-T5 ($p > 0,01$). Con relación a este comportamiento, Hernández-Herrero y col. (1999a) han determinado que el contenido de NBV-T del músculo de *E. encrasicholus* registra una disminución durante la primer semana de maduración y luego un aumento; mientras que en la salmuera este valor presenta un aumento continuo. Por lo tanto, el efecto neto observado es consecuencia del balance entre las bases volátiles generadas en el músculo y las que se pierden hacia la salmuera.

En este estudio, teniendo en cuenta los 11 lotes ensayados, el valor máximo alcanzado hacia el final del periodo estudiado (120 días para la Experiencia 2 y 390 para las restantes) se encuentra comprendido en un rango entre 68,26 y 174,00 mg/100 g de pescado, mientras que Filsinger y col. (1984) obtuvieron un valor de 230 mg NBV-T/100 g luego de 10 meses de maduración. Por otra parte, en *E. encrasicholus* salada-madurada Hernández-Herrero y col. (1999a) han informado un nivel de NBV-T de 35,64 mg/100 g. Posteriormente, los mismos autores determinaron que al partir de materia prima de calidad *extra* (pigmentación brillante, iridiscente, olor fresco en la agallas –a mar, algas- , ausencia de coágulos de sangre en el opérculo, peritoneo y vísceras intactas) el

valor de NBV-T en el producto madurado es de 34,20 mg/100 g, mientras que al trabajar con material de baja calidad (agallas con aroma a alga marina deteriorada o sulfuroso, coágulos de sangre en los opérculos, estallido ventral en la mayoría de los ejemplares) pueden alcanzarse valores de 39,03 mg/100 g (Hernández-Herrero y col., 2002). A su vez, Pons Sánchez-Cascado y col. (2005) estudiaron tres lotes de *E. encrasicholus* con diferente carga bacteriana inicial (3,94 - 4,29 log UFC/g) determinando para este índice de maduración valores entre 36,13 a 58,44 mg/100 g, correspondiendo este último al lote con la mayor carga, especialmente grupos de cocos gram positivos- catalasa positiva y así como enterobacterias. De acuerdo a Hernández-Herrero (1999a) el incremento en el NBV-T en anchoíta salada podría ser atribuido a los productos generados por el metabolismo bacteriano, particularmente asociados en este caso a la flora halófila (Pons Sánchez-Cascado y col., 2005), además del cambio de base provocado por el proceso. Sin embargo, debe ser considerado también el efecto de variables intrínsecas y de los distintos procesos sobre la formación de NBV-T, tal como se discutirá más adelante.

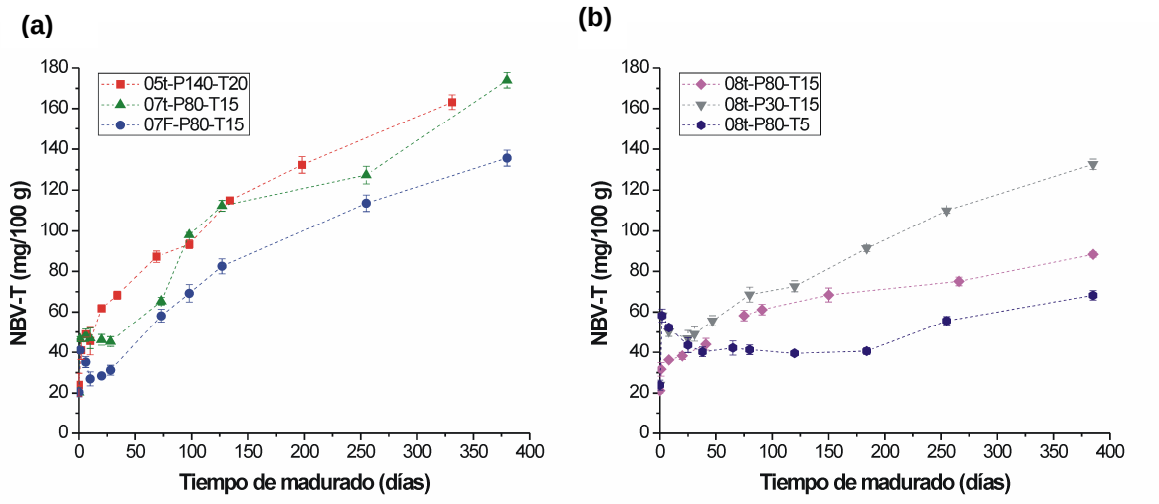

Figura IV.2 Evolución del contenido de NBV-T en el músculo durante la maduración de anchoíta. (a) Variables: tipo de corte, nivel de prensa y temperatura (Experiencias 1 y 3); (b) Variables: nivel de prensa y temperatura (Experiencias 4 y 5)

Tabla IV.4 NBV-T en anchoíta fresca y salada-madurada, siendo las variables el tipo de corte y para el corte tradicional el nivel de prensa y la temperatura (Experiencia 2)

		NBV-T (mg/100g$_{mh}$)
Anchoíta fresca		28 ± 0,34
Anchoíta madurada		
Lote		
	06t-P30-T15	80,36 ± 0,23[a]
	06t-P30-T20	83,63 ± 0,75[b]
	06t-P19-T20	90,98 ± 0,06[c]
	06H&G-P19-T20	89,03 ± 0,54[d]
	06F-P19-T20	79,16 ± 0,62[a]

Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,01$)

El incremento en el NBV-T durante la maduración fue ajustado a un modelo cinético de orden cero, en el que la pendiente de la recta obtenida sería un indicativo de la velocidad de maduración. Los valores obtenidos para los distintos lotes se presentan en la **Tabla IV.5**. Puede observarse un buena correlación entre el NBV-T y el tiempo de maduración ($R^2 > 0,8484$), en concordancia con datos de literatura (Filsinger y col., 1984; Hernández-Herrero et al, 1999a). El menor coeficiente de determinación obtenido para el lote 08t-P80-T5 indica un comportamiento diferente en este caso, el cual se manifiesta en la **Figura IV.2 (b)**, donde es posible visualizar una disminución en el tenor de NBV-T durante los primeros 50 días y un leve aumento hacia el final del periodo estudiado ($p < 0,01$). Este hecho puede deberse al efecto de la temperatura sobre las distintas reacciones involucradas en la formación de dicha fracción nitrogenada.

Tabla IV.5. Pendiente de la recta NBV-T en función del tiempo de maduración de anchoíta salada

Lote	Pendiente (mg NBV-T/100g_{bh} /día)	R^2 *
05t-P140-T20	0,3948 ± 0,0382	0,9224
07t-P80-T15	0,3627 ± 0,0349	0,9230
07F-P80-T15	0,3023 ± 0,0245	0,9443
08t-P80-T15	0,1526 ± 0,0228	0,8484
08t-P30-T15	0,2431 ± 0,0225	0,9286
08t-P80-T5	0,0559 ± 0,0263	0,3343**

* $p < 0,0001$
** $p < 0,0624$

Ahora bien, tanto el valor de NBV-T alcanzado como la pendiente de la recta obtenida dependen de la materia prima utilizada ya que su formación se encuentra afectada por diversas variables intrínsecas. En primer lugar debe considerarse que una fracción del NBV-T se compone de trimetilamina (TMA), la cual proviene en pescado fresco y congelado de la degradación microbiana del OTMA. La cantidad de este sustrato en el músculo es variable, dependiendo de la estación del año, la zona de pesca, etc. (Huss, 1999); por lo cual puede condicionarse la evolución de los niveles de TMA al partir de distinta materia prima. En tal sentido, debe considerarse que los menores valores de NBV-T que han sido obtenidos en *E. encrasicholus* madurada, respecto de los hallados en el presente trabajo de Tesis para *E. anchoita*, pueden deberse a un menor contenido de OTMA en la especie mencionada en primer término (Huss, 1999). Cabe señalar que, si bien en la anchoíta salada-madurada también se ha asociado el incremento del NBV-T a la acción microbiana (Hernández-Herrero y col., 1999a; Pons Sánchez-Cascado, 2005), no ha sido demostrada hasta el momento la capacidad de reducir el OTMA por parte de la flora halófila presente, aspecto que será estudiado en la **Sección IV.3**. Otro de los factores implicados en el incremento del NBV-T es la actividad enzimática endógena (proteolítica y OTMA reductasa), la cual se encuentra relacionada -en especies pesqueras- con el estadio biológico del ejemplar (Pérez-Borla y col., 2002; Hjalmarsson y col., 2007) y por lo tanto con el contenido de lípidos (Huss, 1999). Por esta vía puede

formarse tanto TMA como amoníaco debido a la proteólisis y a los cambios en la fracción proteica, ambos compuestos pertenecientes a la fracción de NBV-T. Por lo tanto el análisis del efecto de la composición inicial sobre la formación de NBV-T resulta complejo debido a las variables intrínsecas involucradas.

Asimismo, sumado a la influencia de las variables intrínsecas previamente mencionadas, debe considerarse el efecto de las variables operativas estudiadas sobre la producción de NBV-T. En tal sentido, el análisis comparativo de los lotes 08t-P80-T15 y 08t-P30-T15, así como de 06t-P30-T20 y 06t-P19-T20, permite visualizar el efecto del nivel de prensa sobre la evolución de este índice. Así, una reducción en la prensa aplicada de 80 a 30 g_f/cm^2 y de 30 a 19 g_f/cm^2, respectivamente, generó un aumento en la velocidad de producción de NBV-T y a su vez un incremento en los valores alcanzados hacia el final del proceso ($p < 0,01$). Este hecho podría deberse a que el mayor nivel de prensa puede incidir en la disminución de la disponibilidad de O_2 en el seno del barril, condicionando la actividad microbiana en el mismo ya que los grupos bacterianos participantes en el proceso son aerobios y anaerobios facultativos (Hernández-Herrero y col., 1999a y 1999c; Pons Sánchez-Cascado, 2005). Por otra parte, el efecto de la temperatura puede observarse en los resultados obtenidos para los lotes 08t-P80-T5 (T=5 ºC) y 08t-P80-T15 (T=15 ºC), donde los valores de NBV-T correspondientes al lote mencionado en primer término se mantuvieron por debajo de los correspondientes al madurado en sala a 15 ºC, a partir del día 75 ($p < 0,01$). A su vez, el contenido de NBV-T obtenido en el lote 06t-P30-T15 (T=15 ºC) resultó menor que el correspondiente al lote 06t-P30-T20 (T=20 ºC) (Ver **Tabla IV.4**). Esto último estaría indicando que una menor temperatura durante la maduración también incide sobre la evolución de este índice, debido en parte a que se aleja de la temperatura óptima de crecimiento de las bacterias halófilas presentes (35 ºC) y además debido a que la generación de NBV-T por vía enzimática endógena se lentifica, en concordancia con los resultados obtenidos en jamones madurados (Martín y col., 1998).

Otra variable estudiada es el tipo de corte utilizado, cuyo efecto sobre la evolución del índice que nos ocupa puede analizarse mediante la comparación de los resultados obtenidos para los lotes 07t-P80-T15 (corte tradicional: presalado

entero y madurado H&G) y 07F-P80-T15 (filetes). Este último, registra una menor velocidad de generación de NBV-T así como un menor valor en el producto obtenido al finalizar el periodo de maduración estudiado ($p < 0,01$) (**Figura IV.2 a**, **Tabla IV.5**). Resultados análogos han sido obtenidos en los lotes 06t-P19-T20 y 06F-P19-T20, donde la maduración de filetes se tradujo en un menor contenido de NBV-T en el producto obtenido ($p > 0,01$). Este efecto puede estar dado en parte, por una mayor difusión de las bases hacia la salmuera en el caso del filete, facilitada por la exposición directa del músculo y también debido a la ausencia de las enzimas digestivas, las cuales podrían aportar un mayor incremento del NBV-T. Asimismo, resulta interesante destacar que en los filetes, si bien se registraron menores valores de NBV-T que los correspondientes al procesamiento según el corte tradicional y el H&G, se verificó un aumento de este parámetro, lo cual puede estar relacionado con la contribución de los sistemas enzimáticos musculares y microbianos al madurado del producto, además de las enzimas digestivas, afianzando la idea de que el proceso se desarrolla en virtud de una combinación de factores endógenos y microbianos.

IV.2.3 Modificaciones en la fracción lipídica durante el salado-madurado

IV.2.3.1 Modificaciones en el perfil de ácidos grasos

A fin de evaluar el efecto del proceso sobre la composición de ácidos grasos (AG) del producto, se determinó el perfil de AG mediante cromatografía gaseosa en muestras correspondientes a anchoíta con distinto grado de maduración. Para ello se analizaron los lotes 07t-P80-T15 y 07F-P80-T15 (Experiencia 3), permitiendo estudiar a su vez la influencia del tipo de corte utilizado, en este caso corte tradicional y filetes, sobre las modificaciones en la fracción grasa.

Los resultados obtenidos para anchoíta fresca y en función del tiempo de maduración se presentan en la **Figura IV.3** y en la **Tabla IV.6**. Como puede observarse, en el pescado fresco, con un tenor graso inicial de 3,45 g/100 g, predominaron los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), los que representaron un

42,72 % del total. El porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) fue 36,80 % y el correspondiente a los ácidos grasos saturados (AGS) del 18,15 % (**Figura IV.3**). Dentro de los AGPI predominaron los pertenecientes a la serie n-3, con un 29,61 % sobre el total de la fracción lipídica. El AG más abundante en la anchoíta fresca fue el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3) cuya concentración fue de 20,41 %, mientras que la del ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) fue de 4,47 % sobre el total. Otros AG mayoritarios fueron los ácidos erúcico (22:1), oleico (18:1) y palmítico (16:0). Los resultados obtenidos variaron con respecto a los aportados por Massa y col. (2007), quienes determinaron un contenido de lípidos de 10,04 g/100 g, con la siguiente composición: AGS 31,47 %; AGMI 35,29 %, AGPI 27,07 %, DHA 11,78 % y EPA 9,38 % en anchoíta capturada en noviembre (año 2006). Esta variación en la composición de AG de la anchoíta puede deberse a que, tanto este factor como el contenido de grasa están relacionados con el ciclo de vida de la especie así como con factores externos tales como la temperatura, salinidad y composición de ácidos grasos del alimento, de acuerdo a lo mencionado anteriormente. Se pudo observar que en el estudio realizado por Massa y col. (2007) la anchoíta posee un mayor contenido de lípidos, pero un menor porcentaje de AG n-3 (25,89 %) y un mayor porcentaje de AGS que la estudiada en el presente trabajo de Tesis. Zlatanos y Laskaridis (2007) estudiaron la variación estacional en la composición de AG de *E. encrasicholus* y encontraron una correlación negativa entre el contenido de lípidos y el porcentaje de AG n-3 así como un aumento en los AGS durante los meses de mayor tenor graso. Según estos autores, esta relación se corresponde con la función biológica de los distintos AG en el pez: los AGS se utilizan como reserva de energía, por lo que aumentan en las épocas de alimentación intensiva, cuando el contenido de lípidos es mayor. Shirai y col. (2002) describieron resultados similares en sardina atribuyendo las variaciones en el perfil de AG a la ingesta y a la variación estacional en la composición del alimento (plancton). Por otra parte, existe información acerca de variaciones similares tanto del contenido de lípidos como de la composición en ácidos grasos en arenque (*Clupea harengus L*) capturado durante la temporada de primavera (Hamre y col., 2003a) y asociados a la zona de pesca (Jensen y col., 2007).

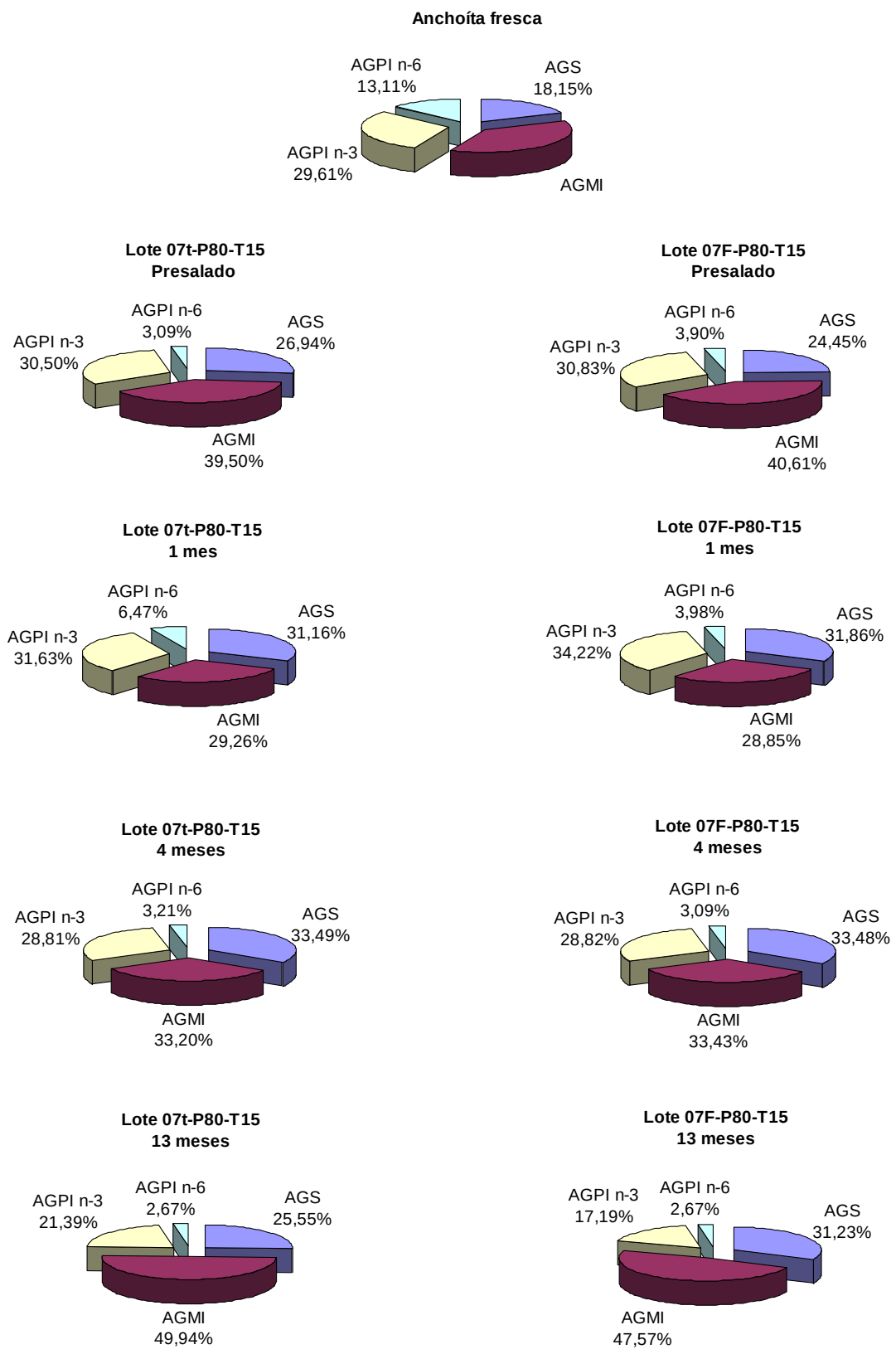

Figura IV.3 Modificaciones en la composición de ácidos grasos de anchoíta durante el proceso de salado-madurado, correspondiente al corte tradicional (Lote 07t-P80-T15) y a filetes (Lote 07F-P80-T15). (Experiencia 3)

Tabla IV.6 Composición de ácidos grasos de anchoíta durante el salado-madurado (g Kg^{-1} lípidos)

	Anchoíta fresca	Tiempo de maduración (meses)							
		Presalado		1		4		13	
		07t-P80-T15	07F-P80-T15	07t-P80-T15	07F-P80-T15	07t-P80-T15	07F-P80-T15	07t-P80-T15	07F-P80-T15
14:00	$0,25^{a}$	$0,16^{a}$	$2,06^{a}$	$0,58^{b}$	$0,65^{b}$	$0,59^{b}$	$0,60^{b}$	$0,68^{b}$	$0,74^{b}$
15:00	$0,02^{a}$	$0,36^{bc}$	$0,03^{bc}$	$0,04^{cd}$	$0,05^{cd}$	$0,05^{d}$	$0,06^{d}$	$0,02^{ab}$	$0,04^{ab}$
16:0*	$1,36^{a}$	$21,23^{Abcd}$	$1,87^{Bc}$	$2,20^{Abde}$	$2,17^{Ad}$	$2,28^{Abd}$	$2,27^{Abd}$	$1,43^{Aa}$	$1,98^{Bce}$
16:1*	$0,51^{a}$	$0,67^{Ab}$	$0,78^{Bcd}$	$0,57^{Aab}$	$0,52^{Aa}$	$0,49^{Aa}$	$0,49^{Aa}$	$0,87^{Ac}$	$0,73^{Abd}$
17:0*	$0,09^{ab}$	$0,14^{Ac}$	$0,14^{Ac}$	$0,06^{Ab}$	$0,06^{Abe}$	$0,10^{Abc}$	$0,10^{Aabc}$	$0,19^{Ad}$	$0,12^{Bac}$
18:00	$0,09^{a}$	$0,24^{bc}$	$0,20^{bc}$	$0,24^{bd}$	$0,26^{bd}$	$0,32^{e}$	$0,32^{ed}$	$0,18^{c}$	$0,24^{bc}$
18:1*	$1,42^{ab}$	$1,68^{Ac}$	$1,45^{Ba}$	$1,20^{Ade}$	$1,16^{Ae}$	$1,33^{Abdf}$	$1,32^{Aadf}$	$1,29^{Ad}$	$1,42^{Baf}$
18:2 n-6*	$0,28^{a}$	$0,20^{Ab}$	$0,21^{Ab}$	$0,47^{Ac}$	$0,28^{Ba}$	$0,21^{Ab}$	$0,21^{Ab}$	$0,16^{Ab}$	$0,20^{Ab}$
18:3 n-3*	$0,13^{a}$	$0,09^{Ab}$	$0,06^{Bcde}$	$0,06^{Ace}$	$0,08^{Abc}$	$0,08^{Abd}$	$0,08^{Abc}$	$0,04^{Ae}$	$0,04^{Ae}$
18:4 n-3*	$0,22^{ab}$	$0,30^{Ac}$	$0,21^{Bad}$	$0,24^{Ab}$	$0,25^{Ab}$	$0,17^{Ade}$	$0,76^{Ade}$	$0,17^{Ade}$	$0,16^{Ae}$
20:1*	$0,00^{a}$	$0,33^{Ab}$	$0,52^{Bc}$	$0,35^{Ab}$	$0,38^{Ab}$	$0,61^{Ac}$	$0,63^{Ac}$	$0,76^{Ad}$	$0,83^{Ad}$
20:2 n-6	$0,44^{a}$	$0,02^{b}$	$0,07^{b}$	nd[1] ^{b}	nd^{b}	nd^{b}	nd^{b}	$0,06^{b}$	nd^{b}
20:4 n-3*	$0,08^{a}$	$0,06^{Ab}$	$0,06^{Ab}$	$0,06^{Ac}$	$0,05^{Ac}$	$0,08^{Ad}$	$0,08^{Be}$	$0,05^{Af}$	$0,05^{Bd}$
20:4 n-6	$0,50^{a}$	$0,02^{b}$	$0,02^{b}$	nd^{b}	nd^{b}	$0,06^{c}$	$0,05^{c}$	$0,04^{d}$	$0,07^{d}$
20:5 n-3*	$0,45^{Aad}$	$0,52^{Aa}$	$0,71^{Bbc}$	$0,79^{Ae}$	$0,77^{Abe}$	$0,64^{Ac}$	$0,65^{Ac}$	$0,38^{Ad}$	$0,40^{Ad}$
22:1*	$1,70^{a}$	$1,17^{Ab}$	$1,15^{Ab}$	$0,76^{Ac}$	$0,77^{Ac}$	$0,90^{Ac}$	$0,91^{Ac}$	$1,95^{Ad}$	$1,70^{Bb}$
22:5 n-6*	$0,09^{a}$	$0,07^{Ab}$	$0,09^{Ba}$	$0,04^{Ac}$	$0,05^{Bd}$	$0,05^{Acd}$	$0,05^{Acd}$	nd^{Ae}	nd^{Ae}
22:5 n-3*	nd^{a}	nd^{Aa}	nd^{Aa}	$0,09^{Ab}$	$0,11^{Bc}$	$0,09^{Abd}$	$0,09^{Ad}$	$0,05^{Ae}$	$0,05^{Ae}$
22:6 n-3*	$2,04^{ab}$	$2,50^{Aa}$	$2,04^{Aa}$	$1,91^{Ab}$	$2,15^{Ba}$	$1,70^{Ac}$	$1,69^{Ac}$	$1,42^{Ad}$	$1,01^{Be}$
Otros AG[2]	0,34	0,13	0,2	0,35	0,22	0,24	0,23	0,21	0,22

[1]nd: No detectado.
[2]Incluye ácidos grasos encontrados en trazas.
* Presenta diferencias significativas durante el salado-madurado ($p < 0,01$). Letras mayúsculas diferentes (A, B) en una misma fila para un tiempo dado indica diferencias significativas entre lotes. Letras minúsculas diferentes (a, b, c, d, e, f) en una misma fila indica diferencias significativas para los distintos tiempos.

Como puede observarse en la **Tabla IV.6** y en la **Figura IV.3**, la composición de ácidos grasos se vio afectada por el proceso en ambos lotes estudiados. Como tendencia general, durante el salado-madurado se produjo una disminución de los AGPI, comparados con la anchoíta fresca, siendo más pronunciada durante la maduración de filetes, posiblemente debido a una mayor exposición del músculo (07F-P80-T15) ($p < 0,01$). Los AGMI presentaron un comportamiento fluctuante, con una reducción en su contenido luego de 1 mes de madurado y un posterior incremento. El análisis del proceso considerando las distintas etapas que lo constituyen permite observar que luego del presalado se registra una significativa disminución de los AGPI ($p < 0,01$), dentro de los cuales se encuentran afectados los pertenecientes a la serie n-6, especialmente los AG 20:2 n-6 y 20:4 n-6. Durante los primeros 4 meses de maduración el contenido de AGPI continúa disminuyendo en forma gradual y luego de 13 meses se observa una marcada reducción respecto de su contenido en anchoíta fresca. Durante la maduración se vieron particularmente afectados los ácidos grasos de la serie n-3, mientras que los de la serie n-6 permanecieron en un nivel prácticamente constante. En cuanto a los AGMI, éstos disminuyeron en el primer mes de madurado de 36,80 a 29,05 % y luego aumentaron hasta 48,75 % (valores promedio de ambos lotes) al cabo de 13 meses. Este aumento de los AGMI coincide con el descenso de los AGPI en ese periodo, especialmente el DHA, cuyo contenido se reduce en un 23 % en el lote 07t-P80-T15 y un 53 % en el lote 07F-P80-T15. Este comportamiento puede ser atribuido a la alta susceptibilidad de los AGPI a la oxidación tanto de origen químico como enzimático, comparados con los AGMI (Belitz y Grosch, 1997). En este estudio los AGS no presentaron mayores modificaciones. Si bien no existe en literatura información disponible con respecto a la evolución del perfil de AG durante la maduración de la anchoíta, el proceso de madurado de productos cárnicos tales como el jamón crudo, el cual presenta importantes analogías con el madurado de la especie en estudio en el tipo de reacciones que dan lugar al producto final, ha sido extensamente estudiado. En tal sentido, Martín y col. (1999) y Larrea y col. (2007) han determinado un incremento en los AGS así como una disminución en los AGMI y AGPI durante la maduración de jamón Ibérico y de Teruel, respectivamente.

IV.2.3.2 Seguimiento de la oxidación lipídica: Determinación del nº TBA

En general, los cambios en la fracción grasa durante el procesamiento (lipólisis y oxidación de lípidos), se encuentran asociadas en pescado fresco a un deterioro de la calidad (Huss, 1999). Sin embargo, de acuerdo a lo mencionado previamente, en el caso de productos madurados los compuestos generados por estos mecanismos formarían parte del flavor típico.

A tal efecto, a fin de estudiar la oxidación lipídica en función del tiempo de salado-madurado de anchoíta se determinó el nº TBA a lo largo del proceso, evaluando las variables tipo de corte (tradicional y filetes, lotes 07t-P80-T15 y 07F-P80-T15); nivel de prensa y temperatura (lotes 08t-P80-T15, 08t-P30-T15 y 08t-P80-T5). El nº TBA promedio obtenido para el pescado fresco fue 0,43 ± 0,08 mg Kg^{-1} músculo. Este valor es similar a los aportados por Filsinger y col. (1978) y Del Valle y col. (1984) para la misma especie, 0,3 y 0,22 mg Kg^{-1}, respectivamente. En *E. encrasicholus* fresca, Chaouqy y col. (2008) obtuvieron un nº TBA de 0,14 mg Kg^{-1} y Hernández-Herrero y col. (2002) han informado valores de 8,64-11,73 mg Kg^{-1}, en función de la calidad de la materia prima. La diferencia en la magnitud de los valores informados por los autores citados en último lugar, puede deberse al método de cuantificación empleado. En el presente trabajo de Tesis, así como en los trabajos de Filsinger y col. (1978), Del Valle y col. (1984) y Chaouqy y col. (2008), se utilizó un método de extracción en frío con TCA para la determinación del nº TBA, mientras que Hernández-Herrero y col. (2002) aplicaron un método de destilación de arrastre por vapor (Tarladgis y col., 1960). Este último implica un calentamiento de la muestra, lo cual puede traducirse en una evaluación por exceso debido a la posible formación de malonaldehido y de otras sustancias reactivas en forma adicional, originadas por la degradación de los hidroperóxidos (Hoyland y Taylor, 1991). En este caso, el método de extracción ácida en frío utilizado, reduce la posibilidad de formación de otras sustancias reactivas al TBA, al emplear condiciones más suaves durante el tratamiento de la muestra.

Como puede observarse en las **Figuras IV.4** y **IV.5**, el nº TBA se incrementa debido al proceso, lo cual evidencia la ocurrencia de proceso de tipo

oxidativo.

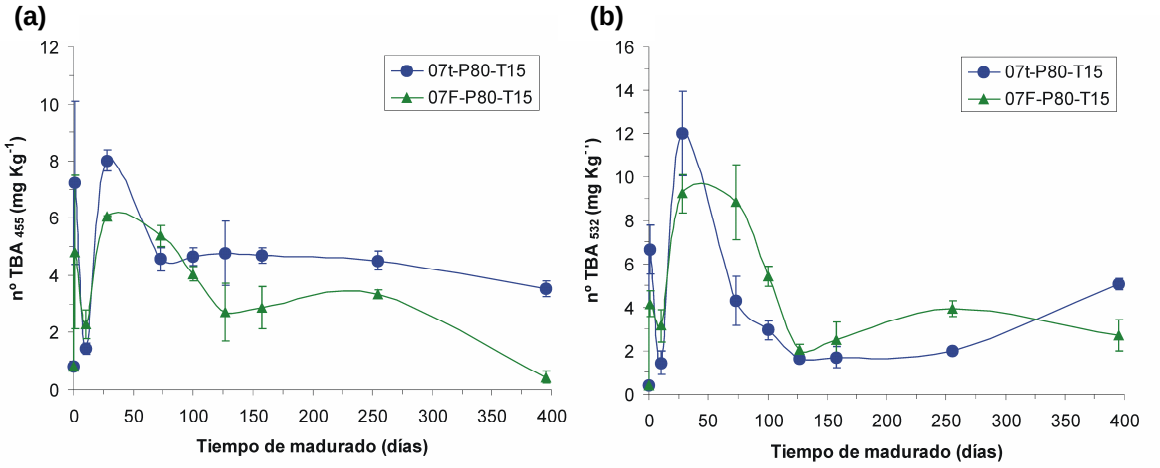

Figura IV.4 Evolución del nº TBA a λ= 532 nm (a) y a λ=455 nm (b) durante la maduración de distintos cortes de anchoíta (corte tradicional y filetes) (Experiencia 3)

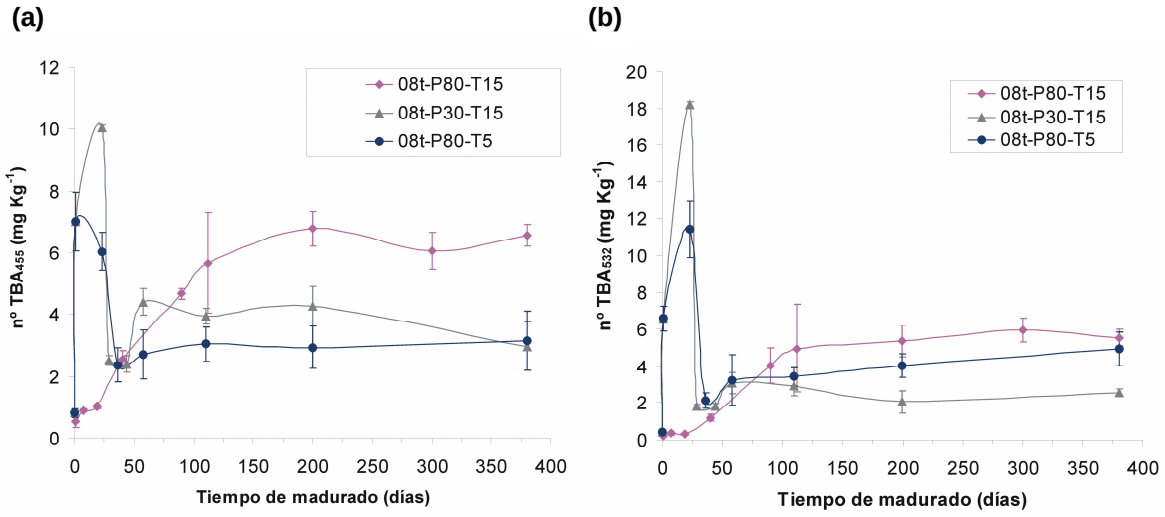

Figura IV.5 Evolución del nº TBA a λ= 532 nm (a) y a λ=455 nm (b) durante la maduración de anchoíta bajo diferentes condiciones de prensa y temperatura (Experiencias 4 y 5)

Así, luego del presalado se observó un marcado incremento en el nº TBA respecto del pescado fresco, promovido por la acción prooxidante del NaCl y la reducción de la a_w a valores en los cuales el rango de máxima oxidación lipídica puede ser alcanzado (Labuza, 1980). El efecto prooxidante del NaCl deriva de su capacidad para desplazar al ion ferroso (Fe^{+2}) ligado a las macromoléculas, el cual juega un rol clave en la oxidación de lípidos no enzimática (Kanner y col., 1991; Ashton y col., 2002). El efecto del salado sobre la oxidación de lípidos ha sido estudiado, habiéndose informado valores del nº TBA incrementados en otras especies pesqueras, entre ellas salmón de mar (Espe y col., 2001), caballa (Aubourg y Ugliano, 2002), tilapia (Yanar y col., 2006) y *E. encrasicholus* (Chaouqy y col., 2008) entre otras. En los lotes 07t-P80-T15 y 07F-P80-T15 se observa una importante reducción en el nº TBA_{532} entre los días 1 y 10. La misma puede ser atribuida a la aplicación de una prensa de 160 g_f/cm^2 durante este periodo, la cual ocasiona una gran pérdida de agua en el músculo, así como también de lípidos y compuestos solubles (proteínas, péptidos y compuestos nitrogenados) (Boeri y col., 1975; Durand, 1981; Hernández-Herrero y col., 1999a) y probablemente, de productos secundarios de la oxidación cuantificados mediante el nº TBA. Seguidamente, se observó un nuevo incremento en el nº TBA_{532} en todos los lotes, alcanzando un máximo entre los días 20 y 30, excepto en el caso del lote 08t-P80-T15. La comparación de los lotes procesados con distinto tipo de corte, evidenció este valor fue significativamente mayor en el correspondiente al corte tradicional (07t-P80-T15) que en el lote 07F-T80-P15, donde se maduraron filetes ($p < 0,01$). Luego de alcanzar este valor máximo, se observó una reducción en el nº TBA_{532} hasta valores que se mantuvieron prácticamente constantes hasta el final del proceso, la cual puede ser atribuida a la descomposición de los productos secundarios de oxidación a productos terciarios. Por otra parte, en el lote 08t-P80-T15 también se incrementaron en forma gradual los valores del nº TBA_{532} durante la maduración, sin presentar un valor máximo (**Figura IV.5**). Los resultados obtenidos concuerdan con los informados por Hernández-Herrero y col. (1999a y 2002), quienes también observaron un incremento en el nº TBA_{532} durante la maduración de *E. encrasicholus*.

La evolución del nº TBA_{455} presentó una tendencia similar a la del nº

TBA_{532} en todos los lotes estudiados. Si bien los valores máximos del nº TBA corresponden a la formación del cromóforo rosado (λ = 532 nm), el pigmento amarillo (λ = 455 nm) fue el predominante hacia el final del proceso. El desarrollo de este último en presencia de TBA ha sido asociado a la presencia de aldehídos saturados provenientes de la oxidación de lípidos, tales como propional y butanal (Sun y col., 2001).

Es bien conocido que la oxidación de lípidos puede ser catalizada tanto por hemoproteínas e ion ferroso libre (Fe^{+2}) como por la enzima lipooxigenasa. Con respecto a esta última, se ha determinado la actividad lipooxigenasa endógena en numerosas especies pesqueras, tales como trucha (German y Kinsella, 1985), lisa (Hsiu y Pan, 1996), sardina, arenque (Medina y col., 1999), caballa (Suhur y Nazlim, 2001) y carpa plateada (Fu y col., 2007). Asimismo, la oxidación de lípidos es afectada por el contenido de NaCl, que posee -además de su acción prooxidante- un efecto sobre la actividad lipoxigenasa. Estudios realizados sobre el salado de arenque han demostrado que si bien la sal inhibe la actividad lipooxigenasa en forma proporcional a su concentración, luego del salado (alcanzando una concentración de NaCl entre 9,8 y 18,3 %) persiste una importante actividad residual (Samson y Stodolnik, 2001). Por lo tanto, es posible que durante la maduración de la anchoíta exista actividad lipooxigenasa.

Con respecto a las diferencias encontradas entre los lotes correspondientes al corte tradicional (07t-P80-T15) y a los filetes (07F-P80-T15), las mismas podrían ser explicadas debido al mayor desangrado producido en el filete, lo cual permitiría -de esta forma- la reducción del contenido de hemoproteinas, potentes catalizadores de la oxidación lipídica en el músculo (Ashton y col., 2002). Los estudios realizados por Richards y Hultin (2002) y Maqsood y Benjakul (2011) avalan esta hipótesis, dado que estos autores han demostrado que el desangrado reduce significativamente la rancidez en el músculo del pescado. Por otra parte, el menor nº TBA determinado para el lote 08t-P80-T5 respecto del lote 08t-P30-T15 puede ser atribuido en parte por la mayor prensa aplicada, la cual reduce la presión de O_2 en el seno del tambor, así como también a una menor temperatura durante el proceso de maduración.

IV.2.4 Modificaciones en la fracción proteica

IV.2.4.1 Cambios en el contenido de proteínas

Tal como fue mencionado anteriormente, en la **Figura IV.1 (b)** se visualiza un aumento en el contenido de proteínas expresado en g/100g de muestra húmeda (bh), lo cual se debe a la variación de la base a lo largo del tiempo. A fin de poder determinar el efecto neto del proceso sobre esta fracción, Boeri y col. (1975) propusieron corregir este valor utilizando como base de cálculo la denominada Base Seca Corregida (BSC), calculada según la **Ecuación III.1** donde *P* es el contenido de proteínas, *G* el de grasas, *C* el de cenizas, *A* el de agua y *S* el de NaCl. Esta base tiene en cuenta la pérdida de peso del pescado y se aproxima al comportamiento real en el rendimiento del proceso. Cada dato corregido se obtiene dividiendo el valor experimental correspondiente por la base de cálculo y multiplicándolo luego por el valor de la base al comienzo de la experiencia; de forma tal que el mismo queda referido a pescado fresco, si se considera que la base seleccionada es invariable a lo largo del proceso. En la **Tabla IV.7** y la **Figura IV.6** se presentan los valores de proteínas corregidos.

$$BSC = P + G + C = 100 - A - S \qquad \textbf{Ec. III.1}$$

Tabla IV.7 Contenido de proteínas corregido por variación de la base durante la maduración de distintos cortes de anchoíta y corte tradicional bajo condiciones de prensa y temperatura variables (Experiencia 2)

LOTE	Tiempo de madurado (días)		
	0	25	112
06t-P30-T15		-----	13,5
06t-P30-T20		17,35	13,6
06t-P19-T20	18,89	17,34	13,5
06tH&G-P19-T20		17,28	13,1
06F-P19-T20		17,37	13,7

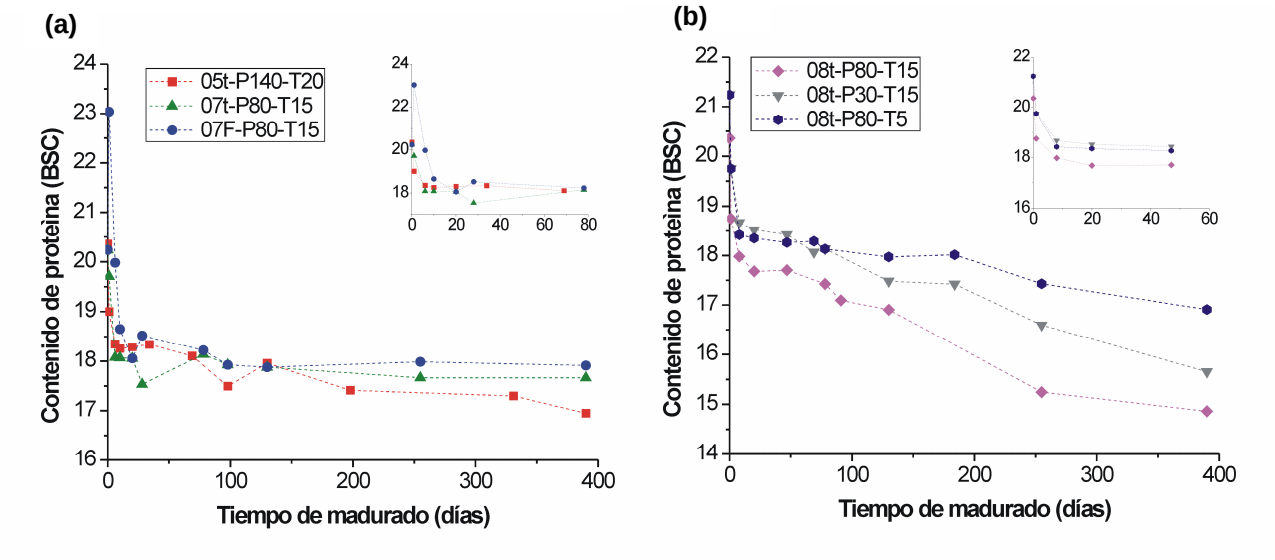

Figura IV.6 Evolución en el contenido de proteínas corregido por la variación de la base durante el proceso. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

Durante la etapa de salado (correspondiente a presalado en salmuera y primeros días de madurado) se observa una pérdida de proteínas de 2,0 - 2,8 %, lo cual concuerda con los valores informados por Boeri y col. (1975) para la misma especie y por Svensson y col. (2004) para arenque. Posteriormente, al proseguir el proceso de madurado continúa una pérdida gradual en el contenido de proteínas. La menor reducción en el contenido neto de proteínas se registró en el lote 08t-P80-T5 (madurado a 5 ºC) el cual presentó al final del periodo estudiado una disminución del 2,4 %; mientras que en el resto de los lotes, la misma fue del 3,5 a 5,9 %. Cabe consignar que la disminución en el contenido de proteínas puede deberse, durante la etapa de presalado y al inicio de la maduración, al passje de proteínas solubles hacia la salmuera y posteriormente, a la proteólisis que tiene lugar durante el proceso. Es interesante señalar que los resultados obtenidos para los lotes correspondientes a la Experiencia 2 (**Tabla**

IV.7), muestran luego de un periodo de 120 días, una pérdida de proteínas similar a la obtenida en los lotes en los cuales se procesó pescado entero con mayores niveles de prensa (07t-P80-T15, 08t-P80-T15 y 08t-P30-T15) luego de 390 días de maduración. En la **Sección IV.2.4.2** se discuten las posibles causas de este comportamiento.

IV.2.4.2 Evolución de la relación NNP/NT

En virtud de las consideraciones previas realizadas, durante el proceso de salado-madurado se observó un incremento en la relación NNP/NT (nitrógeno no proteico/nitrógeno total), indicando la ocurrencia de proteólisis (**Figura IV.7** y **Tabla IV.8**). Los valores obtenidos presentaron una buena correlación con el tiempo de maduración (R^2 > 0,9792), lo cual concuerda con los trabajos realizados por otros autores en otras especies (Durand, 1982; Campello, 1985; Perez-Villareal y Pozo, 1992; Hernández-Herrero, 1999b).

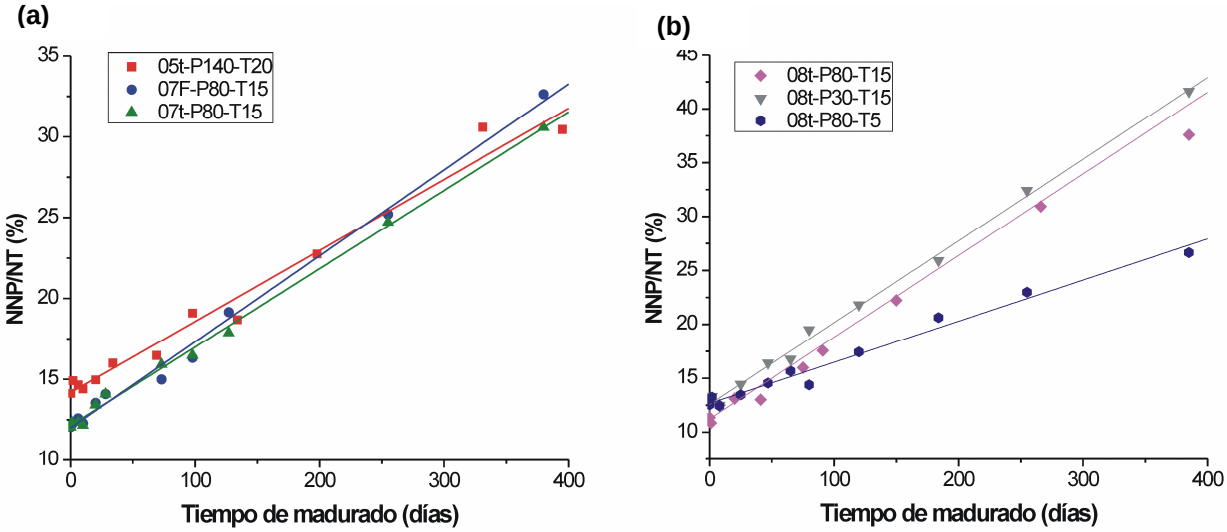

Figura IV.7 Evolución de la relación Nitrógeno no Proteico/Nitrógeno Total durante el salado-madurado. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

Además, no se encontraron diferencias significativas en la evolución de este índice entre los lotes procesados con distinto tipo de corte (07t-P80-T15 y 07F-P80-T15) y tampoco comparados con el lote 05t-P140-T20, si bien este último fue procesado bajo diferentes condiciones operativas ($p > 0,01$). Estos lotes alcanzaron un valor de 30,5 – 32,6 % luego de 390 días de maduración. Por otra parte, en el lote madurado en cámara a 5 ± 1 ºC (08t-P80-T5) la evolución de NNP/NT fue más lenta después del día 120, comparado con el lote madurado en sala a 15 ºC (08t-P80-T15), alcanzando un valor de NNP/NT de 26,6 % ($p < 0,01$). A su vez, no se encontraron diferencias significativas al reducir el valor de prensa de 80 a 30 g_f/cm^2, siendo los valores de NNP/NT obtenidos al final del periodo estudiado de 37,6 y 41,6 % (lotes 08t-P80-T15 y 08t-P30-T15, respectivamente) ($p < 0,01$).

Tabla IV.8 Relación NNP/NT durante la maduración de distintos cortes de anchoíta y corte tradicional bajo condiciones de prensa y temperatura variables (Experiencia 2)

LOTE	Tiempo de madurado (días)		
	0	25	120
06t-P19-T20		26,52	43,35[a]
06t-P30-T20		25,41	40,28[b]
06tH&G-P19-T20	19,52	23,11	39,50[b]
06F-P19-T20		21,14	24,26[c]
06t-P30-T15		-----	33,01[d]

Los resultados obtenidos para los lotes correspondientes a la Experiencia 2, los cuales se presentan en la **Tabla IV.8**, presentan importantes diferencias respecto del comportamiento del NNT/NP mencionado previamente en función de las variables estudiadas. En primer lugar, se observó que una reducción en el nivel de prensa de 30 a 19 g_f/cm^2, se traduce en una mayor relación NNP/NT en

el producto obtenido ($p < 0,01$). De acuerdo a los resultados obtenidos, variaciones en la prensa en el rango 19-30 g_f/cm^2 pueden aportar un efecto sobre la evolución de este índice, mientras que modificaciones aplicadas hacia mayores niveles de prensa (30 a 140 g_f/cm^2) no ejercen un efecto apreciable. Por otra parte, se observó en este caso la influencia del tipo de corte sobre el valor de NNP/NT, resultando menor para la maduración de filetes (06F-P19-T20) comparado con el lote procesado según el corte tradicional (06t-P19-T20) ($p < 0,01$). Estas diferencias en el comportamiento obtenido respecto al corte utilizado durante la maduración pueden ser explicadas en base a diferencias en la actividad proteolítica tanto endógena, relacionada con el estadio gonadal (Pérez-Borla y col., 2002), como microbiana, relacionada con la carga microbiana inicial y el grupo microbiano predominante durante el proceso.

Los resultados obtenidos en relación a la influencia de la temperatura de maduración sobre la relación NNP/NT indican que un aumento en la misma, conlleva a un incremento en este índice. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para jamones, donde se ha registrado que un incremento en la temperatura se traduce en una mayor actividad proteolítica (Martín y col., 1998).

El análisis comparativo de los valores de NNP/NT obtenidos hacia el final del periodo estudiado en cada caso (**Figura IV.7** y **Tabla IV.8**), permite observar que los niveles alcanzados por este índice resultaron similares en los distintos lotes, excepto en 08t-P80-T5. Teniendo en cuenta que estos valores corresponden a un periodo de maduración de 120 días en el caso de los lotes pertenecientes a la Experiencia 2, y de 390 días para los lotes restantes, es posible inferir que las condiciones de proceso en dicha experiencia dan lugar una mayor velocidad de proteólisis. Este hecho puede ser relacionado con una mayor presión de O_2 en el seno de la lata -que sería resultado de un menor nivel de prensa- y mayores temperaturas, ambas condiciones que permitirían un mayor desarrollo microbiano y consecuentemente, mayor proteólisis.

IV.2.4.3 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) es una técnica de gran utilidad en el estudio conformacional de las proteínas. A partir del análisis de los

termogramas obtenidos es posible obtener una interesante información relacionada con la estabilidad térmica proteica mediante la determinación de las respectivas temperaturas de desnaturalización, representadas por las temperaturas máximas de pico $T_{máx}$ en cada caso, así como también acerca de los cambios de entalpía asociados a dichas transiciones. Esta técnica de análisis fue utilizada durante el proceso de madurado de anchoíta correspondiente a los lotes 08t-P80-T15, 08t-P30-T15 y 08t-P80-T5, sometidos a distintos niveles de prensa y de temperatura.

Así, en la anchoíta fresca pudieron identificarse dos picos principales a 43,6 ± 0,2 ºC y a 77,8 ± 0,2 ºC, así como dos picos más pequeños a 55,1 ± 0,5 ºC y a 65,8 ± 0,5 ºC (**Figura IV.8**). La identificación de los picos fue realizada en base a la información disponible acerca de las temperaturas de pico asociadas a la desnaturalización de proteínas de diversas especies pesqueras, pudiendo atribuirse los dos picos principales a las proteínas mayoritarias tales como miosina y actina, respectivamente. En tal sentido, distintos autores han estudiado la estabilidad térmica de las proteínas del músculo de pescado fresco siendo su perfil térmico análogo al encontrado para distintas especies pesqueras (Hastings y col., 1985; Beas y col., 1990; Thorarinsdottir y col., 2002; Jensen y Jørgensen, 2003; Tironi y col., 2007 y 2010). Tironi y col. (2007, 2010) han determinado las temperaturas de transición de miosina y de actina en músculo de salmón de mar, siendo las mismas de 50,6 ± 0,9 y 76,6 ± 1 ºC, respectivamente. En anchoíta, los picos a 43,6 ± 0,2 y 55,1 ± 0,5 ºC podrían estar relacionados con las transiciones correspondientes a la desnaturalización de distintas porciones de la molécula de miosina -denominadas habitualmente como cabeza y cola- y a una pequeña contribución de proteínas sarcoplasmáticas. En músculo de bacalao, se ha registrado una $T_{máx}$ para la miosina de 43,5 ºC y para la actina de 73,6 ºC (Thorarinsdottir y col., 2002). Por otra parte, en merluza las temperaturas de transición correspondientes a miosina y actina se registran a 46,5 y 75,3 ºC, respectivamente (Beas y col., 1990). Las proteínas sarcoplasmáticas presentan un pico entre ~54 y ~59 ºC en músculo de bacalao (Thorarinsdottir y col., 2002; Jensen y Jørgensen, 2003), mientras que en salmón de mar se ha determinado la contribución tanto del pico de miosina como del de actina, además de presentar un máximo a 59,0 ºC (Beas y col., 1990). En virtud de lo comentado, el pico

observado para anchoíta fresca a 65,8 ± 0,5 ºC podría asociarse a la desnaturalización de proteínas sarcoplasmáticas. La diferencia entre las temperaturas de transición observadas para las distintas especies puede estar relacionada -entre otros factores- con la temperatura del hábitat del animal (Connell, 1961). Así, las proteínas de las especies de aguas frías presentan una menor estabilidad térmica, es decir picos de transición localizados a menores temperaturas que los pescados de aguas tropicales. En este sentido, diversas especies han presentado mayores valores de $T_{máx}$ para la miosina, tales como tilapia (*Sarotherodon aureus*) (52,7 ºC), "catfish africano" (*Clarias gariepinus*) (55,1 ºC), perca del Nilo (*Lates niloticus*) (55,7 ºC), pargo emperador (*Lutianus sebae*) (53,6 ºC), besugo (*Gymnocranius rivalatus*) (51,7 ºC) (Tironi, 2005). En relación a ello, cabe señalar la existencia de condiciones similares en cuanto al hábitat marino de la anchoíta y del salmón de mar, siendo ambas especies costeras.

En la **Figura IV.8** se presentan los termogramas correspondientes a los lotes 08t-P30-T15 y 08t-P80-T5. Puede observarse que independientemente del nivel de prensa y de la temperatura de proceso utilizados, luego de 6 días de madurado, se observa sólo una transición en la zona de la miosina ($T_{máx}$ ~ 45,2℃) con una reducción muy significativa en la e ntalpía de desnaturalización con respecto a la anchoíta fresca ($p < 0,01$) (**Figura IV.9**). El pico correspondiente a la actina presenta un desplazamiento hacia una menor temperatura de transición, así como también una reducción en la correspondiente entalpía de desnaturalización. En el lote 08t-P80-T15 se obtuvo un comportamiento similar al previamente comentado (datos no mostrados). Cabe mencionar que durante este periodo se produce un incremento muy relevante en la fuerza iónica relacionado con el aumento del contenido de NaCl, así como una importante deshidratación del músculo (Ver **Sección IV.2.1**). Además, durante el salado de diferentes especies pesqueras se ha observado un comportamiento análogo, registrándose un corrimiento de los picos y una reducción en las entalpías de transición implicadas (Hastings y col. 1985; Thorarinsdottir y col., 2002).

Ahora bien, al aumentar el tiempo de madurado se registró un comportamiento similar en todos los lotes estudiados, con cambios en la

morfología de los termogramas -picos más anchos y menos definidos- respecto del perfil correspondiente al estadio temprano, especialmente en la zona correspondiente a la miosina, así como también presentando un cierto desplazamiento de los picos correspondientes a miosina y actina hacia menores temperaturas, es decir hacia una menor estabilidad térmica. Este comportamiento es concordante con el informado por Thorarinsdottir y col. (2002) durante el salado de bacalao.

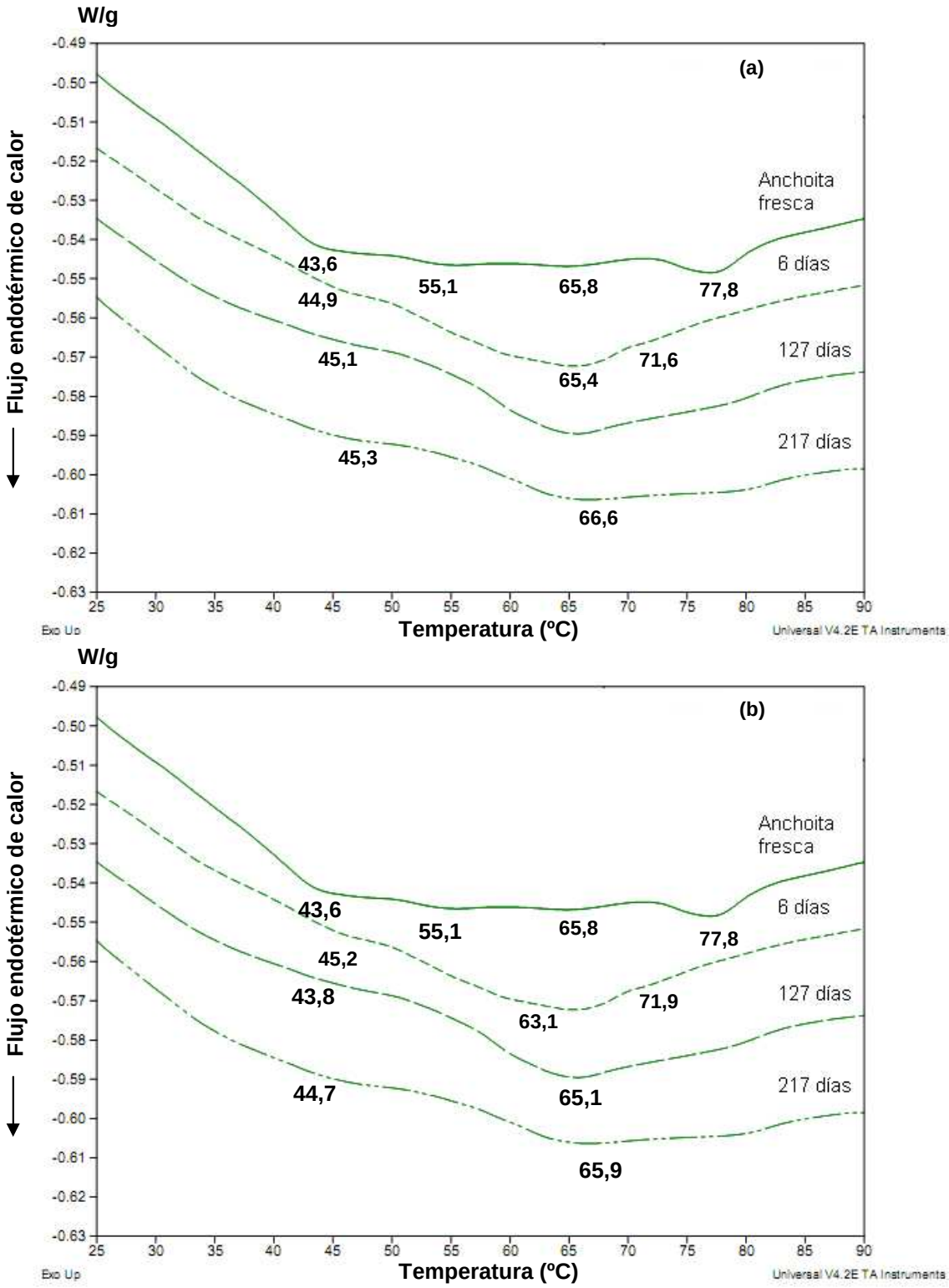

Figura IV.8 Termogramas DSC de anchoíta salada madurada bajo diferentes condiciones de nivel de prensa y temperatura. (a) Nivel de prensa 30 g_f/cm^2, Temperatura 15 ºC (08t-P30-T15) y (b) Nivel de prensa 80 g_f/cm^2, Temperatura 5 ºC (08t-P80-T5)

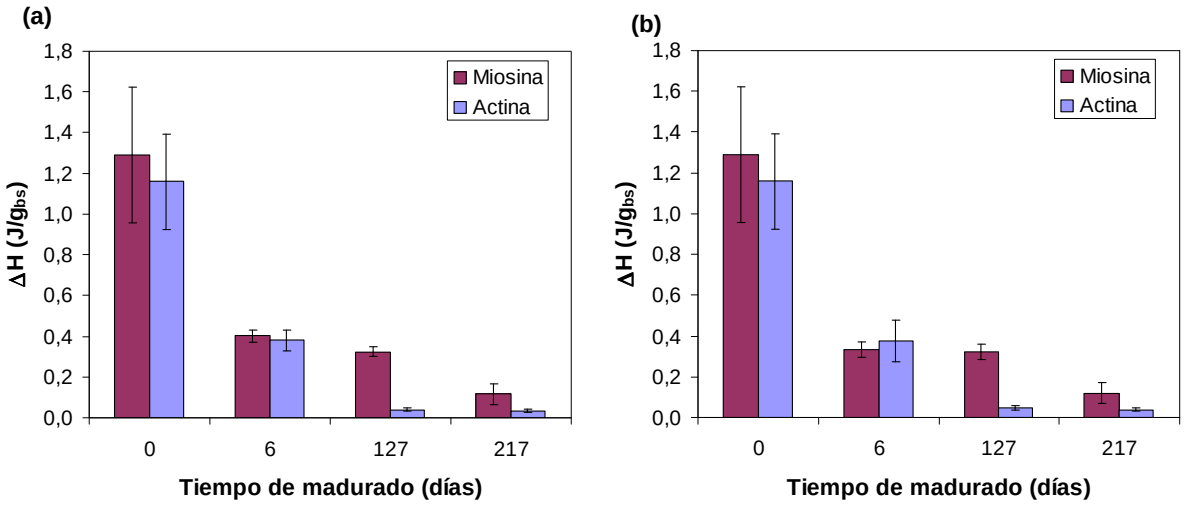

Figura IV.9 Cambios en las entalpías de desnaturalización de miosina y actina en función del tiempo de maduración. (a) Nivel de prensa 30 g_f/cm^2, Temperatura 15 ºC (08t-P30-T15) y (b) Nivel de prensa 80 g_f/cm^2, Temperatura 5 ºC (08t-P80-T5)

Por otra parte, fue posible registrar una reducción significativa de las áreas de los picos y por ende, de las respectivas entalpías de desnaturalización asociadas a las proteínas mencionadas en función del tiempo del proceso en estudio ($p < 0,01$) (**Figura IV.9)**. Las modificaciones observadas en los distintos termogramas pueden ser atribuidas no sólo al efecto de la alta concentración de sal sobre la estabilidad proteica, sino también a la ocurrencia de proteólisis durante la maduración, la cual puede afectar a las proteínas miofibrilares (Durand, 1981; Besteiro y col., 2000; Hernández-Herrero y col., 1999b; Hernández-Herrero y col., 2000).

IV.3 EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DURANTE LA MADURACIÓN DE ANCHOÍTA

Durante el proceso de maduración, la anchoíta debe adquirir las características sensoriales típicas. Mediante la Evaluación Sensorial es posible determinar la influencia de las variables operativas estudiadas en el presente trabajo de Tesis sobre la velocidad de maduración y las características del producto obtenido. A su vez, la evaluación de la incidencia de dichas variables sobre los aspectos sensoriales permitiría determinar la aplicabilidad de cada una de ellas.

IV.3.1 Efecto de las variables analizadas sobre la evolución de los atributos sensoriales

Se presentan en esta Sección los resultados para la evolución de los atributos sensoriales de los distintos lotes estudiados en función del tiempo de maduración. Las variables operativas introducidas al proceso fueron: tipo de corte, nivel de prensa y temperatura. A su vez, debe considerarse que los resultados obtenidos pueden verse afectados por el contenido de lípidos inicial de la anchoíta, el cual constituye una variable intrínseca de la muestra para varios de los lotes estudiados (Ver **Sección IV.1**).

IV.3.1.1 Evolución de la Puntuación sensorial total

En la **Figura IV.10** se presenta la evolución del puntaje sensorial promedio para los distintos lotes evaluados (calculado como el promedio de características sensoriales evaluadas de acuerdo a Filsinger y col., 1982). Los lotes fueron agrupados en función de su contenido inicial de lípidos. Así, en la **Figura IV.10 (a)** se presentan los resultados correspondientes a las experiencias llevadas a cabo con la materia prima de mayor contenido graso, es decir las Experiencias 1 y 3, con un porcentaje de lípidos de 4,03 y 3,45 g/100 g respectivamente; mientras

que en la **Figura IV.10 (b)** se presentan los resultados correspondientes a la materia prima de menor tenor graso, Experiencias 4 y 5, con 2,42 y 2,04 g/100 g de lípidos, respectivamente.

Puede observarse de acuerdo a los resultados presentados en ambas figuras que sólo el lote 08t-P30-T15 alcanzó un puntaje promedio 6 -correspondiente a un producto en su punto óptimo de maduración-, al cabo de aproximadamente 250 días, luego de los cuales adquirió características de un producto sobremadurado. Por otra parte, los lotes 07F-P80-T15 -correspondiente a la maduración de filetes- y 08t-P80-T5 –madurado a 5 ºC-, obtuvieron las menores puntuaciones globales al final del periodo estudiado, indicando un menor grado de maduración.

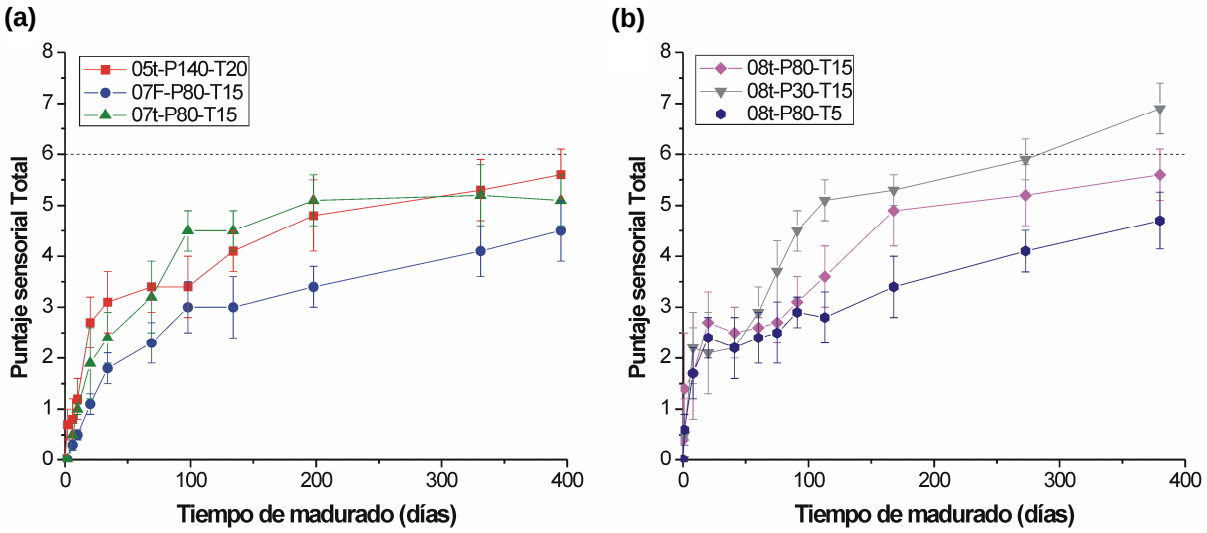

Figura IV.10 Puntaje sensorial promedio durante la maduración de anchoíta. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

El análisis comparativo de los resultados obtenidos para los lotes 08t-P30-T15 y 08t-P80-T15, permite evaluar la influencia del nivel de prensa sobre la

maduración ya que los mismos presentaron similar contenido de lípidos inicial, igual corte y temperatura. Así, puede observarse en la **Figura IV.10 (b)**, que el mencionado en primer término madura más rápidamente debido a la menor prensa aplicada, en concordancia con los resultados obtenidos por Filsinger (1987).

A efectos de obtener información acerca de la influencia de la composición de la anchoíta fresca sobre la maduración del producto pueden ser comparados los resultados obtenidos para los lotes 08t-P80-T15 y 07t-P80-T15, correspondientes a materia prima con distinto tenor graso ($p < 0,05$) y bajo iguales condiciones operativas (tipo de corte, nivel de prensa y temperatura). En este caso, las diferencias obtenidas en la puntuación sensorial global a los largo del proceso no resultaron estadísticamente significativas ($p > 0,01$), lo cual estaría indicando que dentro del rango estudiado, las variaciones en el contenido de lípidos no implicarían modificaciones en la misma.

IV.3.1.2 Análisis de caracteres sensoriales desagregados

De acuerdo al uso indicado de la tabla de evaluación sensorial de anchoíta salada-madurada de Filsinger y col. (1982), el puntaje sensorial correspondiente a una muestra estaría dado por el promedio de todas las características evaluadas. Sin embargo, en base a las devoluciones de los jueces se observó que al efectuar el promedio se podrían estar enmascarando aspectos importantes en la evolución individual de cada atributo. Por este motivo, se consideró oportuno en este caso el análisis de los atributos en forma desagregada.

IV.3.1.2.1 Adherencia al espinazo

La adherencia al espinazo es una característica que posee implicancias tanto en la calidad del producto final como en el rendimiento del proceso. La anchoíta en su punto óptimo de maduración debe presentar una baja adherencia al espinazo, de modo que al realizar el fileteado no quede músculo adherido al mismo y que los filetes así obtenidos sean completos.

En la **Figura IV.11** se presenta la evolución de la característica adherencia al espinazo en función del tiempo de maduración para los distintos lotes estudiados. Con el objetivo de analizar el efecto de la temperatura de maduración sobre este atributo, en la **Figura IV.11 (b)** se muestra el comportamiento de los lotes 08t-P80-T15 y 08t-P80-T5. Se pudo observar que los mismos obtuvieron un puntaje estadísticamente similar hacia el final de la maduración (p > 0,01), indicando que no habría influencia de la variable en estudio.

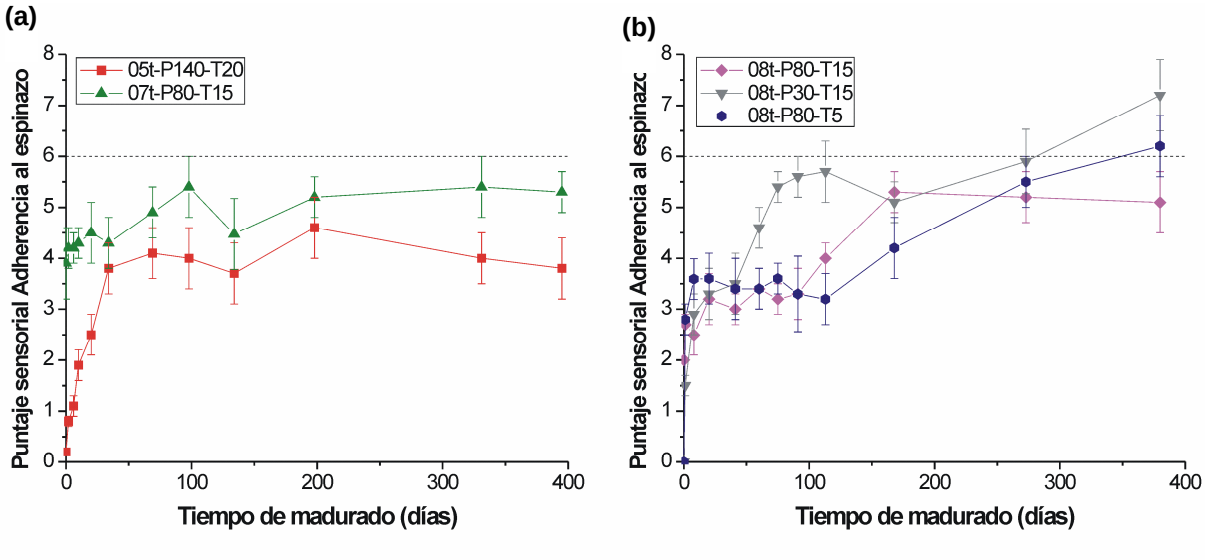

Figura IV.11 Evolución de la adherencia al espinazo en función del tiempo de maduración. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

En la **Figura IV.11 (a)** se observa que el lote 05t-P140-T20, sometido a un elevado nivel de prensa (140 g_f/cm^2), presenta una rápida evolución en la puntuación de este atributo al inicio del proceso y que luego de 60 días de maduración la misma no se ve modificada significativamente (p > 0,01), siendo el valor final promedio igual a 4. Este puntaje implica que al separar el filete, éste se

rompe debido a que se encuentra muy adherido al espinazo, ocasionando a nivel industrial una pérdida de calidad y un menor rendimiento del proceso. Al comparar los resultados obtenidos en los lotes 08t-P80-T15 y 08t-P30-T15, es posible visualizar en este último, correspondiente al menor valor de prensa, una evolución más rápida, alcanzando el puntaje óptimo a los 220 días de madurado.

IV.3.1.2.2 Aroma

El aroma típico de este producto se encuentra definido por Filsinger y col. (1982) como agradable, a “esteres volátiles”. Inicialmente, la anchoíta presenta un aroma a pescado fresco, el cual se pierde para dar lugar primero a un aroma neutro, a salmuera, y luego a ésteres volátiles que van aumentando en intensidad.

En la **Figura IV.12** se presentan los resultados obtenidos en relación a la evolución del aroma durante la maduración de los distintos lotes estudiados.

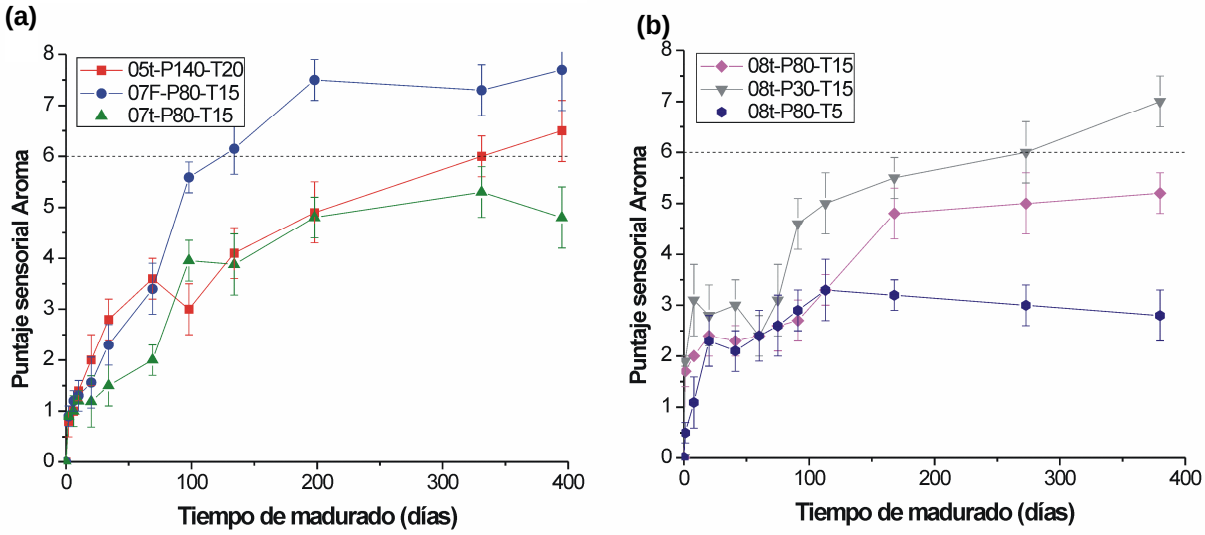

Figura IV.12 Evolución del aroma en función del tiempo de maduración. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

El lote 08t-P80-T5, el cual se mantuvo en una cámara de refrigeración a 5 ± 1 ºC durante el proceso, presentó un menor desarrollo del aroma comparado con los lotes madurados a temperatura ambiente e independientemente de las restantes variables consideradas (p < 0,01). Este hecho puede asociarse a los menores valores obtenidos previamente para este lote en los parámetros fisicoquímicos relacionados con la proteólisis (NNP/NT, NBV-T) y la oxidación lipídica (nº TBA), posiblemente debido a una disminución de la actividad enzimática endógena y bacteriana por la baja temperatura (**Secciones IV.2.2, IV.2.4.2 y IV.2.3.2**, respectivamente). Así, teniendo en cuenta que tanto los productos derivados de la proteólisis, tales como aminoácidos, péptidos pequeños y productos de la reacción de Maillard (Steffánson y Guðmundsdóttir, 1995; Martín y col., 1998); como de la oxidación lipídica contribuyen al flavor (Martín y col., 1999); podrían ser explicados los resultados obtenidos en esta Tesis donde una menor temperatura de maduración se tradujo en un menor desarrollo del aroma.

Por otra parte, de acuerdo a los resultados presentados en la **Figura IV.12 (b)** se observó una evolución más rápida del atributo aroma en el lote madurado con una prensa de 30 g_f/cm^2 (08t-P30-T15), comparado con el lote con un nivel de prensa de 80 g_f/cm^2 (08t-P80-T15), adquiriendo hacia el final de la maduración un aroma “extraño”. Este resultado concuerda con lo publicado por Filsinger (1987), quién determinó que la reducción en la prensa acelera el proceso de maduración. En base a los resultados obtenidos en relación a los índices de maduración NT/NNP y NBV-T, la aparición de este aroma podría ser atribuido a una excesiva proteólisis endógena ó actividad bacteriana.

Asimismo, en la **Figura IV.12 (a)**, se visualiza un rápido incremento en la puntuación del aroma correspondiente al lote 07F-P80-T15 (filetes), superando el valor 6 luego de 130 días de madurado. En este caso, los jueces detectaron a partir del día 158 un aroma sulfuroso y amoniacal, que estaría asociado a procesos de deterioro. Se debe destacar que el puntaje sensorial global para este lote fue de 2,3 (**Sección IV.3.1.1**), lo cual reafirma la necesidad del análisis de los atributos en forma individual. Por el contrario, el lote 07t-P80-T15 presentó una menor evolución en este atributo, cuya puntuación se estabilizó luego de 130 días (p > 0,01).

El lote 05t-P140-T20 también presentó luego de 334 días una sobremaduración en este atributo, el que los jueces calificaron como “rancio”. Los factores que podrían contribuir a ello son el mayor contenido graso inicial, que sumado a la importante deshidratación alcanzada durante el proceso (ver **Sección IV.2.1**) y la elevada temperatura durante la maduración, promoverían en conjunto una mayor oxidación de lípidos.

Resulta interesante mencionar con respecto a los resultados obtenidos para este atributo que, si bien durante la maduración se produce la oxidación de lípidos -evidenciada por el aumento en el nº TBA (**Sección IV.2.3.2**)- los jueces no manifestaron aroma rancio, a excepción del lote 05t-P140-T20. Este resultado concuerda con los estudios realizados por Triqui y Reineccius (1995a y 1995b) referidos a los compuestos volátiles que contribuyen al flavour típico de la *E. encrasicholus* salada-madurada. Estos autores identificaron en ese producto alcoholes y cetonas de 8 carbonos y (*E, Z*)-2, 6- nonadienal que contribuyen al aroma típico, sugiriendo que los mismos podrían ser formados por la acción de 12- y 15-lipoxigenasa sobre los AGPI n-3. Asimismo, fueron identificados compuestos carbonilos conjugados, que podrían ser productos de la autooxidación de AGPI n-3 y n-6 y 3-metil 2,4-nonadienona, proveniente de la oxidación de ácidos grasos furanoides (Triqui y Reineccius, 1995a y 1995b). Por otra parte, existen estudios acerca de los compuestos asociados al flavor característico de salmón en conserva (Girard y Durance, 2002) y de la participación de distintos aldehídos en el flavor de pescado ahumado, indicando que los compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica pueden contribuir al desarrollo del aroma típico de otros productos pesqueros. Asimismo, el fenómeno de oxidación de los lípidos se manifiesta durante la maduración de jamones, dando lugar a la formación de carbonilos volátiles, los cuales poseen una importante influencia sobre el flavor del producto final. Si bien la presencia de los mismos puede tener implicancias negativas sobre el aroma y el sabor, éstas se equilibran debido a la presencia de otro tipo de sustancias volátiles. De esta manera, el flavor típico del jamón requiere de un cierto nivel de compuestos que imparten notas rancias, si bien un exceso de los mismos lleva al desarrollo de un flavor no deseado (Martín y col., 1999; Andrés y col., 2004, Jurado y col., 2007).

IV.3.1.2.3 Color

Como se mencionara previamente, el color es uno de los atributos buscados por el consumidor de este tipo de producto y reviste importancia su determinación tanto sensorial como instrumentalmente.

El color en los productos cárnicos se encuentra determinado por una combinación de diferentes factores que incluyen la humedad y el contenido de agua y fundamentalmente, la forma química y la concentración de las hemoproteínas, especialmente de mioglobina (Mb). La mioglobina se ve afectada por los parámetros de proceso y también por la adición de nitratos o nitritos en los productos curados, los cuales dan lugar a la formación del pigmento rosado nitrosilmioglobina (MbFe(II)NO) (Adamsen y col., 2006). En el caso particular de las anchoítas saladas-maduradas, donde no se incorporan nitratos ni nitritos, ni la sal utilizada los contiene (CAA, Capítulo 6, Art. 461), el color rosado intenso obtenido durante la maduración se debe a los complejos procesos bioquímicos involucrados. En productos cárnicos fermentados que desarrollan este tipo de coloración sin la adición de nitritos o nitratos, tales como el jamón ibérico y el jamón de Parma, se ha asociado la formación del pigmento rojo con la presencia del complejo Zn-porfirina (Adamsen y col., 2006; Møller y col., 2007)

En la **Figura IV.13** se presentan los resultados de la evolución del color durante los 400 días en que se mantuvieron las muestras en proceso de maduración. Puede observase que en todos los lotes el puntaje obtenido en este atributo aumenta con el tiempo de maduración, siendo los lotes 08t-P80-T5 y 07F-P80-T15 los que presentaron la menor evolución del mismo.

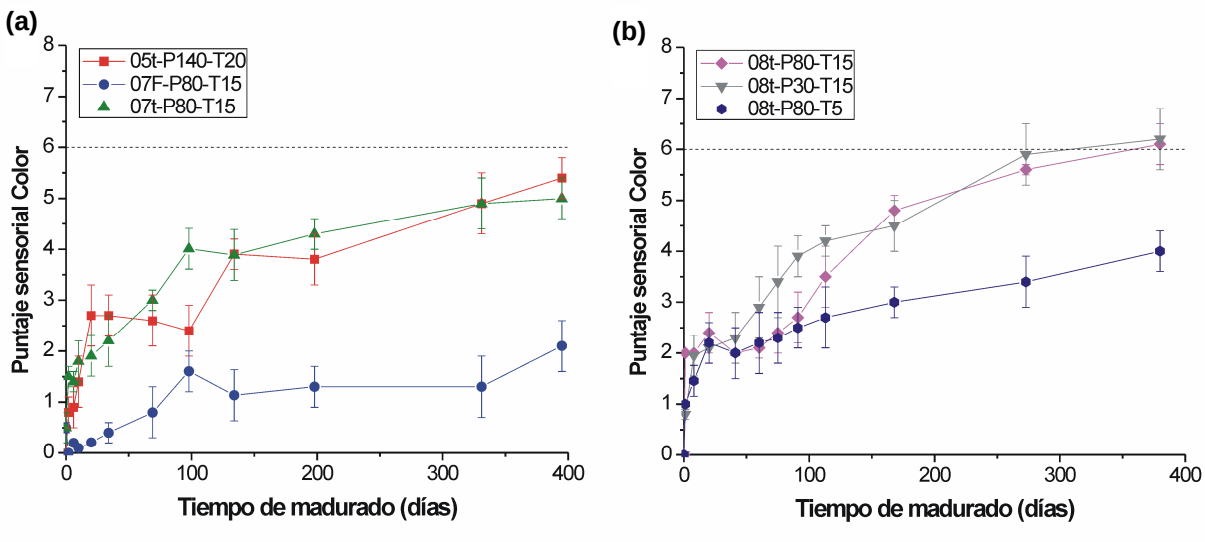

Figura IV.13 Evolución del color en función del tiempo de maduración. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

En la **Figura IV.13 (a)** puede observarse comparativamente el comportamiento durante la maduración del corte tradicional (07t-P80-T15) y del filete (07F-P80-T15), obteniendo este último un puntaje significativamente menor (p < 0,01). Los jueces observaron en el mismo que el color adquirido fue rosado tenue y uniforme, "descolorido" si se compara con el color esperado en el producto tradicional, lo cual pueden atribuirse al hecho que el empleo de filetes en la etapa de presalado promueve un mayor desangrado del músculo, resultando en este color diferente.

A su vez, no se observaron diferencias significativas en la evolución del color entre los distintos lotes procesados según el corte tradicional a temperaturas de 15 y 20 ºC (05t-P140-T20, 07t-P80-T15, 08t-P80-T15, 08t-P30-T15) (**Figuras IV.13 a** y **b**). De acuerdo a este resultado es posible inferir que las variaciones en la prensa dentro del rango 30-140 g_f/cm^2 y en la temperatura entre 15 y 20 ºC no influirían sobre el desarrollo del color. Por otra parte, dado que los lotes mencionados provienen de distintas temporadas de zafra, presentando un diferente contenido de lípidos inicial, podría señalarse que esta variable intrínseca

tampoco afectaría al color adquirido durante la maduración.

En cuanto al lote 07t-P80-T5 (**Figura IV.13 b**), madurado a una temperatura de 5 ± 1 ºC, presentó una menor velocidad de evolución de este atributo que el lote 07t-P80-T15, mas notoria a partir del día 184 ($p < 0,01$) probablemente debido a que la baja temperatura lentifica las reacciones involucradas en el desarrollo del mismo.

Cabe mencionar que el color rojo más intenso en la zona de la columna vertebral permaneció hasta estadios avanzados en el proceso e incluso en el producto donde el resto de los atributos indicaban ya madurado.

IV.3.1.2.4 Textura

Para la evaluación de la textura de la anchoíta durante la maduración se tienen en cuenta distintos aspectos, de acuerdo a la Tabla desarrollada por Filsinger y col. (1982). Uno de ellos es la humedad al tacto, que se manifiesta en el pescado fresco y se pierde gradualmente durante la maduración. Otras características evaluadas son la elasticidad, la firmeza y la resistencia al tacto. Así, la anchoíta salada-madurada debe presentar una textura no elástica, firme y resistente al tacto y sin humedad.

En la **Figura IV.14** se presenta la evolución de la textura en función del tiempo de maduración para los distintos lotes estudiados. Al comparar los resultados obtenidos para la maduración del corte tradicional (lote 07t-P80-T15) y de filetes (lote 07F-P80-T15) (**Figura IV.14 a**) es posible inferir que no existirían diferencias significativas en el desarrollo de esta característica durante el proceso debido al tipo de corte utilizado ($p > 0,01$). Por otra parte, de acuerdo a lo obtenido para los lotes 08t-P80-T5 y 08t-P80-T15 (**Figura IV.14 b**), en los cuales la variable que los diferencia es la temperatura (5 y 15 ºC, respectivamente), se observó una evolución más lenta de la textura en el lote mencionado en primer término ($p < 0,01$). Asimismo, el menor valor de prensa en el lote 08t-P30-T15 (P=30 g_f/cm^2) acelera el desarrollo de la textura a partir del día 60, comparado con el lote 08t-P80-T15 (P=80 g_f/cm^2) ($p < 0,01$), dando como resultado un producto que se

desgrana luego de 385 días de maduración.

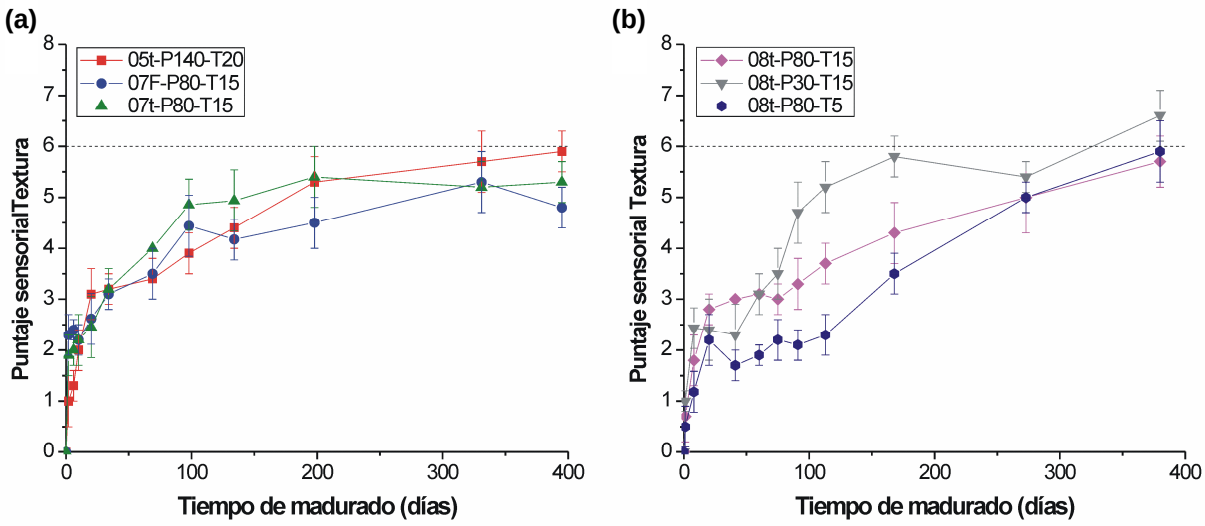

Figura IV.14 Evolución de la textura en función del tiempo de maduración. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

La textura se ha relacionado en jamones curados con la estructura muscular, es decir con la proteínas miofibrilares, que forman parte integral de la fibra muscular y el colágeno. Durante el proceso de maduración, las proteínas son hidrolizadas, llevando a un ablandamiento del jamón. En los casos en los cuales ocurre un exceso de proteólisis, el producto adquiere una textura pastosa y desgranada, correlacionando con parámetros fisicoquímicos como la humedad y el NNP (Sánchez Molinero, 2003). De acuerdo a los resultados obtenidos para los distintos lotes de anchoíta salada-madurada, las puntuaciones obtenidas por el lote 08t-P80-T5 en la textura concuerdan con un menor valor de NNP/NT, siendo de 26,6 % frente a un valor de 37,6 % correspondiente al lote 08t-P80-T15, lo cual estaría indicando una menor proteólisis, posiblemente debido a la baja temperatura, tal como fue mencionado previamente. Sin embargo, no se

observaron diferencias significativas en la relación NNP/NT correspondiente a los lotes 08t-P30-T15 y 08t-P80-T15, si bien los mismos presentaron diferencias apreciables en la textura.

IV.3.1.2.5 Sabor

El sabor se percibe principalmente en la lengua, donde se encuentran los receptores específicos (papilas gustativas) para los sabores fundamentales: dulce, salado, amargo, ácido y umami. En los productos cárnicos, los componentes que poseen mayor influencia sobre esta característica son el NaCl, los aminoácidos, los péptidos y los nucleótidos, seguidos por los iones inorgánicos, las aminas y algunos componentes sulfurados (Sánchez Molinero, 2003). De acuerdo a Steffánson y Guðmundsdóttir (1995), en las especies pelágicas maduradas los aminoácidos libres y péptidos constituirían los mayores contribuyentes al sabor de estos productos, si bien debe considerarse el rol de otros compuestos tales como ácidos grasos, nucleótidos y sus productos de descomposición. En tal sentido, Shah y col. (2009) han determinado que los ácidos grasos libres, producto de la lipólisis, contribuyen y actúan como resaltadores del sabor en filetes de arenque secos.

Los resultados obtenidos para la puntuación de este atributo en función del tiempo de maduración se presentan en la **Figura IV.15**, en la cual puede observarse un aumento en la misma, indicando el desarrollo del sabor ajamonado deseado en el producto si bien con distintas velocidades en algunos de los lotes estudiados.

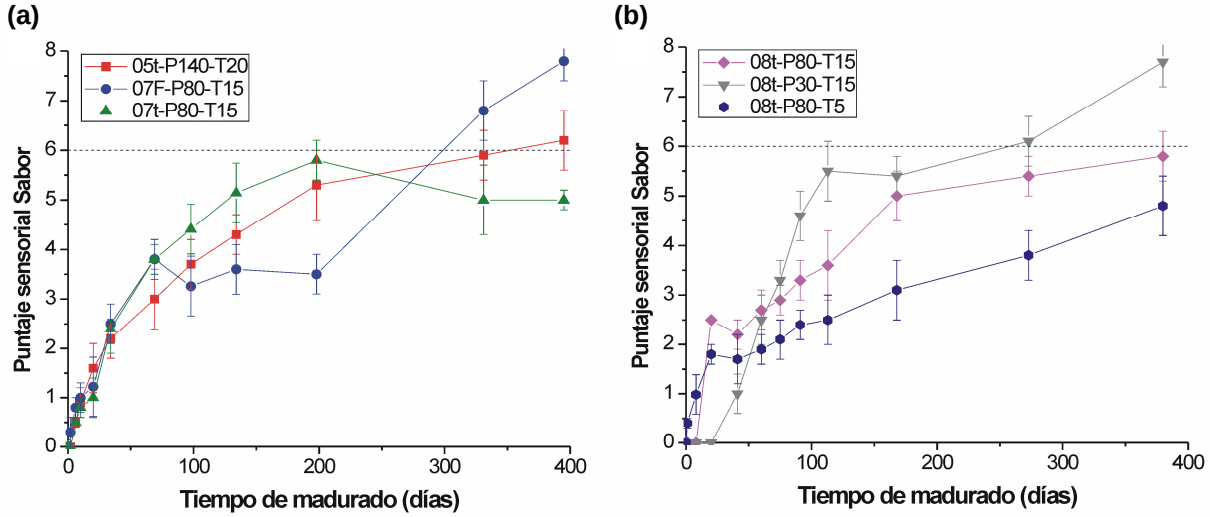

Figura IV.15 Evolución del sabor en función del tiempo de maduración. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73-4,03 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte, nivel de prensa y la temperatura (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

En la **Figura IV.15 (a)** se observa la evolución del sabor en el lote procesado según el corte tradicional (07t-P80-T15) y en los filetes (07F-P80-T15), presentando estos últimos un mayor puntaje a partir del día 255, donde los jueces manifestaron sabores extraños sin indicios de rancidez ($p < 0,01$). Por otra parte, no se observaron diferencias significativas entre los lotes 05t-P140-T20 y 07t-P80-T15, ambos procesados según el corte tradicional pero bajo diferentes condiciones de prensa y temperatura ($p > 0,01$). El efecto de la temperatura sobre la evolución del sabor puede visualizarse en la **Figura IV.15 (b)**, donde el puntaje obtenido por el lote 08t-P80-T5 resultó significativamente menor que el del lote 08t-P80-T15 ($p < 0,01$). Por otra parte, la menor prensa aplicada en el lote 08t-P30-T15 se tradujo en un mayor desarrollo de este atributo, respecto del lote 08t-P80-T15 ($p < 0,01$).

IV.3.2 Efecto de las distintas variables sobre las características del producto obtenido

En virtud de los resultados obtenidos acerca de la evolución de los distintos atributos en función de las variables estudiadas, resulta de interés analizar la incidencia de las mismas sobre las características sensoriales del producto obtenido luego de un tiempo dado de maduración. Para ello se representaron en gráficos radiales los puntajes correspondientes a los atributos adherencia al espinazo, aroma, color, textura y sabor, de acuerdo a la Tabla de Filsinger y col. (1982) (**Figuras IV.16**, **IV.17**, **IV.18** y **IV.19**).

IV.3.2.1 Efecto del nivel de prensa

En la **Figura IV.16** se visualiza el efecto del nivel de prensa como única variable sobre las características del producto obtenido, revelando que un menor valor en la misma lleva a la obtención de un producto con mayor puntuación en los atributos, excepto en color, el cual se mantuvo en niveles similares en todos los lotes ($p > 0,01$). En los lotes madurados bajo una prensa de 19 g_f/cm^2 y 30 g_f/cm^2 las diferencias en cuanto a la puntuación de los distintos atributos no resultaron notorias, pero sí lo fueron al aumentar la prensa a 140 g_f/cm^2 ($p < 0,01$) (**Figura IV.16 a**). También se observaron importantes diferencias en las características sabor, aroma, textura y adherencia al espinazo al incrementar la prensa de 30 g_f/cm^2 a 80 g_f/cm^2 (**Figura IV.16 b**). En base a los resultados obtenidos, el color no resultaría afectado por esta variable mientras que las puntuaciones correspondientes al resto de las características evaluadas fueron significativamente distintas en función de la prensa aplicada ($p < 0,01$).

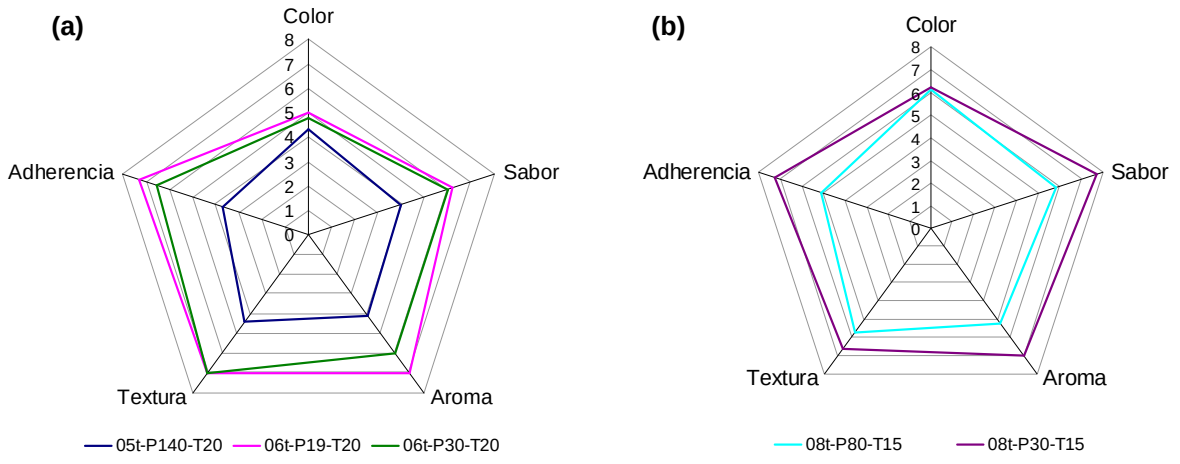

Figura IV.16 Influencia del nivel de prensa sobre las características sensoriales de anchoíta salada-madurada. (a) Temperatura de maduración 20 ºC, t=120 d (4,03-3,73 g_{Lip}/100 g), (b) Temperatura de maduración 15 ºC, t=385 d (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g)

IV.3.2.3 Efecto de la temperatura

Por otra parte, en la **Figura IV.17** se puede observar la influencia de la temperatura sobre las características del producto. En el caso de los lotes 06t-P30-T20 (20 ºC) y 06t-P30-T15 (15 ºC), que se encuentran en el rango de las temperaturas usuales de procesamiento en los saladeros, el efecto de esta variable se manifestó fundamentalmente en la adherencia al espinazo, la textura y el aroma, los cuales obtuvieron una puntuación correspondiente a un producto sobremadurado en el lote de mayor temperatura (**Figura IV.17 a**). En los lotes 08t-P80-T15 (15 ºC) y 08t-P80-T5 (5 ºC), los atributos más afectados por la reducción de la temperatura fueron el color, el sabor y el aroma (**Figura IV.17 b**), atribuible a la lentificación de las reacciones químicas y enzimáticas. En la industria del salado-madurado local se utiliza empíricamente la temperatura, además del nivel de prensa, como parámetro para regular la velocidad de maduración, siendo de común conocimiento que la reducción en la misma lentifica el proceso. Este parámetro también es utilizado para regular la velocidad de

maduración en jamones (Martín y col., 1998) y embutidos fermentados (Fernández y col., 2000).

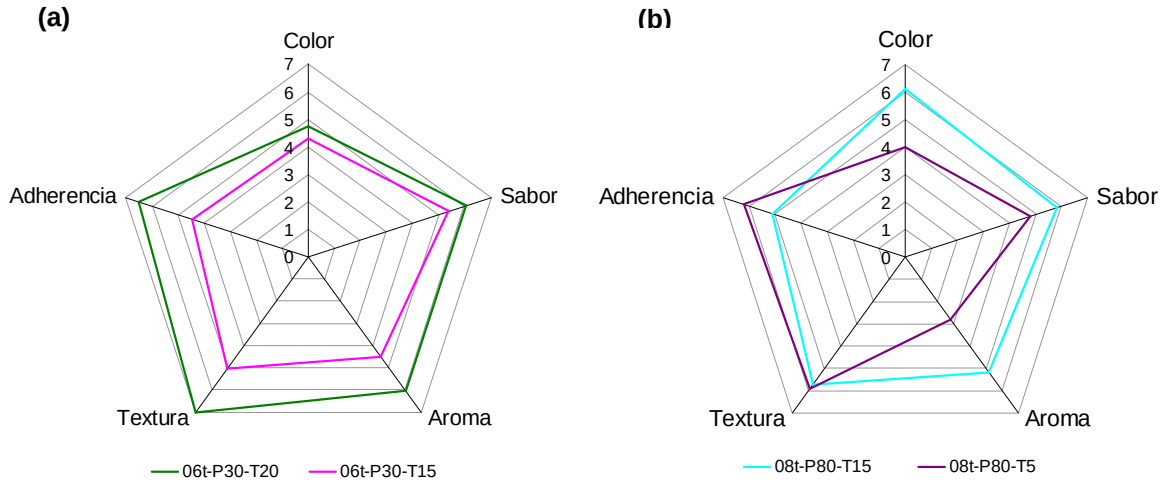

Figura IV.17 Influencia de la temperatura sobre las características sensoriales de anchoíta salada-madurada. (a) Nivel de prensa 30 g_f/cm^2, t=120 d (3,73 g_{Lip}/100 g), (b) Nivel de prensa 80 g_f/cm^2, t=385 d (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g)

IV.3.2.4 Efecto del tipo de corte

En la **Figura IV.18** se presentan las puntuaciones correspondientes a los lotes procesados con diferentes cortes. Como puede observarse, aquéllos correspondientes al madurado de filetes (06F-P19-T20 y 07F-P80-T15) presentaron luego de 120 días una menor puntuación en el color y la textura (p < 0,01) y similares puntajes para el resto de los atributos (**Figuras IV.18 a** y **b**). Cabe señalar que los jueces coincidieron en que si bien el color obtenido por esta muestra no se corresponde con el tradicional, resulta agradable y aceptable para su consumo. En la **Figura IV.19** se presentan fotografías donde se aprecia esta marcada diferencia en el color.

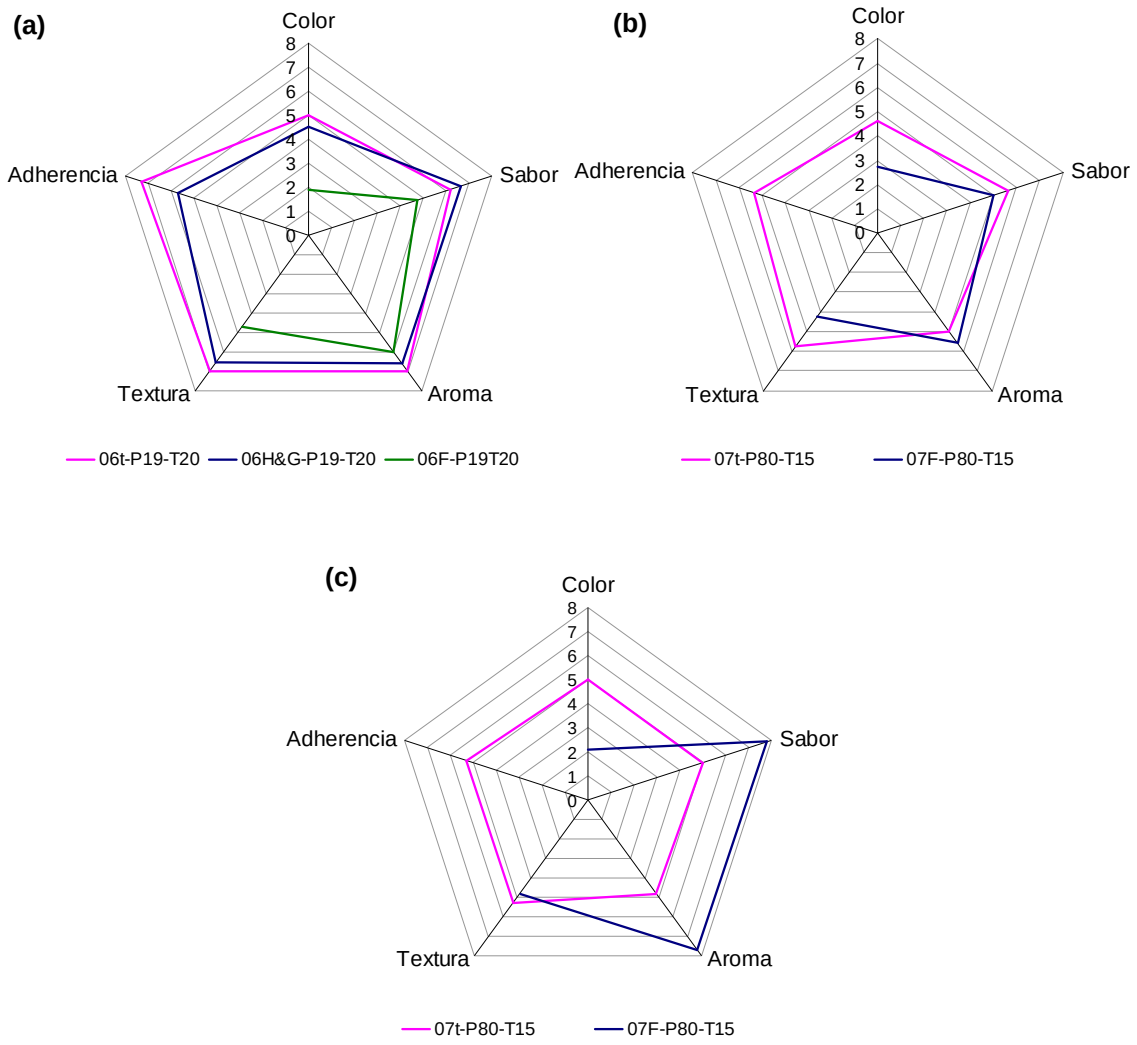

Figura IV.18 Influencia del tipo de corte (tradicional, H&G, filete) sobre las características sensoriales de anchoíta salada-madurada. (a) Nivel de prensa 19 g_f/cm^2, Temperatura 20 ºC, t=120 d (3,73 g_{Lip}/100 g), (b) Nivel de prensa 80 g_f/cm^2, Temperatura 15 ºC, t=120 d (3,45 g_{Lip}/100 g), (c) iguales condiciones que (b), t=385 d

En la **Figura IV.18 (a)** se presentan también los puntaje correspondientes al lote 06H&G-P19-T20, cuya diferencia respecto al corte tradicional radica en que el presalado se realiza sobre el pescado ya descabezado y parcialmente eviscerado, en vez de llevarlo a cabo sobre el pescado entero. En base a los resultados obtenidos, no se registraron diferencias significativas en cuanto al

desarrollo de las características sensoriales entre este lote y aquéllos que fueron procesados siguiendo la secuencia de cortes utilizada tradicionalmente en la industria del salado-madurado (06t-P19-T20) (p > 0,01). Por tal motivo, sería factible realizar esta modificación en el proceso sin alterar la calidad sensorial del producto obtenido.

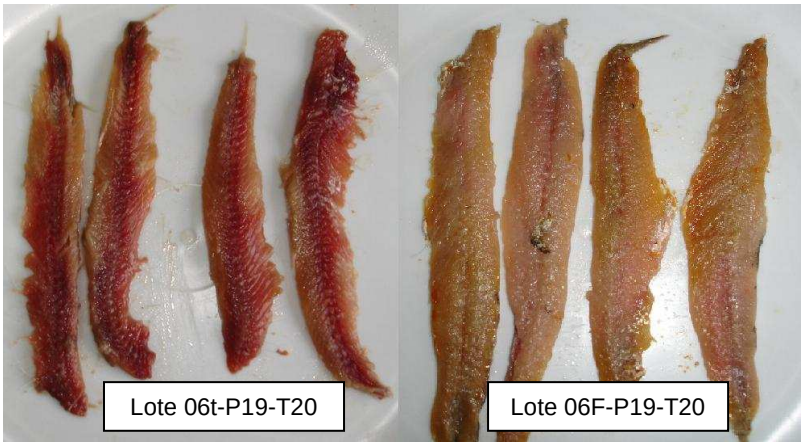

Figura IV.19 Fotografías de la cara interna del filete de los lotes correspondientes al corte tradicional (06t-P19-T20) y a filetes (06F-P19-T20), madurados bajo iguales condiciones de prensa y temperatura

Según los resultados hallados, la presencia de parte de las vísceras (tracto pilórico) durante el madurado influiría en el desarrollo de las características sensoriales. Tal como fue mencionado en la **Sección I.5.2** de la Introducción general, algunos autores han indicado que una evisceración y limpieza rigurosas llevan a una maduración más lenta y a un producto que no adquiere el flavor característico (Voskresensky, 1965; Steffánson y Guðmundsdóttir, 1995; Hernandez-Herrero y col., 1999b). Los resultados obtenidos para los lotes en los cuales se llevó a cabo la maduración de filetes indican una menor velocidad de evolución de la adherencia al espinazo, el aroma, la textura y el sabor, hacia un producto madurado. Este hecho podría sugerir que si bien la completa eliminación de las vísceras lentifica el proceso, las enzimas presentes en el músculo estarían

contribuyendo al desarrollo de algunas de las características sensoriales deseadas, con lo cual ambos sistemas enzimáticos aportarían al resultado final obtenido.

Resulta interesante señalar el comportamiento del lote 07F-P80-T15, en el cual al proseguir el proceso de maduración (385 días, **Figura IV.18 c**), los filetes obtuvieron mayor puntaje en aroma y sabor, adquiriendo características de un producto sobremadurado. En este caso, de acuerdo a lo manifestado por los jueces y los valores obtenidos para nº TBA (Ver **Sección IV.2.3.2**), este hecho no sería atribuible a la oxidación de las grasas sino a productos de la proteólisis o de la actividad microbiana.

IV.3.3 Modelo sensorial de maduración

En forma general, los cambios en un parámetro de calidad, como es en este caso la puntuación sensorial, puede ser modelada según la siguiente ecuación (**Ec. IV.2**):

$$\frac{dP}{dt} = -kP^n \qquad \textbf{Ec. IV.2}$$

donde: P: puntaje sensorial

k: constante de velocidad

n: orden de reacción

Para la descripción de la evolución de la características sensoriales en función del tiempo de maduración se propone un modelo de conversión fraccional, basado en una cinética de primer orden (n=1). Por lo tanto, integrando la **Ecuación IV.2** para las condiciones de contorno detalladas se obtiene el siguiente modelo cinético (**Ec. IV.3**):

Condiciones de contorno: $t = 0 \quad P = P_0$

$t \rightarrow \infty \quad P = P_f$

$$\frac{P - P_f}{P_0 - P_f} = e^{-kt}$$ **Ec. IV.3**

Esta ecuación puede ser simplificada reordenando los términos y teniendo en cuenta que $P_0 < P_f$, de forma que se obtiene la **Ecuación IV.4**.

$$P = P_f - Be^{-kt}$$ **Ec. IV.4**

En la **Tabla IV.9** se presentan los valores obtenidos para los parámetros mediante regresión no lineal, utilizando como restricción $P_f < 8$, mediante el software OriginPro 7,5. Los valores de R^2 resultaron mayores a 0,7423, por lo que es posible considerar que el modelo propuesto describe adecuadamente tanto la evolución de los caracteres sensoriales en forma individual como la de la puntuación sensorial total.

De acuerdo a los valores obtenidos para el parámetro P_f no todas las condiciones operativas permitirían lograr un producto con las características deseadas en el punto óptimo de maduración, independientemente de lo prolongado del proceso. Este es el caso del lote 07F-P80-T15, en el que el potencial desarrollo del color se encuentra muy por debajo del valor 6, mientras que el aroma y el sabor presentan una mayor contante de velocidad, lo cual puede llevar a que el producto adquiriera rápidamente características no deseadas. Por otro lado, en el lote 08t-P80-T5, los atributos que comprometen la maduración del producto son aroma y color y en el lote 05t-P140-T20, la adherencia al espinazo. Por el contrario, las mejores condiciones operativas estarían dadas en el lote 08t-P30-T15, que de acuerdo al modelo propuesto alcanzaría la maduración luego de 233 días.

Es interesante destacar que, en base a los valores de las constantes *k*, la adherencia al espinazo resulta en la mayoría de los lotes el atributo sensorial que presenta la mayor velocidad inicial de evolución, junto con la textura.

Tabla IV.9 Parámetros del modelo sensorial de maduración de anchoíta salada

Lote		Puntuación Global	Atributos sensoriales				
			Adherencia al espinazo	Aroma	Color	Textura	Sabor
05t-P140-T20	P_f	5,365	4,062	6,681	5,512	5,753	6,215
	B	4,678	3,664	6,003	4,500	4,987	6,087
	k	0,0116	0,0458	0,0067	0,0034	0,0117	0,0094
	R^2	0,9355	0,9679	0,9548	0,8728	0,9264	0,9937
07t-P80-T15	P_f	5,208	5,243	5,327	5,060	5,328	5,384
	B	5,170	1,172	5,010	4,059	4,425	5,592
	k	0,0172	0,0174	0,0102	0,0110	0,0202	0,0183
	R^2	0,9833	0,7423	0,9326	0,9648	0,9361	0,9731
07F-P80-T15	P_f	4,475	---	8,047	2,011	4,929	8,004
	B	4,398	---	7,798	1,799	3,725	7,769
	k	0,0098	---	0,0106	0,0065	0,0165	0,0055
	R^2	0,9892	---	0,9645	0,8061	0,8547	0,9313
08t-P80-T15	P_f	5,843	5,548	5,634	7,545	5,324	5,785
	B	4,614	3,192	4,413	6,251	4,369	5,633
	k	0,0075	0,0072	0,0069	0,0041	0,0108	0,0103
	R^2	0,9324	0,8954	0,8746	0,8968	0,8966	0,9462
08t-P30-T15	P_f	6,638	6,0635	7,400	6,226	6,222	7,823
	B	5,956	5,4271	5,958	5,493	5,502	8,431
	k	0,0096	0,0242	0,0063	0,0087	0,0115	0,0075
	R^2	0,9411	0,8779	0,8231	0,9475	0,9216	0,9351
08t-P80-T5	P_f	4,578	6,737	3,052	3,575	8,004	5,452
	B	3,849	4,918	3,038	3,123	7,449	4,963
	k	0,0082	0,0048	0,0294	0,0138	0,0031	0,0046
	R^2	0,9013	0,6966	0,9505	0,9063	0,9459	0,9603

IV.3.4 Correlación entre Evaluación Sensorial e índices de maduración

A fin de determinar la utilidad de los índices fisicoquímicos utilizados en el presente trabajo de Tesis para evaluar el grado de maduración en forma objetiva

(NBV-T y NNP/NT, Ver **Secciónes IV.2.2** y **IV.2.4.2**), se estudió la correlación de los mismos con el puntaje sensorial correspondiente a las distintas muestras de anchoíta durante el proceso de salado-madurado.

Los resultados obtenidos para la correlación de los citados índices y la puntuación sensorial total (promedio) se encuentran presentados en la **Figura IV.20**. En la misma, es posible apreciar que la relación NNP/NT exhibe comparativamente una mejor correlación con el puntaje sensorial total (R^2 > 0,7312). Cabe señalar, que si bien de acuerdo a Filsinger y col. (1982) la relación entre el NBV-T y el puntaje sensorial ajusta a una ecuación exponencial, en el presente trabajo no se obtuvieron mayores coeficientes de determinación mediante dicho ajuste, respecto de la correlación lineal.

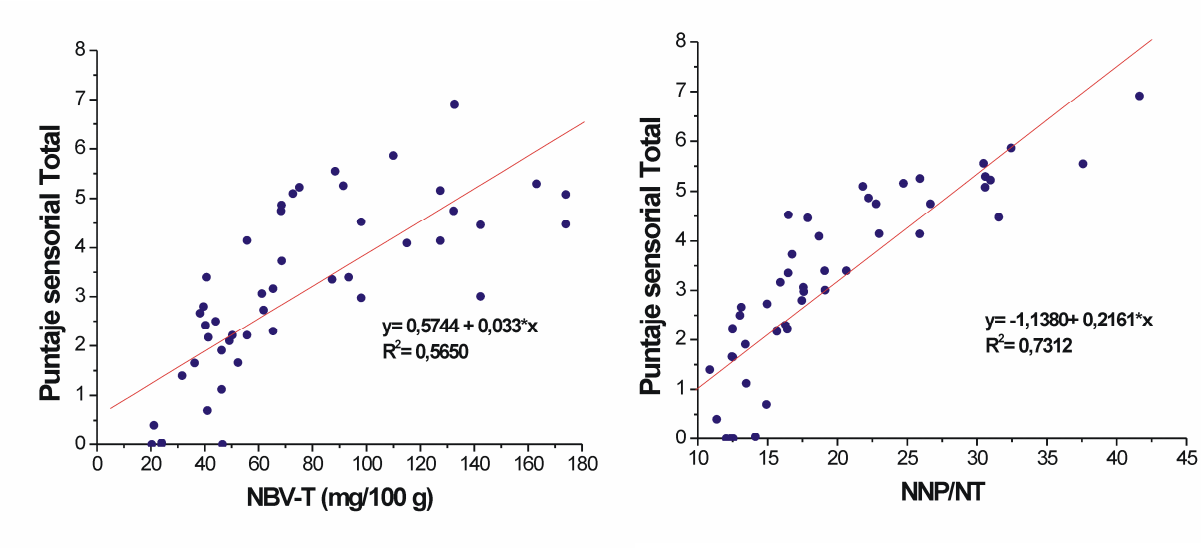

Figura IV.20 Correlación entre la puntuación sensorial total (promedio de todos los atributos valorados) e índices fisicoquímicos para evaluar el grado de maduración de anchoíta salada

Teniendo en cuenta sólo los atributos sabor y aroma, los cuales se ven afectados por las bases nitrogenadas volátiles, se obtuvo una mejor correlación del NBV-T con el puntaje sensorial, con un valor de R^2 > 0,7301 (**Figura IV.21**). En tal sentido, Triqui y Reineccius (1995a) han sugerido que la TMA combinada

con productos de la oxidación lipídica podría ser uno de los compuestos responsables del flavor típico de la anchoíta salada madurada.

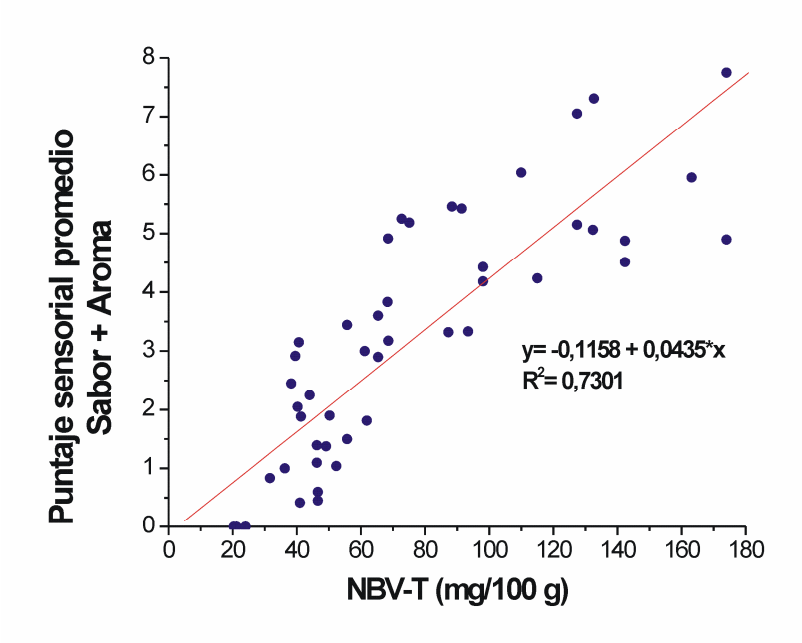

Figura IV.21 Correlación entre la puntuación sensorial promedio de los atributos sabor y aroma y el contenido de NBV-T de anchoíta salada-madurada

Por otra parte, al considerar las características sensoriales sabor, aroma, textura y color se pudo obtener un mayor coeficiente de determinación R^2 para la correlación del puntaje sensorial en función de la relación NNP/NT (**Figura IV.22**). Así, la adherencia al espinazo fue el atributo que presentó la menor correlación lineal con los dos índices fisicoquímicos de maduración estudiados. Este hecho puede estar relacionado con la alta velocidad de desarrollo observada en el mismo al inicio del proceso, comparado con el resto de las características que presentan una evolución más lenta y gradual.

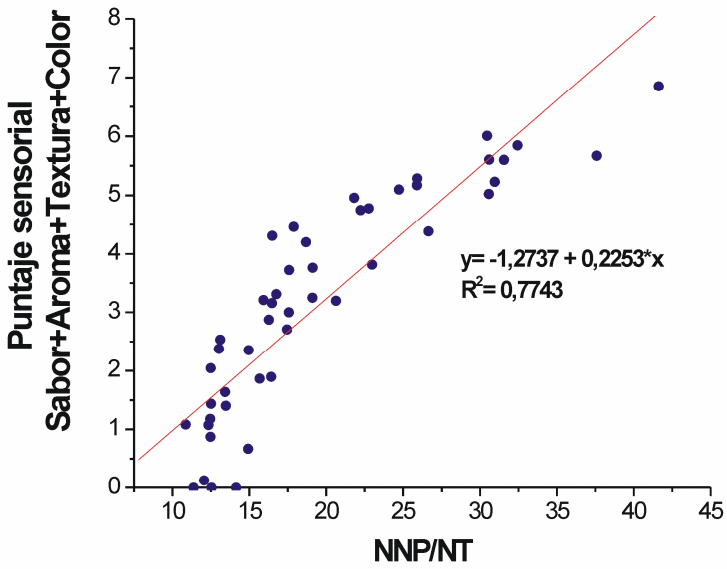

Figura IV.22 Correlación entre la puntuación sensorial promedio de los atributos sabor, aroma, textura y color y la relación NNP/NT correspondiente anchoíta salada-madurada

De acuerdo a los resultados obtenidos, el índice NNP/NT representa más adecuadamente la evolución de la puntuación sensorial global de la anchoíta salada durante el proceso de maduración. Este hecho podría estar dado por la incidencia de la proteólisis ocurrida durante el proceso de maduración y el desarrollo de las características sensoriales. En relación a ello, se ha mencionado en la **Sección IV.3.1.2.5** que los aminoácidos libres y los péptidos serían importantes contribuyentes al flavor de las especies pelágicas maduradas. Por otra parte, la textura también se ve modificada por el grado de proteólisis, debido a su efecto sobre las proteínas estructurales, así como también el color, posiblemente relacionado a modificaciones en las hemoproteínas.

IV.3.5 Determinación instrumental del color superficial

A fin de obtener una medición objetiva del color y poder correlacionar con la evaluación sensorial, se realizaron lecturas con colorímetro en muestras con diferente grado de maduración.

En la anchoíta fresca no se encontraron diferencias significativas entre los parámetros de color medidos para la zona ventral y de la cola, ni entre los diferentes lotes ($p > 0,01$). Los valores promedios de L^*, a^* y b^* para el pescado fresco fueron 34,66 ± 2,42, 12,68 ± 1,65 y 8,98 ± 0,55, respectivamente.

IV.3.5.1 Cambios en el color en la etapa de presalado

Teniendo en cuenta los parámetro determinados, *a** resultó el más afectado en esta etapa. En los lotes en los que se realizó el presalado sobre el pescado entero se observó luego de esta etapa una importante reducción en el valor a^* en la zona ventral hasta 3,38 ± 1,63, mientras que en la zona de la cola no se vio modificado significativamente ($p > 0,01$). En cambio, en el lote 07F-P80-T15, el valor a^* se redujo en ambas zonas ($p < 0,01$), alcanzando un promedio de 5,51 ± 1,55 luego del presalado. El parámetro a^* se relaciona con el color rojo de la muestra, el cual puede ser asociado con el contenido y la forma en que se encuentra la mioglobina (Lindahl y col., 2001; Chaijan y col., 2005). Corzo y col. (2006b y 2006c) han obtenido resultados similares durante el salado por vía húmeda de láminas de sardina (*Sardinella aurita*), registrándose una disminución en el valor *a** en función del tiempo de inmersión en salmuera, atribuida al desangrado del pescado. En el caso del presalado de ejemplares enteros la zona ventral se desangra más fácilmente, mientras que en la zona caudal los filetes se encuentran fuertemente unidos al espinazo, dificultando el desangrado. En el caso del presalado de filetes, el músculo de la cara interna de los mismos se encuentra completamente expuesto, por lo que el desangrado es más uniforme y en consecuencia no se diferencian la zona ventral y la de la cola. El parámetro L^* mostró un leve incremento en el lote 07F-P80-T15, hasta un valor de 40,72 ± 1,71, posiblemente asociado a la formación de una película delgada de sal y proteína en la superficie del músculo (Ismail y Wootton, 1992; Corzo y col., 2006b y 2006c). Finalmente, el parámetro b^* no se vio modificado por esta operación ($p > 0,01$).

IV.3.5.2 Modificaciones en los valores *L**, *a** y *b** durante la maduración

En las **Figuras IV.23**, **IV.24** y **IV.25** se presenta la evolución de los parámetros de color medidos en los distintos lotes en función del tiempo de maduración. Asimismo, en la **Tabla IV.9** se presentan los valores de *L**, *a** y *b** correspondientes al producto obtenido en los distintos lotes de la Experiencia 2.

El valor L^*, presentado en la **Figura IV.23**, fue el que presentó mayores fluctuaciones a lo largo de la maduración en todos los casos analizados. En los lotes 07t-P80-T15 y 08t-P80-T5 exhibió un leve aumento durante la maduración, mientras que en el resto se mantuvo constante ($p < 0,01$). Por otra parte, en el único caso en que se vieron diferencias significativas entre la zona ventral y de cola fue en el lote 08t-P80-T15 ($p < 0,01$).

Como puede observarse en las **Figuras IV.24 (a)** y **(b)**, el valor *a** -asociado en el rango de valores obtenidos al color rojo- fue el que resultó mayormente modificado durante la maduración, presentando un marcado incremento en todos los lotes estudiados ($p < 0,01$). Por otra parte, no se encontraron diferencias para este parámetro entre la zona ventral y la de la cola ($p > 0,01$). De acuerdo a la planilla utilizada para la evaluación sensorial (Ver **Sección II.4.2**), al comienzo del proceso el filete presenta un color rojo oscuro en la zona de la columna vertebral y un color perláceo en el resto del músculo. A medida que se produce la maduración la carne toma un color rosado intenso uniforme (Filsinger y col., 1982), lo cual se correlaciona con el aumento observado en el valor a^*. En la **Figura IV.24 (a)** se evidencia la diferencia en la evolución de este parámetro en función del tipo de corte utilizado, donde el lote 07F-P80-T15 (filetes) presenta un leve aumento del mismo con el tiempo de maduración, manteniéndose por debajo de la curva correspondiente al lote 07t-P80-T15 (corte tradicional) ($p < 0,01$). Los valores registrados en los lotes 06t-P19-T20 y 06F-P19-T20 muestran la misma tendencia en cuanto al valor *a** en función del tipo de corte (**Tabla IV.9**). Esta diferencia se relaciona con el mayor desangrado que se produce en los filetes durante la etapa de presalado, el cual lleva a una decoloración del producto madurado.

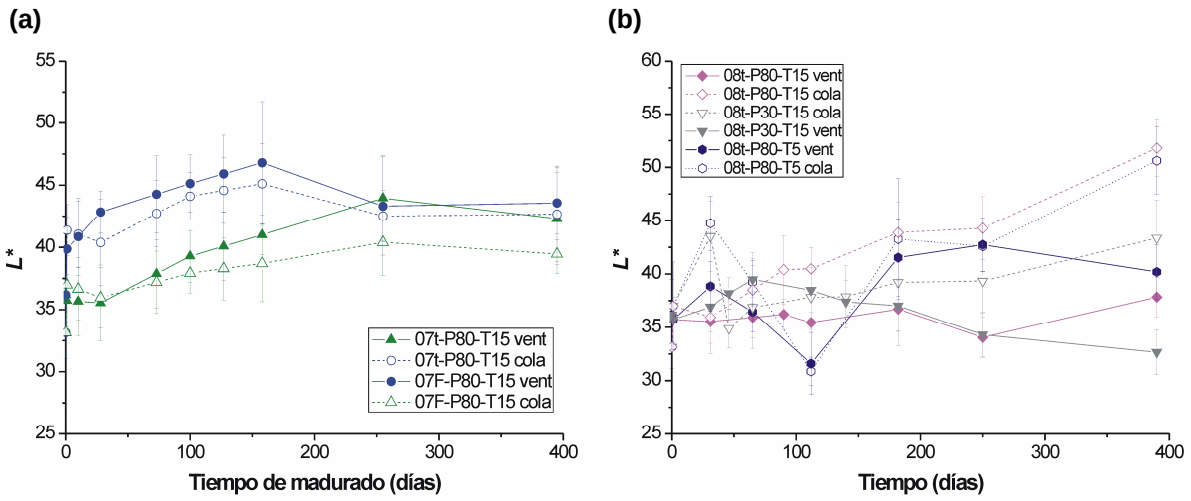

Figura IV.23 Modificaciones en el parámetro *L** durante la maduración de anchoíta salada. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

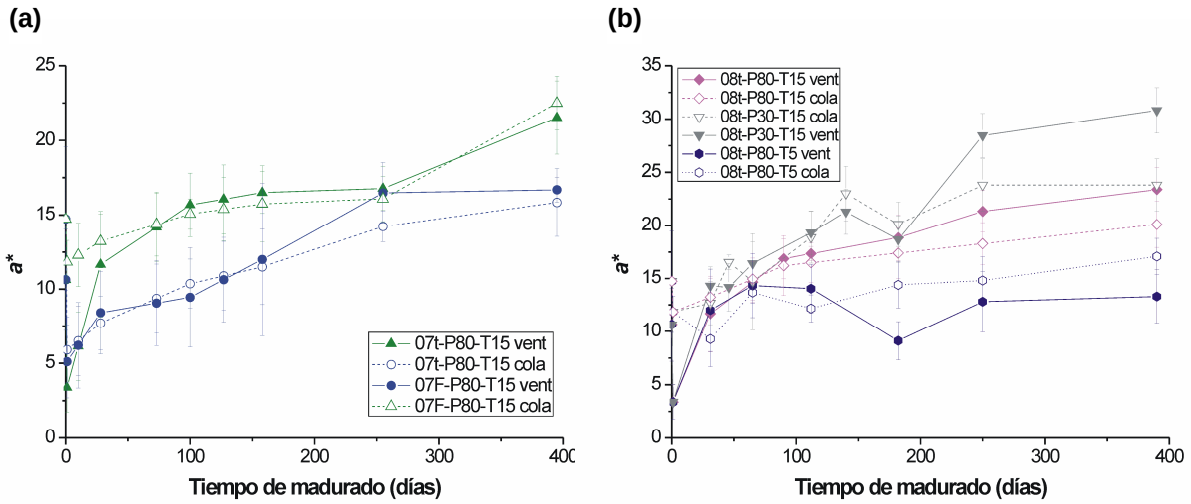

Figura IV.24 Modificaciones en el parámetro *a** durante la maduración de anchoíta salada. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

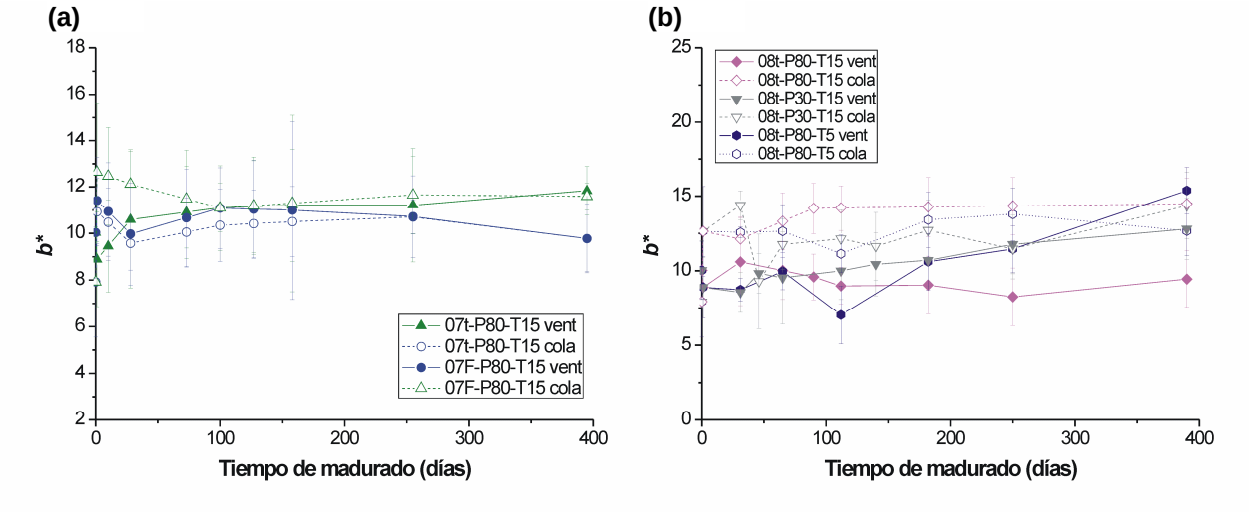

Figura IV.25 Modificaciones en el parámetro *b** durante la maduración de anchoíta salada. (a) materia prima con mayor contenido inicial de lípidos (3,73 g_{Lip}/100 g), variaciones en el tipo de corte (b) materia prima con menor contenido inicial de lípidos (2,04-2,42 g_{Lip}/100 g), variaciones en el nivel de prensa y la temperatura

Por otra parte, de acuerdo a los resultados presentados en la **Figura IV.24 (b)** para los lotes 08t-P80-T15 y 08t-P30-T15 y en la **Tabla IV.9** para los lotes 06t-P19-T20 y 06t-P30-T20, un distinto nivel de prensa no afectaría a la evolución del parámetro *a** ($p > 0,01$). Con respecto al efecto de la temperatura sobre la evolución de a^*, se obtuvieron menores valores cuando se realizó la maduración a 5 ºC (lote 08t-P80-T5) que los medidos durante el madurado a temperatura ambiente (lote 08T-P80-T15) ($p < 0,01$). Luego de 13 meses de maduración el valor de a^* fue 15,19 ± 1,56 a 5 ºC y 27,31 ± 1,25 a 15 ºC (Figura V.2), lo cual indicaría un efecto de la temperatura sobre la formación del color. Estos resultados concuerdan con lo observado sensorialmente en relación a las distintas variables operativas implementadas (Ver **Sección IV.3.2**).

En cuanto al parámetro b^*, cuya evolución se presenta en la **Figura IV.25**, el mismo no presentó variaciones estadísticamente significativas durante la maduración en los lotes procesados según el corte tradicional (07t-P80-T15, 08t-P80-T15, 08t-P80-T5) ($p < 0,01$). Asimismo, este valor fue mayor en la zona de

caudal, donde existe una mayor acumulación de lípidos, que en la zona ventral ($p < 0,01$), haciéndose esta diferencia más notoria hacia el final del proceso. El valor b^* está ligado al contenido de grasa del músculo y se ve afectado por fenómenos oxidativos (Corzo y col., 2006b; Tateo y col., 2007). Por otra parte, se observó en el lote 07F-P80-T15 un aumento en dicho parámetro durante la maduración ($p < 0,01$). Si bien el desarrollo de una coloración amarilla se ha asociado a la oxidación de lípidos (Hamre y col., 2003b; Thanonkaew y col., 2006) en este caso, al haberse obtenido menores valores de nº TBA respecto del lote procesado de forma tradicional, el incremento de *b** durante la maduración de filetes no sería atribuible al mencionado origen.

Tabla IV.10 Coordenadas *L**, *a** y *b** y valores de ΔE obtenidos para diferentes cortes de anchoíta madurada, y para el corte tradicional procesado bajo distintas condiciones de prensa y temperatura (Experiencia 2)

	L*	***a****	***b****
06t-P30-T15	37,26 ± 3,84[a]	16,76 ± 3,11[a]	12,91 ± 3,10[a]
06t-P30-T20	39,06 ± 3,15[a]	16,96 ± 2,60[a]	11,79 ± 1,69[ab]
06t-P19-T20	37,70 ± 4,65[a]	19,84 ± 2,62[a]	10,25 ± 1,29[ab]
06H&G-P19-T20	42,21± 1,12[a]	16,04 ± 1,06[a]	10,75 ± 0,84[ab]
06F-P19-T20	48,86 ± 1,74[b]	10,87 ± 1,79[b]	9,59 ± 1,34[b]

La diferencia de color *ΔE* (**Ec II.9**, **Sección II.2.6**) (CIE, 1976) permite cuantificar el cambio total de color durante el proceso, tomando como referencia en este caso los valores de *L**, *a** y *b** correspondientes a la anchoíta fresca. En la **Figura IV.26** se presentan la evolución de *ΔE* en los distintos lotes estudiados, indicando un cambio en los parámetros de color durante el proceso de maduración. De acuerdo a la **Figura IV.27**, La tendencia obtenida para los valores *ΔE* presenta una muy buena correlación con la puntuación sensorial para color ($R^2 > 0,8288$), por lo cual constituye una alternativa para el seguimiento y

evaluación de este atributo a lo largo de la maduración si no se cuenta con un panel entrenado.

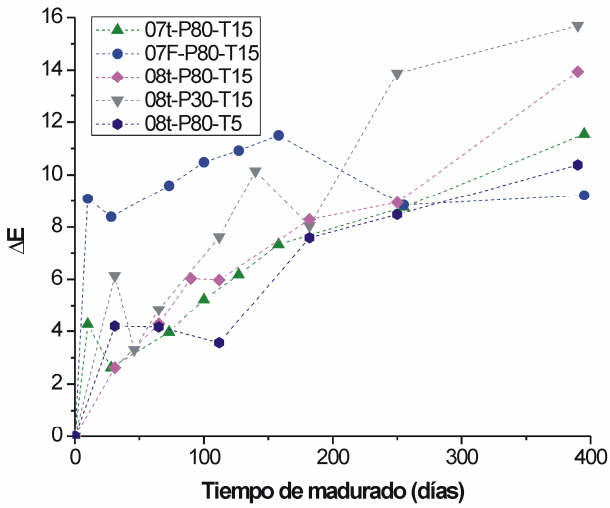

Figura IV.26 Evolución del valor ΔE durante la maduración de anchoíta salada

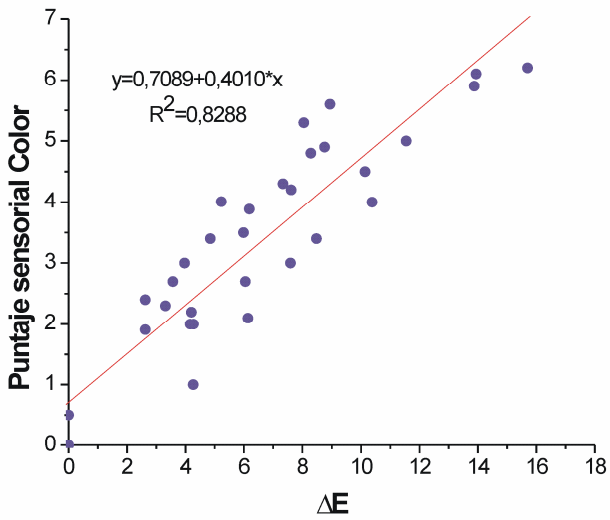

Figura IV.27 Correlación entre ΔE y la puntuación sensorial del color correspondientes a anchoíta salada con diferentes grados de maduración

IV.3.6 Modificaciones en los parámetros de textura durante la maduración de anchoíta salada

A fin de obtener una medida objetiva de la textura del producto y evaluar la correlación con la evaluación sensorial de este atributo, se llevaron a cabo ensayos de corte con texturómetro, los cuales permiten evaluar la textura en términos de Fuerza Máxima de Corte (*FMC*), energía absorbida (*A)* y la pendiente de la curva (*e*). Este tipo de ensayos no realizan exclusivamente una acción de corte ya que, al comienzo del ensayo el instrumento de corte comprime la superficie del alimento hasta que la presión es suficiente para romperla. Por ello es posible que la magnitud de la fuerza de corte, la que se podría correlacionar directamente con la firmeza de las pastas ensayadas, esté muy influenciada por fuerzas de resistencia a la tensión (Damasio y col., 1990).

Los resultados obtenidos para los parámetros *FMC*, *e* y *A* se presentan en la **Tabla IV.11**. En los tres lotes estudiados se produjo una disminución en los parámetros *FMC* y *A* con el incremento del tiempo de maduración, mientras que el parámetro *e* no mostró diferencias significativas ($p > 0,01$). La disminución en el valor de *FMC* se correlaciona en productos madurados con la proteólisis (Costa-Corredor y col., 2009).

En los lotes 07t-P80-T15 y 08t-P30-T15 las modificaciones en los parámetros de textura se produjeron durante los primeros 180 y 127 días respectivamente. Un mayor tiempo de maduración no produjo modificaciones significativas en *FMC* o A. En el lote 08t-P80-T5, cuya maduración se realiza a temperatura de refrigeración, las modificaciones en *FMC* y A se produjeron luego de 127 días de maduración.

A partir de los resultados obtenidos para los lotes 07t-P80-T15 y 08t-P30-T15, sometidos a una prensa de 80 y 30 g_f/cm^2, respectivamente, se puede concluir que una mayor prensa aplicada durante la maduración se traduce en una menor reducción en la *FMC* ($p < 0,01$).

Tabla IV.11 Valores medios en los parámetros de textura: fuerza máxima de corte (*FMC*), elasticidad (*e*) y energía absorbida (*A*) para anchoíta salada-madurada

Lote	Tiempo de maduración	*FMC* (N)	*e* (N s^{-1})	*A* (Ns)
08t-P80-T15	60 días	45,08 ± 3,12 [a]	5,87 ± 0,40 [a]	589,38 ± 66,99 [a]
	180 días	29,76 ± 3,47 [b]	4,55 ± 0,78 [a]	281,73 ± 55,93 [b]
	270 días	28,24 ± 8,02 [b]	4,91 ± 1,17 [a]	247,67 ± 90,33 [b]
08t-P80-T5	6 días	37,95 ± 4,59 [a]	4,03 ± 0,23 [a]	540,94 ± 95,22 [a]
	127 días	37,31 ± 8,60 [a]	4,69 ± 0,93 [a]	417,71 ± 96,70 [a]
	217 días	30,04 ± 2,46 [b]	5,04 ± 0,63 [a]	315,85 ± 39,90 [b]
08t-P30-T15	6 días	41,08 ± 4,18 [a]	3,85 ± 0,24 [a]	516,10 ± 63,91 [a]
	127 días	21,48 ± 3,00 [b]	3,63 ± 0,60 [a]	186,63 ± 23,37 [b]
	217 días	20,68 ± 3,59 [b]	3,71 ± 0,88 [a]	165,28 ± 33,62 [b]

Diferentes letras (a, b) indican diferencia significativa entre los distintos tiempos para un mismo lote

La **Figura IV.28** muestra la relación entre los parámetros de textura determinados en forma instrumental y la textura evaluada sensorialmente de acuerdo a la Tabla de Filsinger y col. (1982). De acuerdo a ella, se observa un buena correlación entre ambos, *FMC* y *A* y la puntuación sensorial. Por lo tanto la metodología de ensayo de corte podría aplicarse para evaluar la de la anchoíta durante el proceso de maduración.

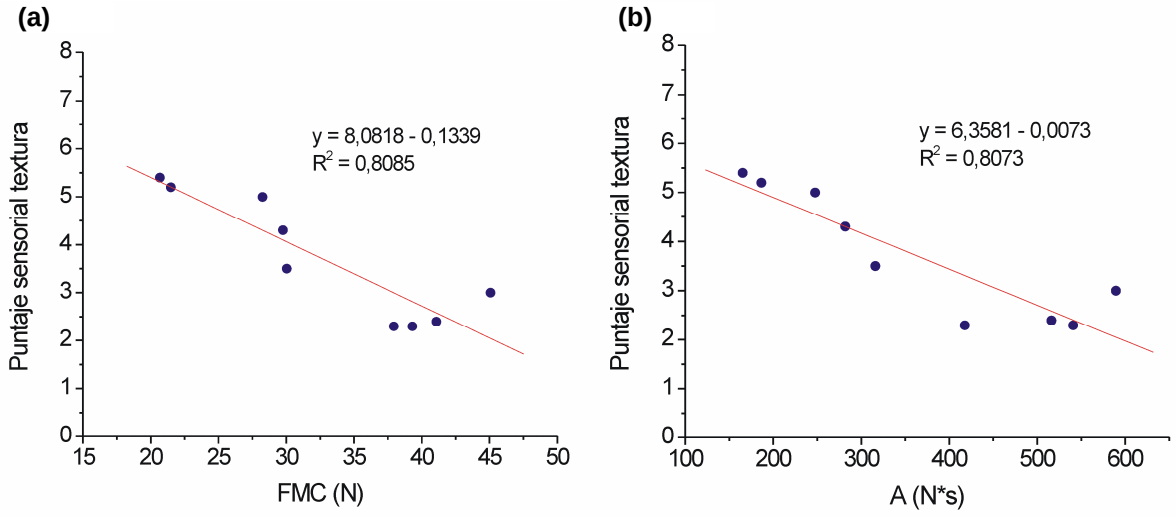

Figura IV.28 Correlación entre los parámetros de textura obtenidos y la evaluación sensorial de este atributo. (a) Fuerza Máxima de Corte (FMC), (b) Energía absorbida (A)

IV.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

De acuerdo a lo mencionado en la Introducción general y a los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis, puede verse que la anchoíta salada -madurada como producto -debido a su a_w, concentración de sal y contenido de agua- debería considerarse seguro desde el punto de vista sanitario ya que en estas condiciones no podrían crecer grupos bacterianos patógenos ni indicadores de higiene.

Sin embargo, deben tenerse en cuenta en este caso aquellos grupos de bacterias específicas, consideradas flora típica de los productos salados, las cuales pueden desarrollarse durante la maduración de la anchoíta y así modificar sus características fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales.

IV.4.1 Crecimiento de los grupos bacterianos presentes en función de la concentración salina

El crecimiento de los grupos microbianos presentes durante la maduración se realizó sobre el lote elaborado de acuerdo a las condiciones de proceso indicadas en el trabajo de FIlsinger (1987) con el corte tradicional (05t-P140-T20 correspondiente a la Experiencia 1), el cual fue investigado en función de la composición salina del medio de cultivo.

Los resultados que se presentan a continuación corresponden a los recuentos microbianos obtenidos a lo largo del proceso de salado-madurado, utilizando el medio de cultivo Gibbons, específico para la flora halófila, con 3, 5, 7, 10, 15 y 20 % de sal. (**Figura IV.29**).

Como puede observarse en la **Figura IV.29**, el total de los recuentos obtenidos en el medio con las distintas concentraciones de sal presentó un leve aumento a lo largo del proceso de maduración. Así, los recuentos totales iniciales fueron de 1 x 10^4 UFC/g, alcanzando las 6,4 x 10^4 UFC/g hacia el final de la maduración.

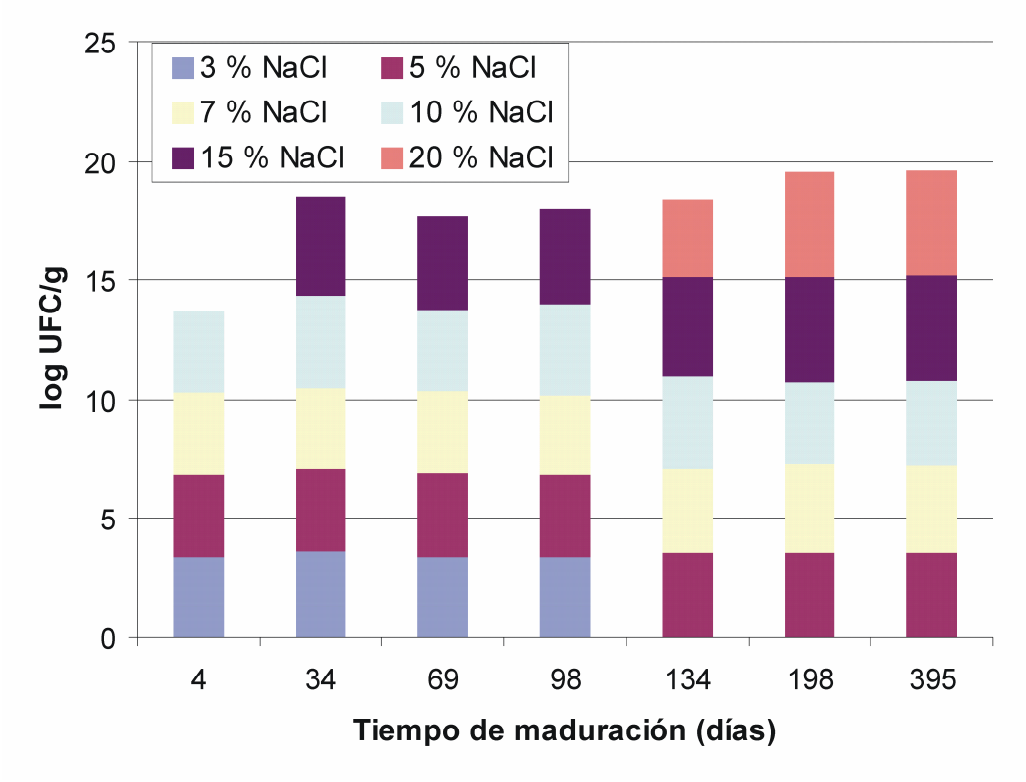

Figura IV.29 Recuentos microbianos obtenidos en medio Gibbons con diferentes concentraciones salinas en función del tiempo de maduración de anchoíta salada

A su vez, la preponderancia de los distintos grupos microbianos se fue modificando durante el proceso. Inicialmente, se obtuvieron recuentos en los medios con menores concentraciones salinas, mientras que luego de 34 y 134 días de maduración comenzaron a registrarse recuentos en los medios con 15 y 20 % NaCl respectivamente. Asimismo, los mayores recuentos correspondieron al medio Gibbons con 15 y 20 % NaCl, alcanzando las 2,8 y 2,4 x 10^4 UFC/g luego de 395 días de maduración, respectivamente. En los medios con 5, 7 y 10 % NaCl se obtuvieron valores que no superaron las 8,5 x 10^3 UFC/g, presentando leves fluctuaciones durante el proceso de maduración.

Debe considerarse que durante la maduración, la a_w del músculo desciende rápidamente (8 a 10 días) a valores cercanos a 0,75, con una concentración de sal de aproximadamente 18 % y un pH de 5,8 (Ver **Sección IV.2.2.1**), condiciones bajo las cuales se encuentra dificultado el desarrollo microbiano. Así, inicialmente los recuentos obtenidos en los medios de cultivo con bajas concentraciones salinas corresponderían a bacterias marinas o halófilas

moderadas, las cuales resistirían estas condiciones extremas y se adaptarían a las mismas, presentando un mejor desarrollo a una menor concentración de NaCl.

A medida que avanza el proceso de maduración, la flora halófila moderada y extrema se adapta al medio, al mismo tiempo que encuentra una mayor disponibilidad de nutrientes debido a la proteólisis que involucra el proceso de maduración (Ver **Sección IV.2.4**). Una característica de las halófilas extremas (*Archaeobacterias*) es que presentan un crecimiento lento en comparación con las *Eubacterias* (Holt, 1989), lo cual podría ser la causa que no se hayan registrado recuentos al 20 % NaCl hasta los 134 días de maduración. Debido a la adecuación de los microorganismos al medio, en este caso la anchoíta salada, los recuentos totales obtenidos se incrementaron durante el proceso, prevaleciendo los grupos bacterianos que presentan una mayor facilidad de crecimiento a altas concentraciones salinas, bacterias halófilas moderadas y extremas.

IV.4.1.1 Características de las colonias representativas

Las características externas de las colonias presentaron diferencias en función de la concentración salina del medio y de la extensión del proceso de maduración. Las colonias halladas en el medio con 3, 5, 7 y 10 % de tenor salino presentaron características similares al inicio de la maduración, siendo las colonias preponderantes de aspecto cremoso, con un tamaño mayor a 4 mm, color beige y borde ondulado. Al proseguir el proceso de maduración, se observaron en las placas con 5, 7, 10 y 15 % NaCl un predominio de colonias pequeñas, brillantes, de color anaranjado de distintas intensidades y apariencia traslúcida así como otras colonias que presentaron una coloración en distintos tonos de marrón, te con leche y un mayor tamaño. En función de los recuentos obtenidos, estas colonias fueron más abundantes en el medio con un tenor salino de 15 %. También se desarrollaron colonias blancas, planas y de superficie lisa en los medios de cultivo mencionados. En el medio Gibbons con 20 % NaCl se aislaron colonias pequeñas color coral y rosado claro, de superficie mate y bordes lisos. Cabe mencionar que esta descripción corresponde a las colonias

mayoritarias, hallándose una mayor diversidad en cuanto a la morfología de colonias que se presentaron en un menor número.

Las colonias aisladas fueron clasificadas de acuerdo a la concentración salina del medio en el cual fueron aisladas. De esta manera, se agruparon las colonias aisladas en un medio con 3-5 % NaCl, las cuales de acuerdo a la **Tabla I.5**, podrían ser bacterias marinas ó halófilas moderadas débiles (Grupo 1); por otra parte, las colonias desarrolladas entre 7 y 15 % NaCl corresponderían al Grupo 2, pudiendo pertenecer al grupo de bacterias halófilas moderadas o estrictas y por último, los colonias halladas al 20 % NaCl (Grupo 3), las cuales serían halófilas extremas o estrictas. En la **Figura IV.30** se presenta la cantidad de colonias características aisladas en cada uno de los grupos mencionados. Como puede observarse en los resultados obtenidos, la mayor diversidad de colonias características fue aislada a partir del medio Gibbons con 7 a 15 % NaCl. Por otra parte, durante la maduración fueron desapareciendo las colonias características aisladas entre 3 y 5 % NaCl. Comparativamente, el número de cepas halladas en el medio Gibbons 20 % NaCl fue bajo, pudiéndose aislar entre 2 y 5 colonias representativas.

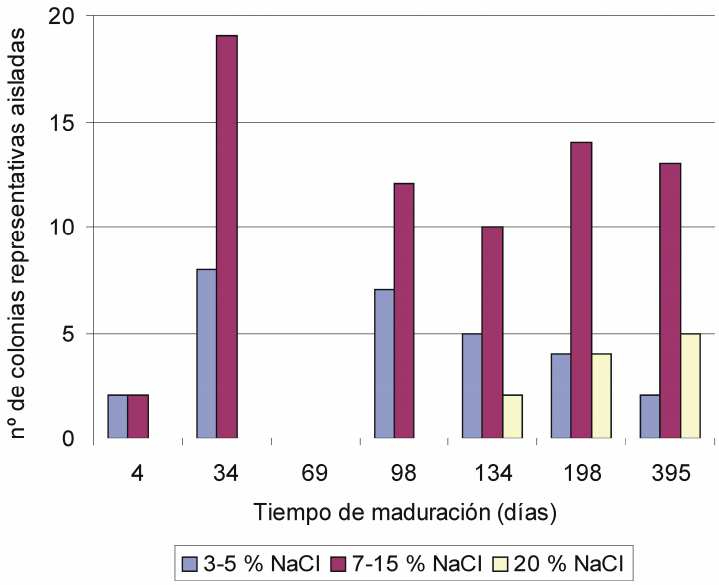

Figura IV.30 Colonias representativas aisladas en función del tiempo de maduración de anchoíta, clasificados según la concentración salina del medio de cultivo

De acuerdo a los recuentos obtenidos para los medios con las distintas concentraciones salinas y en función del número de colonias características halladas en cada uno de ellos, podría inferirse que la flora dominante en el proceso de salado-madurado de anchoíta pertenecería al grupo de bacterias halófilas moderadas y estrictas, dado que poseen una mayor facilidad de crecimiento entre 7 y 15 % NaCl. Por otra parte, los recuentos obtenidos al 20 % NaCl aparecen hacia el final del proceso, presentando poca diversidad de colonias, las cuales de acuerdo a su coloración y morfología pertenecerían al grupo de las bacterias halófilas extremas.

IV.4.2 Presencia de bacterias halófilas y *Micrococcus* y *Staphylococcus* durante el proceso de maduración de anchoíta salada

Este estudio se llevó a cabo en las muestras tomadas durante la maduración de los lotes de anchoíta correspondientes a la Experiencia 3, en la cual se analizó la influencia del tipo de corte utilizado en el proceso de salado-madurado de la misma (lote 07t-P80-T15, corte tradicional: presalado entero y madurado H&G; lote 07F-P80-T15, corte alternativo: filetes). Teniendo en cuenta los resultados obtenidos previamente en la Experiencia 1 en cuanto a la importancia de los distintos grupos microbianos en función de la concentración de NaCl del medio de cultivo, se estudió la presencia de halófilas moderadas y extremas mediante siembras en medio Gibbons con 15 y 20 % NaCl. En base a la tolerancia salina de los géneros *Micrococcus y Staphylococcus*, las mismas podrían clasificarse dentro de las bacterias halófilas moderadas, razón por la cual se investigo su presencia durante el proceso mediante la siembra en un medio selectivo para cocos positivos, catalasa positiva (Agar Manitol Salado, MSA).

Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura IV.31**, donde puede observarse que en ambos lotes los recuentos en el medio Gibbons con 15 % NaCl se registraron a partir de los 73 días de maduración y en medio Gibbons con 20 % NaCl, luego de 127 días. Por otra parte, los recuentos totales obtenidos (Gibbons

15 % NaCl + Gibbons 20 % NaCl) resultaron similares en ambos lotes, alcanzando al final de la maduración un valor de 5,2 x 10^4 UFC/g y 6,8 x 10^4 UFC/g para el corte tradicional (07t-P80-T15) y filetes (07F-P80-T15) respectivamente. A partir del día 127, los recuentos correspondientes al medio con 15 % NaCl fueron similares a los obtenidos con 20 % NaCl. Estos resultados son análogos a los correspondientes a la Experiencia 1 (**Sección IV.3.1**), tanto en los valores de los recuentos como en el tiempo de maduración a partir del cual se registraron los mismos, lo cual estaría reafirmando la existencia de un tiempo de demora importante en el desarrollo de la flora halófila en el producto relacionado con su capacidad de adaptación al medio. Estos resultados concuerdan a su vez con los informados por Fuselli y col. (1994, 1998) quienes determinaron en anchoíta (*E. anchoíta*) marinada (pH 4,2) un extenso tiempo de adaptación al medio, de la flora típica de este producto.

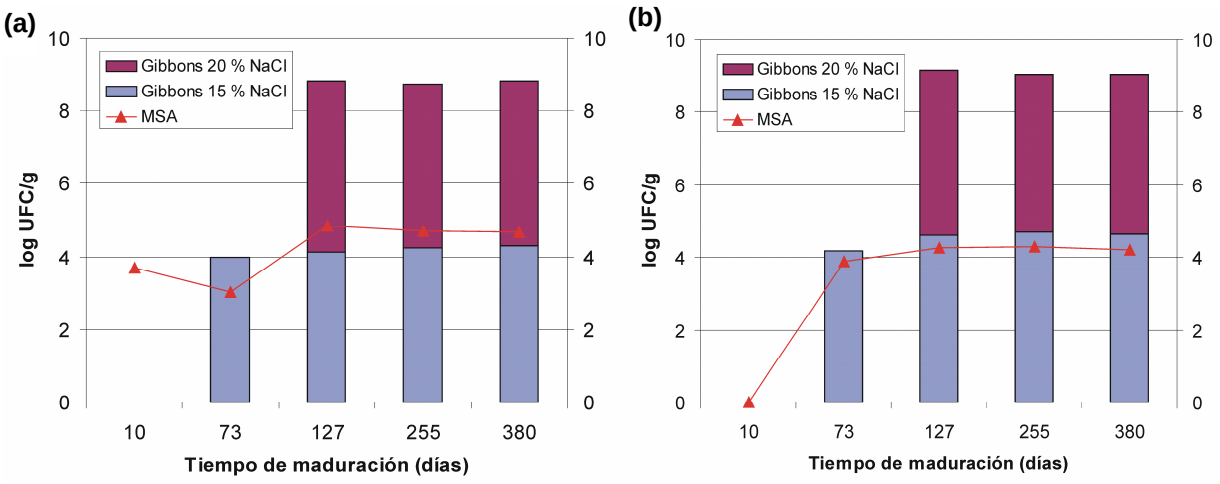

Figura IV.31 Recuentos microbianos obtenidos en función del tiempo de maduración de anchoíta salada. (a) lote procesado según el corte tradicional (07t-P80-T15), (b) lote procesado en filetes (07F-P80-T15)

Con respecto al desarrollo de cocos positivos, catalasa positivos, dentro de los cuales se encuentran los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*, inicialmente se obtuvieron recuentos de 4,9 x 10^3 UFC/g en MSA para el corte tradicional (**Figura IV.31 a**), los cuales se incrementaron a lo largo del proceso alcanzando

las 4,8 x 10^4 UFC/g. En cambio, en los filetes no se detectó este grupo microbiano hasta el día 73, registrando un aumento durante el periodo restante de 1,5 x 10^4 UFC/g a 4,3 x 10^4 UFC/g. Esta diferencia estaría dada por la presencia de las vísceras en el corte tradicional, las cuales podrían constituir una fuente de contaminación de estos grupos bacterianos (Huss, 1999).

Los resultados obtenidos para este grupo microbiano concuerdan con los correspondientes a Pons Sánchez-Cascado y col., (2005) en estudios realizados sobre *E. encrasicholus*, los cuales indican que la flora dominante durante el proceso de maduración de esta especie estaría dada por el grupo de cocos positivos, catalasa positiva, con recuentos del orden de 10^3 UFC/g.

IV.4.3 Capacidad proteolítica, lipolítica y OTMA-reductasa de las colonias aisladas

Se aislaron un total de 135 colonias, las cuales fueron estudiadas a fin de determinar su actividad proteolítica, lipolítica y de OTMA-reductasa *in vitro*, debido a las posibles implicancias en el proceso de maduración.

De acuerdo la los resultados experimentales obtenidos, un 5% de las colonias aisladas presentó actividad proteolítica, las cuales pertenecerían al grupo de las halófilas moderadas, mientras que un 15 % exhibieron actividad lipolítica y un 25 % capacidad proteolítica y lipolítica simultáneamente. La capacidad proteolítica bacteriana se sumaría a la proteólisis endógena de estos productos acelerando el proceso de maduración. A su vez, la capacidad lipolítica colaboraría en el aumento de los ácidos grasos libres y la rancidez, constituyendo junto con la proteólisis los principales mecanismos mediante los cuales se produce el desarrollo del flavor típico. Sin embargo, un exceso tanto en la actividad proteolítica como lipolítica podría traducirse en el desarrollo de off-flavors. En tal sentido, se ha determinado sensorialmente que la presencia de bacterias halófilas en recuentos que superan las 10^5 UFC/g origina en el producto un fuerte olor a putrefacción (sulfhídrico- amoniacal) (Gram y Huss, 1996). Asimismo, Félix y col.

(2007), han determinado la presencia de bacterias halófilas extremas deteriorantes en anchoíta (*E. anchoíta*) salada-madurada.

En cuanto a la capacidad OTMA-reductasa, se determinó la misma sobre un total de 30 cepas aisladas al 15% NaCl (pertenecerían a halófilas moderadas), de las cuales el 67 % resultaron positivas para la reducción del OTMA y las restantes 33 % fueron negativas. A su vez, a partir de 16 colonias aisladas al 20 % NaCl (las cuales pertenecerían al grupo de halófilas extremas) se obtuvo un 25 % de resultados positivos y un 31 % débilmente positivos, siendo las restantes negativas.

El OTMA (óxido de trimetilamina) es un compuesto que pertenece a la fracción nitrogenada no proteica y se encuentra presente en las especies de agua salada en cantidades del 1 al 5 % en peso del tejido muscular (peso seco). Existen distintas hipótesis en cuanto al papel del OTMA, entre las cuales se han postulado que es la forma desintoxicada de la TMA, que actúa como osmorregulador, que posee un efecto “anticongelante” o bien que se acumula en el músculo debido al consumo de alimentos con OTMA, sin ninguna función específica. En el caso de pescado fresco, muchas de las bacterias específicas del deterioro son capaces de utilizar el OTMA como aceptor final de electrones en la respiración anaerobia. El componente reducido es la TMA, la cual posee el olor típico a pescado, formando parte de las bases volátiles (Huss, 1999). En el caso de la anchoíta salada-madurada, la formación de TMA procedente de la reducción bacteriana del OTMA sería uno de los factores que originan el aumento del NBV-T durante la maduración, no atribuible en este caso a la pérdida de frescura (Ver **Sección IV.2.2.2**). Asimismo, los resultados indican que las bacterias halófilas moderadas serían las que mayor incidencia tendrían en la formación de TMA y por lo tanto una mayor influencia en el desarrollo de las características del aroma durante la maduración de esta especie.

IV.4.4 Capacidad histidina-descarboxilasa

Otra característica de importancia de los grupos microbianos presentes es la capacidad de descarboxilar la histidina, debido al peligro que supone la formación de histamina en el producto.

De acuerdo a resultados de siembra en medio Niven, un 70 % de las cepas aisladas presentan la capacidad de descarboxilar histidina. Este hecho no es significativo en sí mismo, ya que para que ocurra la formación de histamina debe haber histidina libre como sustrato y también darse las condiciones que lo permitan (Temperatura, tiempo, entre otras) (Yeannes, 1995; Yeannes, 2005). Como fue mencionado en la **Sección I.5.5.2** de la Introducción general, la anchoíta posee grandes cantidades de histidina libre, incrementándose dicho tenor durante la maduración debido a la proteólisis (Paredi y Yeannes, 1987; Yeannes y Casales, 1995). Por este motivo la temperatura durante el proceso es una variable que debe ser controlada, a fin de evitar la posible formación de histamina, siendo aconsejable a los efectos de la elaboración en planta una temperatura durante la maduración menor a 20 ºC.

Debe considerarse además, que el medio Niven produce un importante porcentaje de falsos positivos (Hernández-Herrero y col., 1999c; Pons Sánchez-Cascado y col., 2005; Rodtong y col., 2005). A fin de validar los resultados obtenidos sería necesario confirmar efectivamente la producción de histamina en el medio de cultivo, lo cual puede realizarse mediante HPLC o bien por una técnica enzimática, las cuales permiten la detección de muy bajos niveles de histamina.

IV.4.5 Identificación presuntiva de cepas bacterianas

La identificación presuntiva de las cepas aisladas se realizó de acuerdo al Manual Bergey de Bacteriología Sistemática (Holt, 1989), en base a las características de las colonias, presencia de pigmentos, morfología microscópica, caracteres tintoriales y pruebas bioquímicas (Ver **Sección II.2.8.3**). Los resultados hallados se presentan en la **Tabla IV.12**

Tabla IV.12 Géneros bacterianos aislados durante la maduración de *E. anchoíta*

Características					
Número de colonias	6	5	12	4	5
Pigmento y aspecto de la colonia	Blanco crema opaco	Rosa pálido cremoso	Beige o marrón claro amarillento, opaco, borde irregular	Blanco rosado pálido a beige	Sin pigmentos traslúcida
Morfología celular	cocos	cocos	bacilos	bacilos cortos o cocobacilos	cocos
coloración de Gram	+	+	-	-	-
Catalasa	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	+	+	+	+
Citrato de Simmons	-	-	-	+	-
Movilidad	-	-	-	+	-
Crecimiento en 7,5 % NaCl	+	+	+	+	+
Fermentación de glucosa	-	-	-	-	-
Fermentación de lactosa	-	-	-	-	-
Fermentación de sacarosa	-	-	-	-	-
TSI	alcalino	alcalino	Alcalino	Alcalino	Alcalino
OF	oxidativa	fermentativa	fermentativa	Oxidativa	Oxidativa
Reducción de nitratos	-	+	+	+	+
Producción de H_2S	-	-	-	-	-
Indol	-	-	+	-	-
	***Micrococcus* spp.**	***Salinicoccus roseus***	***Mesophilobacter* spp.**	***Marinobacter* spp.**	***Paracoccus* spp.**

Así, se identificaron durante la maduración de anchoíta salada los géneros *Salinicoccus* spp.; *Micrococcus* spp.; *Mesophilobacter* spp. y *Paracoccus* spp., pertenecientes al grupo de bacterias halófilas moderadas y *Marinobacter* spp., el cual corresponde al grupo de bacterias halotolerantes extremas (NaCl 0,08-3,5 M) (**Tabla IV.12**).

IV.4.5.1 Investigación de *Halococcus morrhuae*

El *H. morrhuae* es una bacteria halófila extrema de gran incidencia en productos pesqueros salados y de acuerdo a Huss y Valdimarson (1990), la de mayor ocurrencia en este tipo de productos en distintos países de Europa. Por esa razón ha sido considerada de importancia su búsqueda en el producto, objeto de estudio de la presente Tesis.

La mencionada especie bacteriana pertenece al grupo de las *Archaeobacterias*, siendo microorganismos aerobios estrictos, de morfología cocoide, formando pares, tétradas o agrupamientos irregulares, Gram negativos y no móviles. Las colonias presentan una coloración rosa, naranja o roja debido a la presencia de los pigmentos carotenoides bacteriorrodopsina y bacteriorruberina (Holt, 1989; Yeannes y col., 2003; Félix y col., 2004 y 2006a).

Dentro de las colonias aisladas durante la maduración de la anchoíta salada, se seleccionaron aquéllas que por sus características morfológicas y color de la colonia pudieran ser identificadas como *H. morrhuae*. Las mismas fueron incorporadas a un estudio acerca de la incidencia de la mencionada especie en este producto, el cual se está desarrollando en el Grupo de Investigación en Preservación y Calidad de Alimentos (GIPCAL), en el que se ha llevado a cabo el presente trabajo de Tesis (Yeannes y col., 2003 y 2005; Félix y col., 2004, 2006a, 2006b, 2007, 2008 y *en prensa*).

Las cepas fueron sometidas a diversas pruebas bioquímicas de identificación (Ver **Sección II.2.8.3**) y en base a ellas, clasificadas mediante *Cluster Analysis,* empleando el sofware STATISTICA 5.1 (Statsoft, Inc., Tulsa, USA). A fin de determinar la presencia de *H. morrhuae* entre las colonias aisladas de anchoíta salada-madurada, se utilizó una cepa de referencia de esta especie (ATCC 17082).

Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura IV.32**, en la que pueden observarse dos agrupamientos principales a una distancia de 2,1. El grupo A asocia 8 de las cepas aisladas en anchoíta salada-madurada a la cepa de referencia (ATCC 17082), a una distancia muy corta, indicando que son

similares en sus características, lo cual permite inferir que estas cepas serían diferentes especies del género *Halococcus*. El análisis comparativo de los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas con los de la cepa patrón indica que las cepas aisladas no corresponderían a la especie *morrhuae*. El otro agrupamiento formado (B) está constituido por 24 cepas, que en base a su morfología macro y microscópica pertenecerían al grupo de las bacterias halófilas extremas.

De acuerdo a los resultados hallados hasta el momento, el *H. morrhuae* no se encuentra presente en las muestras de anchoíta salada-madurada analizadas hasta el momento. Cabe mencionar que si bien esta especie predomina en la *E. encrasicholus* salada-madurada, la misma sería un contaminante natural procedente de la sal utilizada en el proceso o perteneciente a la flora normal del hábitat de la mencionada especie. Por tal motivo, su ausencia en el producto motivo de esta Tesis podría deberse a la diferencia de la especie y su hábitat y al diferente origen de la sal.

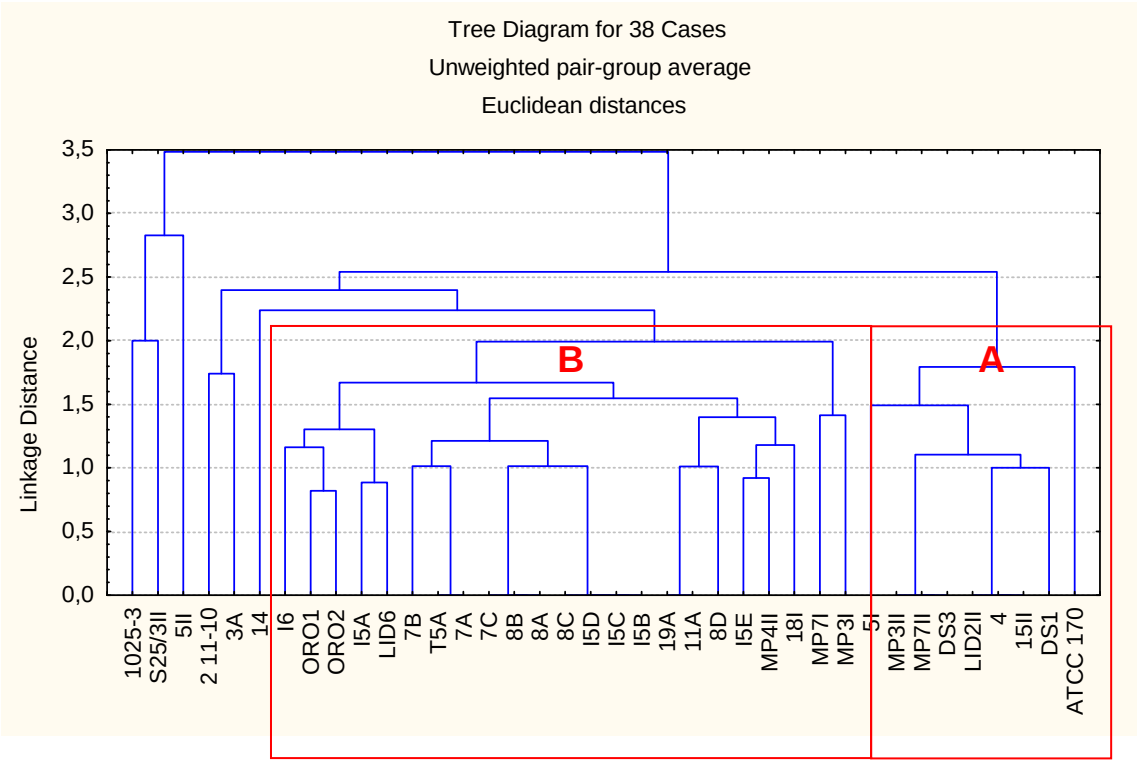

Figura IV.32 Clusters basados en las características bioquímicas de las cepas aisladas a partir de anchoíta salada con distintos grados de maduración

CONCLUSIONES PARCIALES

Cambios fisicoquímicos durante la maduración

- Como consecuencia del proceso de maduración, la composición química de la anchoíta se vio modificada, registrando una importante disminución en el contenido de agua y de proteínas así como un aumento en el contenido de NaCl y consecuentemente, de cenizas. A su vez, la actividad de agua y el pH presentaron una rápida reducción al inicio del proceso. De acuerdo a los valores de contenido de humedad (43,42-55,89 g/100 g), NaCl (15,67-20,83 g/100 g), pH (5,63-5,78) y a_w (0,75-0,78) alcanzados, el crecimiento de bacterias patógenas se ve imposibilitado, por lo cual el producto obtenido bajo todas las condiciones operativas analizadas en este trabajo de Tesis puede considerarse seguro desde el punto de vista sanitario.

- La pérdida de proteínas observada en los distintos lotes estudiados se encuentra asociada a la ocurrencia de proteólisis, la cual se manifiesta mediante un aumento en la relación NNP/NT durante la maduración de anchoíta, alcanzando valores entre 26,6 y 43,4 %. Asimismo, se observó una disminución en la estabilidad térmica de las proteínas mayoritarias (miosina y actina), con un desplazamiento de los picos hacia una menor temperatura de las respectivas transiciones así como también se registró una importante reducción de las entalpías de desnaturalización asociadas.

- La evolución de los índices fisicoquímicos NBV-T y NNP/NT en función del tiempo de maduración mostró sensibilidad de los mismos ante las variables nivel de prensa, tipo de corte y temperatura. Así, de acuerdo a ellos, la velocidad de maduración puede incrementarse mediante la reducción del nivel de prensa y el aumento de la temperatura. Asimismo, la maduración de los filetes presentó una menor velocidad de producción de NBV-T, comparado con el corte tradicional (presalado del pescado entero, madurado H&G), así como también una menor proteólisis, determinada mediante la relación NNP/NT, en algunas de las condiciones de prensa y temperatura estudiadas.

- Durante el proceso de salado-madurado se observaron importantes modificaciones en la composición de AG, encontrándose especialmente afectados los AGPI, cuyo contenido se redujo entre 43,7 y 53,5 %. En forma simultánea se registró un incremento en la oxidación lipídica, determinada mediante el nº TBA. A partir del corte filetes, en la etapa de maduración, se redujo el nivel de oxidación de lípidos con respecto al procesamiento tradicional.

Cambios en las características sensoriales durante la maduración

- Los distintos atributos sensoriales evaluados presentaron diferencias en cuanto a la velocidad de evolución y a su comportamiento durante la maduración
- Las variables operativas estudiadas (nivel de prensa, temperatura y tipo de corte) tendrían una incidencia tanto en la velocidad de desarrollo de los atributos sensoriales como en las características del producto obtenido. Así, un aumento en el nivel de prensa lleva a una menor evolución principalmente de la adherencia al espinazo, del aroma, de la textura y del sabor. Por otra parte, la disminución de la temperatura lentifica el proceso de maduración, manifestándose en un menor desarrollo de algunos de los atributos evaluados.
- La maduración de filetes llevó a un menor desarrollo de los atributos sensoriales, fundamentalmente del color. Si bien el filete resulto con un color mas claro, diferente al del producto tradicional, el mismos resultó agradable
- El uso del corte HyG en la etapa de salado no mostró diferencias significativas en el producto final a aquel realizado con el ejemplar entero.
- No se observó efecto del contenido inicial de lípidos de la materia prima, en el rango estudiado, en el desarrollo de los diferentes atributos sensoriales.
- La relación NNP/NT presentó una muy buena correlación con el puntaje sensorial promedio, teniendo en cuenta todos los atributos evaluados. Sin embargo, el NBV-T sólo mostró una buena correlación al considerar los caracteres sabor y aroma.
- La evolución de las características sensoriales en función del tiempo de maduración pueden ser descriptas mediante un modelo de conversión

fraccional basado en una cinética de primer orden.

- Con respecto a las determinaciones instrumentadas de color y textura, las mismas presentaron una buena correlación con la puntuación sensorial correspondiente a dichos atributos. Así, la diferencia total de color (ΔE) resultó una medida objetiva que representa adecuadamente la evolución del color durante la maduración. En cuanto a la textura, los parámetros *FMC* y *A* obtenidos a partir de ensayos de corte, mostraron una muy buena correlación con el puntaje sensorial de este atributo.

Implicancias microbiológicas en el proceso

- La flora bacteriana dominante del proceso de salado-madurado de anchoíta estaría conformada por bacterias halófilas moderadas y estrictas, presentando una gran diversidad en cuanto a la morfología de las colonias. Las bacterias halófilas extremas se manifiestan hacia el final del proceso.
- Entre las cepas aisladas, un 55 % presentó capacidad proteolítica, lipolítica o proteolítica y lipolítica en forma simultánea, lo cual estaría indicando que dichas cepas colaborarían en el proceso de maduración modificando las características sensoriales del producto. A su vez, se determinó un gran porcentaje de cepas con capacidad OTMA-reductasa tanto dentro de las bacterias halófilas moderadas como extremas, pudiendo contribuir éstas últimas también al desarrollo del flavor.
- Algunas de las cepas aisladas presentaron la capacidad de descarboxilar la histidina, lo cual reafirma la necesidad de controlar la temperatura del proceso a fin de minimizar su desarrollo y en consecuencia, el riesgo de formación de histamina.
- Durante la maduración de anchoíta salada, se identificó dentro del grupo de las bacterias halófilas moderadas y halotolerantes extremas la especie *Salinicoccus roseus* y los géneros *Micrococcus* spp.; *Mesophilobacter* spp., *Paracoccus* spp. y *Marinobacter* spp. Asimismo, se detectó dentro de las bacterias halófilas extremas la presencia del género *Halococcus*, aunque no la especie *morruhae.*

DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Publicaciones científicas en revistas internacionales:

- Czerner, Marina; Tomás, Mabel C.; Yeannes, María I. 2011. "*Lipid oxidation and the development of color and other sensorial characteristics during the ripening of salted anchovy*". J. Sci. Food Agric., **91**: 609-615.

Publicaciones en revistas nacionales:

- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2008. "*Influencia de los cortes utilizados en el salado madurado de E. anchoita sobre el desarrollo de las características sensoriales*". La Industria Cárnica Latinoamericana, **152**: 50-54. Distinguido con el Primer Accesit APTA/Rizzuto 2008 en la categoría "Nota Técnica".

Presentaciones en Congresos (Póster y Trabajo extendido):

- Felix, M.; Czerner, M.; Ameztoy, I.; Ramirez, E.E.; Yeannes, M.I 2010. *"Evaluación de la presencia de Halococcus morrhuae en productos pesqueros salados de Engraulis anchoita".* XII congreso y XXX Reunión Anual de la Sociedad de biología de Rosario. 2 y 3 de Diciembre de 2010. Rosario, Argentina.
- Czerner, Marina; Tomas, Mabel; Yeannes, María I. 2009. *"Estudio de la evolución del Nitrógeno Básico Volátil Total durante el madurado de E. anchoita y su relación con variables operativas y estadio biológico de la materia prima".* II Convención Internacional Alimentación Saludable para la Comunidad y el Turismo. I Congreso Latinoamericano y III del Caribe sobre Higiene y Calidad en la Alimentación. 6 a 10 de Julio de 2009. La Habana, Cuba.

- Czerner, Marina; Yeannes, María I.; Tomas, Mabel. 2009. *"Modificaciones en la textura durante el salado madurado de E. anchoita".* II Convención Internacional Alimentación Saludable para la Comunidad y el Turismo. I Congreso Latinoamericano y III del Caribe sobre Higiene y Calidad en la Alimentación. 6 a 10 de Julio de 2009. La Habana, Cuba.
- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2009. "*Análisis del desarrollo de color durante el salado madurado de anchoita (E. anchoita)".* XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos- Alimentación y Energía: Globalización y Desafíos. 7 a 9 de octubre de 2009. Concordia, Entre Ríos. Área: Alimentos de origen animal, nº 37.
- Czerner, Marina; Guccione, Silvana; Tomás, Mabel; Yeannes, María I. 2009. "*Modificaciones en el perfil de ácidos grasos durante el salado madurado de E. anchoita".* XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos- Alimentación y Energía: Globalización y Desafíos. 7 a 9 de octubre de 2009. Concordia, Entre Ríos. Área: Alimentos de origen animal, nº 38.
- Czerner, Marina; Tomás, Mabel. C.; Yeannes, María I. 2009. "*Oxidación de lípidos durante el salado-madurado de anchoita y su relación con el desarrollo de color y otras características sensoriales"*. XIII Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites. 1 a 6 de Noviembre de 2009. Rosario, Argentina.
- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2007. "*Influencia de los cortes utilizados en el salado madurado de E. anchoita sobre el desarrollo de las características sensoriales"*. XI Congreso Argentino de ciencia y Tecnología de Alimentos y 2do Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías. 12 al 14 de Septiembre de 2007, Buenos Aires, Argentina.
- Czerner, Marina; Yeannes, María I. 2007. *"Evolución de la microflora presente durante el madurado de anchoita (E. anchoita)"*. XI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 12 al 14 de Septiembre de 2007, Buenos Aires, Argentina.

Conclusiones generales

El presente trabajo de Tesis permitió determinar el efecto del tenor lipídico de la materia prima y de las variables tipo de corte, temperatura y nivel de prensa sobre el proceso de salado-madurado de anchoíta (*Engraulis anchoita*), mediante un abordaje integral del mismo, donde fueron considerados los aspectos fisicoquímicos, sensoriales y microbiológicos involucrados. Se considera que los resultados obtenidos representan un aporte significativo al conocimiento del mencionado proceso y de las variables implicadas, tendiente a la revalorización del producto y a la transferencia tecnológica hacia el sector industrial.

En virtud de ello, pueden expresarse las siguientes conclusiones generales:

- La aplicación de distintos tipos de corte en la etapa de presalado dio lugar a diferentes comportamientos de deshidratación osmótica, los cuales pueden ser adecuadamente descriptos por los modelos de Peleg y de Zugarramurdi y Lupín, si bien los mismos no contemplan variables tales como tenor de lípidos y temperatura. A fin de considerar el efecto del contenido inicial de lípidos, se desarrolló un nuevo modelo que describe la dependencia entre las constantes de velocidad de transferencia de masa respectivas y dicha variable, considerando además la temperatura.
- Las variables nivel de prensa y temperatura permitieron modificar la velocidad de maduración, lo cual se manifestó en la evolución de los caracteres sensoriales evaluados y en las características del producto obtenido. Asimismo, dichos cambios también se evidenciaron en la generación de NBV-T y el grado de proteólisis, determinado mediante la relación NNP/NT.
- La introducción de un nuevo tipo de corte en el proceso, como es el empleo de filetes, llevó a la obtención de un producto madurado de un color diferente al tradicional, el cual resultó junto con el aroma, el sabor y la textura, agradable para el consumo. La utilización de este corte posibilitaría un cambio importante en el proceso de elaboración tradicional, constituyendo una interesante alternativa al minimizar -de esta forma- el riesgo potencial de formación de histamina.
- El análisis de la composición de ácidos grasos reveló un perfil muy

interesante, con presencia de un elevado porcentaje de ácidos grasos mono y poliinsaturados, como así también se observó una importante disminución de los AGPI debida al proceso registrándo simultáneamente la ocurrencia de oxidación lipídica.

- Se obtuvo un modelo sensorial que permite estimar la evolución de las distintas características sensoriales en función del tiempo de maduración.
- Se obtuvieron muy buenas correlaciones entre los índices analíticos (NBV-T, NNP/NT) e instrumentales (ΔE, *FMC* y *A*) con la evaluación sensorial, los cuales constituyen herramientas para la evaluación objetiva del grado de maduración sin la necesidad de contar con un panel de jueces entrenados.
- Se determinó que las bacterias halófilas moderadas predominan durante el proceso de maduración, presentando muchas de ellas actividad proteolítica, lipolítica y OTMA-reductasa, las cuales se encuentran directamente relacionadas con la maduración del producto y pueden contribuir al desarrollo de las características sensoriales.

Perspectivas futuras

El proceso de salado y madurado de anchoíta presenta una importante complejidad debido a los distintos aspectos que inciden sobre el mismo -variabilidad intrínseca de la muestra, variables operativas, acción de la flora bacteriana- así como a la diversidad de transformaciones ocurridas, resultando en el producto con las características sensoriales típicas.

En este trabajo de Tesis se han abordado diferentes temáticas de dicho proceso, las cuales han permitido arribar a conclusiones y efectuar un aporte en el conocimiento del mismo. No obstante, lo logrado no agota el tema en estudio, sino que pone de manifiesto la necesidad de considerar o de profundizar otros aspectos.

Teniendo en cuenta las modificaciones observadas en la composición de ácidos grasos y los resultados relacionados con la oxidación lipídica debida al proceso, sería importante proseguir la investigación estudiando en mayor detalle la fracción grasa. Para ello, se propone el análisis individual de la composición de AG en cada una de las fracciones grasas (mono, di y triglicéridos, ácidos grasos libres y fosfolípidos) y sus variaciones durante la maduración. Asimismo, es posible completar el estudio de la oxidación lipídica mediante espectroscopía infrarroja (FTIR), la cual permite obtener información acerca del tenor de ácidos grasos libres y de compuestos derivados de la oxidación.

A su vez, es posible complementar los resultados obtenidos en relación a los cambios observados en la fracción proteica mediante la metodología de electroforesis en geles de poliacrilamida. Paralelamente, el análisis del perfil de aminoácidos libres permitiría no sólo evaluar el efecto del proceso sobre esta fracción sino también su incidencia sobre la formación de compuestos relacionados al desarrollo del sabor.

Por otra parte, se considera que el análisis de la microestructura del músculo permitiría evidenciar cambios sufridos durante la maduración. Asimismo, se espera obtener información que posibilite su correlación con los cambios en la textura (instrumental y sensorial).

A fin de obtener información acerca del origen del color desarrollado durante la maduración, se incluye dentro de las posibles actividades de investigación futuras el análisis instrumental del color en las distintas zonas del filete y en forma complementaria, el análisis del contenido de mioglobina y del pigmento total en las mismas. En base al papel que se ha atribuido a las porfirinas de zinc en la coloración de jamones madurados sin el agregado de nitritos o nitratos, se podría encarar el estudio de la presencia y formación de este complejo coloreado durante la maduración de anchoíta salada.

En función de los resultados obtenidos acerca de las distintas actividades detectadas *in vitro* en las cepas bacterianas aisladas y su potencial contribución al proceso de maduración, resultaría de interés determinar, una vez identificados los géneros y especies presentes, el efecto específico de cada microorganismo sobre las características del producto.

En virtud de lo expuesto, las investigaciones planteadas permitirán realizar un aporte adicional a la comprensión del origen de los cambios sensoriales observados en la anchoíta durante el proceso de salado-madurado, con la posibilidad de introducir modificaciones al mismo que redunden en una reducción del tiempo de maduración o en una mejora de la calidad del producto obtenido, las cuales tiene relevancia debido fundamentalmente a su posible transferencia al sector industrial.

Bibliografía

Adamsen, CE; Møller, JKS; Laursen, K; Olsen, K; Skibsted, LH. (2006). Zn-porphyrin formation in cured meat products: Effect of added salt and nitrite. *Meat Sci.* **72 (4)**: 672–679.

Aizpún de Moreno, J; Moreno, V; Malaspina, A. (1979). Variaciones en la composición bioquímica proximal de la anchoíta durante tres temporadas de pesca (1975-1977). *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero* **1 (1)**: 45-53.

Alm, F. (1965). Scandinavian anchovies and herring tidbits. En: *Fish as Food*, Vol III. Ed.: Borgstrom, G. Academic Press, Londres. pp. 107-131.

Andrés, AI; Cava, R; Ventanas, J; Muriel, E; Ruiz, J. (2004). Lipid oxidative changes throughout the ripening of dry-cured Iberian hams with different salt contents and processing conditions. *Food Chem.* **84**: 375-381.

Andrés, A; Rodríguez-Barona, S; Barat, JM; Fito, P. (2005). Salted cod manufacturing: influence of salting procedure on process yield and product characteristics. *J. Food Eng.* **69**: 467-471.

AOAC. (1990). Official methods of analysis (15th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.

AOAC. (1993). Official methods of analysis (16th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.

Ashton, IP; Unilever, R; Sharnbrook, D. (2002). Understanding lipid oxidation in fish. En: *Safety and Quality Issues in Fish Processing*, Capítulo 14. Ed.: Bremmer, A. CRC Press, Woodhead Publishing, Cambridge, England. Pp: 254-285.

Aubourg, S; Ugliano; M. (2002). Effect of brine pre-treatment on lipid stability of frozen horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Eur. Food Res. Technol.* **215**: 91-95.

Ayala Galdos, ME; Albrecht-Ruiz, M; Salas Maldonado, A; Paredes Minga, J. (2002). Fat content of Peruvian anchovy (*Engraulis ringens*), after “El Niño” phenomenon (1998-1999). *J. Food Compos. Anal.* **15 (6)**: 627–631.

Azuara, E; Cortés, R; García, HS; Beristain, CI. (1992). Kinetic model for osmotic dehydration and its relationship with Fick´s second law. *Int. J. Food*

Sci. Technol. **27 (4)**: 409-418.

Barat, JM; Rodríguez-Barona, S; Andrés, A; Fito, P. (2003). Cod salting manufacturing analysis. *Food Res. Int.* **36 (5)**: 447-453.

Barat, JM; Rodríguez-Barona, S; Andrés, A; Ibáñez, JB. (2004). Modeling of the cod desalting operation. *J. Food Sci.* **69(4)**: 183–189.

Beas, VE; Wagner, JR; Crupkin, M; Añón, MC. (1990). Thermal Denaturation of Hake (*Merluccius hubbsi*) Myofibrillar Proteins. A Differential Scanning Calorimetric and Electrophoretic Study. *J. Food Sc.* **55 (3)**: 683-687.

Belitz, H; Grosch, W. (1997). Lípidos. En: *Química de los Alimentos* (2da Edición). Ed. Acribia, Zaragoza, España. pp. 162-168.

Bellagha, S; Sahli, A; Farhat, A; Kechaou, N; Glenza, A. (2007). Studies on salting and drying of sardine (*Sardinella aurita*): Experimental kinetics and modelling. *J. Food Eng.* **78 (3)**: 947-952.

Berhimpon, S; Souness, RA; Buckle, KA; Edwards, RA. (1990). Salting and drying of yellowtail (*Trachurus mccullochi Nichols*). *Int. J. Food Sci. Technol.* **25 (4)**: 409-419.

Bertolotti, MI; Manca, E. (1986). Procesamiento y comercialización de la anchoíta (*Engraulis anchoita*) del Mar Argentino. *Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero* **5**: 224-246.

Bertullo, V. (1975). *Tecnología de los Productos y Subproductos de Pescados, Moluscos y Crustáceos*. Editorial Hemisferio Sur, Argentina.

Besteiro, I; Rodríguez; CJ; Tilve-Jar, C; Pascual, C. (2000a). Selection of attributes for the sensory evaluation of anchovies during the ripening process. *J. Sens. Stud.* **15:** 65-77.

Besteiro, I; Rodríguez, C; Pascual, C. (2000b). Chymotrypsin and general proteolytic activities in muscle of *Engraulis encrasicholus* and *Engraulis anchoita* during the ripening process. *Eur. Food Res. Technol.* **210 (6)**: 414-418.

Birkeland, S; Sivertsvik, M; Nielsen, HH; Skära, T. (2005). Effects of brining conditions on weight gain in herring (*Clupea harengus*) fillets. *J. Food Sci.*

70(7): E418–E424.

Bligh, EG; Dyer, WJ. (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37**: 911-917.

Boeri, RL; Zugarramurdi, A; Lupín, HM. (1975). Pérdida en el contenido de proteínas durante el proceso de salado de anchoíta. *La Industria Cárnica* **6**: 36-39.

Botsoglou, NA; Fletouris, DJ; Papageorgiou, GE; Vassilopoulos, VN; Mantis, AJ; Trakatellis, AG. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.* **42 (9)**: 1931–1937.

Boudhrioua, N; Djendoubi, N; Bellagha, S; Kechaou; N. (2009). Study of moisture and salt transfers during salting of sardine fillets. *J. Food Eng.* **94**: 83–89.

Bourne, M. (1978). Texture profile analysis. *Food Technol.* **32**: 62–66, 72.

Burt, JR; Hardy, R. (1992). Composition and deterioration of pelagic fish. En: *Pelgic Fish: the Resource and its Explotation,* Capítulo 9. Ed.: Burt, JR; Hardy, R; Whittle, KJ. Fishing New Books, Oxford, Reino Unido. pp: 115-141.

Caballero, MJ; Obach, A; Rosenlund, G; Montero, D; Gisvold, M; Izquierdo; MS. (2002). Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture **214**: 253–271.

Cabrer, AI; Casales, MR; Yeannes, MI. (2002). Physical and Chemical Changes in anchovy (*Engraulis anchoita*) Flesh During Marination. *Journal of Aquatic Food Product Technology* **11 (1)**: 19-30.

Campello, F. (1985). Approche microbiologique de l'anchoítage. *RevueTravaux Inst Peches Maritimes* **47**:217–226.

Carrero, JJ; Martín-Bautista, E; Baró, L; Fonollá, J; Jiménez, J; Boza, JJ; López-Huertas, E. (2005). Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutrición Hospitalaria*, **20 (1)**: 63-69.

Casales, MR; Yeannes, MI; Zugarramurdi, A. (1992). Conservas de caballa: composición química proximal y evaluación sensorial. *Alimentaria*: 93-97.

Casas, C; Martínez, O; Guillen, MD; Pin, C; Salmerón, J. (2006). Textural properties of raw Atlantic salmon (*Salmo salar*) at three points along the fillet, determined by different methods*. Food Control* **17 (7)**: 511–515.

Castañón, CA; Barral, AO. (1990). On-board handling and preservation of anchovy (*Engraulis anchoita*) catches. *Int. J. Refrig.* **13 (3)**: 203-206.

Castello, L; Castello, JP. (2003). Anchovy (*E. anchoita*) stocks and larval growth in the SW Atlantic*. Fish. Res.* **59 (3)**: 409-421.

Chaijan, M; Benjakul, S; Visessanguan, W; Faustman, C. (2005). Changes of pigments and color in sardine (*Sardinella gibbosa*) and mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) muscle during iced storage. *Food Chem.* **93 (4)**: 607–617.

Chaouqy, N; Gallardo, JM; El Marrakchi, A; Aubourg, SP. (2008). Lipid damage development in anchovy (*Engraulis encrasicholus*) muscle during storage under refrigerated conditions. *Grasas y Aceites* **59 (4)**: 309-315.

Cheftel, H. (1965). The processing of the anchovy: *Engraulis encrasicholus* Linnaeus*.* En: *Fish as Food*, Vol III. Ed.: Borgstrom, G. Academic Press, Londres. pp. 219-225.

Chiesa, E. (2009). *Anchoita*. Dirección de Recursos Acuáticos del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. República del Uruguay. [fecha de consulta: 2 de noviembre de 2009]. Disponible en: www.dinara.gub.uy

Chiodi, RO. (1962). Composición química de la pescadilla, corvina, anchoíta, langostino y calamar. Especies marinas del Atlántico Sud (Sector bonaerense). Secretaría de Estado.

Chiodi, RO. (1970). Composición química inmediata de la anchoíta (*E. anchoita*) Variaciones estacionales y en regiones del individuo. Documento Informativo Proyecto Desarrollo Pesquero Mar del Plata. Argentina 7, 1-13.

Chiralt, F; Fito, P; Barat, J; Andrés, A; González-Martínez, C; Escriche, I; Camacho, M. (2001). Use of vacuum impregnation in food salting process. *J. Food Eng*. **49**: 141-151.

CIE (Commission Internationale de l'eclairage) (1976). Recommendations on uniform colourspaces–colour equations, psychometric colour terms. Supplement No. 2 to CIE Publ. No. 15 (E-1.3.L) 1971/9TC-1-3, CIE, Paris.

Collignan, A; Bohuon, P; Deumier, F; Poligné, I. (2001). Osmotic treatment of fish and meat products. *J. Food Eng.* **49**: 153-162.

Connell, JJ. (1961). The relative stabilities of the skeletal muscle myosins of some animals. *Biochem. J.* **80**: 503.

Connell, JJ. (1990). Quality deterioration and defects in products. En: *Control of Fish Quality* (3ra ed.). Fishing New Books. Londres.

Corzo, O; Bracho, N. (2004). Effects of brine concentration and temperature on equilibrium distribution coefficients during osmotic dehydration of sardine sheets. *LWT* **37**: 475–479.

Corzo, O; Bracho, N. (2005). Osmotic dehydration kinetics of sardine sheets using Zugarramurdi and Lupín model. *J. Food Eng.* **66 (1)**: 51–56.

Corzo, O; Bracho, N. (2006a). Equilibrium water and salt contents of sardine sheets during osmotic dehydration. *LWT* **39 (4)**: 358-364.

Corzo, O; Bracho, N. (2006b). Application of Peleg model to study mass transfer during osmotic dehydration of sardine sheets. *J. Food Eng.* **75 (4)**: 535-541.

Corzo, O; Bracho, N. (2007). Water effective diffusion coefficient of sardine sheets during osmotic dehydration at different brine concentrations and temperatures. *J. Food Eng.* **80 (2)**: 497–502.

Corzo, O.; Bracho, N.; Marval, J. (2006a). The use of fractional conversion technique on firmness change kinetics of vacuum pulse osmotic dehydration sardine sheets. J. Food Eng. **73 (4)**: 358–363.

Corzo, O; Bracho, N; Marval, J. (2006b). Effects of brine concentration and temperature on color of vacuum pulse osmotically dehydrated sardine sheets. *LWT* **39 (6)**: 665–670.

Corzo, O; Bracho, N; Marval, J. (2006c). Color change kinetics of sardine sheets during vacuum pulse osmotic dehydration. *J. Food Eng.* **75 (1)**: 21–26.

Corzo, O; Bracho, N; Rodríguez, J; González, M. (2007). Predicting the

moisture and salt contents of sardine sheets during vacuum pulse osmotic dehydration. *J. Food Eng.* **80**: 781–790.

Costa-Corredor, A; Serra, X; Arnau, J; Gou, P. (2009). Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters. *Meat Sci.* **83 (3)**: 390-397.

Cousseau, B; Perrotta, R. (1999). *Peces Marinos de Argentina*. Editado por el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata.

Crank, J. (1975). *The Mathematics of Diffusion* (2da ed.). University Press. Oxford.

Damasio, M; Capilla, C; Costell, E; Durán, L. (1990). Influencia de la composición en las propiedades mecánicas de geles mixtos de kappa–carragenano, goma garrofín y goma guar. Resistencia al corte. *Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos* **30**: 109–121.

Del Valle, CE; Filsinger, BE; Yeannes, MI; Soulé, CL. (1984). Shelf life of brine refrigerated anchovies for canning. *J. Food Sc.* **49(1)**: 180-182.

Domingo, JL. (2007). Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: Is all that glitters gold? *Environ. Int.* **33**: 993–998.

Durand, P. (1981). Etude de la fraction azotee soluble de l´anchois sale en tours maturation. *Rev. Trav. Inst. Peches marit.* **45 (4)*:*** 271-281.

Escudero Domínguez, LJ. (2007). *Historia de los Salazoneros Italianos en Cantabria*. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Cantabria, España. 270 p.

Espe, M; Nortvedt, M; Lie, Ø; Hafsteinsson, H. (2001). Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) as raw material for the smoking industry. I: effect of different salting methods on the oxidation of lipids. *Food Chem.* **75 (4)**: 411-416.

FAO. (2011). Fisheries and Aquaculture Department. Food and Agriculture Organization of the United Nations. [fecha de consulta: 2 de febrero de 2011]. Disponible en: www.fao.org.ar

Felix, M; Ameztoy, I; Ramirez, E; Yeannes, M. (2004). Incidence of different genus of halophilic *Arqueobacteria* in samples of matured salted anchovy (*Engraulis anchoita*). *Biocell* **28 (2)**: 226.

Félix, MM; Ramirez, EE; Yeannes, MI. (2006a). Análisis preliminar de la curva de crecimiento de *Halococcus morruhae* mediante espectrofotometría. Proceedings XIV Seminario Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. X Conferencia Internacional sobre Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICTA-10). V Congreso Nacional de Alimentación y Nutrición. Área Evaluación de los Alimentos: 18- 23.

Félix, M; Ameztoy, I; Yeannes, MI. (2006b). Identificación de microorganismos presentes en sal empleada para procesos de conservación de alimentos. VII Congreso. XXVI Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario. 6 y 7 de diciembre. Rosario. Santa Fe. Argentina.

Félix, MM; Ramírez, EE; Yeannes, MI. (2007). Bacterias halófilas extremas deteriorantes en anchoíta salada. *Revista de Ciencias Agrarias y de Tecnología de Alimentos* **24**.

Félix, MML; Ameztoy, I; Yeannes, MI. (2008). Evaluación microbiológica de anchoíta (*Engraullis anchoíta*) salada madurada y filetes en aceite. Publicación anual del X Congreso Rosarino. XXVIII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario.

Félix, MM; Ameztoy, I; Ramírez, EE; Yeannes, MI. Culture alternative medium for the growth of extreme halophilic bacteria in fish products. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. En prensa.

Fernández, M; Ordóñez, JA; Bruna, JM; Herranz, B; de la Hoz, L. (2000). Accelerated ripening of dry fermented sausages. *Trends Food Sci. Technol.* **11**: 201-209.

FIL IDF. 73 (1974). Determinación de microorganismos lipolíticos de la manteca.

Filsinger, B; Zugarramurdi, A; Sánchez, JJ; Trucco, RE; Lupín, HM. (1978). Variaciones químicas durante la maduración de anchoíta salada. *La Alimentación Latinoamericana* **108**: 26-31.

Filsinger, B; Barassi, CA; Lupín, HM; Trucco, RE. (1982). An objective index for

the evaluation of the ripening of salted anchovy. *Int. J. Food Sci. Technol.* **17 (2)**: 193-200.

Filsinger, BE; Barassi, CA; Lupín, HM. (1984). Formación de Nitrógeno Básico Volátil Total durante la maduración de anchoíta (*E. anchoita*). *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment*. **24 (4)**: 524-528.

Filsinger, B. (1987). Effect of pressure on the salting and ripening process of anchovies (*Engraulis anchoita*). *J. Food Sci.* **52 (4)**: 919-921.

Filsinger, B; Sisti, E; Bergamaschi, N. (1987). Chemical and sensory assessments in ripened anchovies. *Int. J. Food Sci. Technol.* **22 (1)**: 73-76.

Filsinger, BE; Yeannes, MI. (1992). Influencia de las variaciones estacionales de la anchoíta (*E. anchoita*) en el proceso de maduración. *VIII Jornadas de Tecnología y Economía Pesquera.* 3 y 4 de diciembre de 1992. Mar del Plata, Argentina.

Filsinger, BE; Yeannes, MI. (1994). Anchoíta (*Engraulis anchoíta*) de diferentes épocas del año salada y madurada. VI Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 6 - 9 de abril de 1994. Buenos Aires. Argentina

Flannery, WL. (1956). Current status of knowledge of halophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* **20(2)**: 49-66.

Fu, X; Xu, S; Wang, Z. (2007). Kinetics of lipid oxidation and off-odour formation in silver carp mince: The effect of lipoxygenase and hemoglobin. *Food Res. Int.* **42 (1)**: 85-90.

Fuentes, A; Barat, JM; Fernández-Segovia, I; Serra, JA. (2008). Study of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) salting process: Kinetic and thermodynamic control. *Food Control* 19: 757–763.

Fuselli, SR; Casales, MR; Fritz, R; Yeannes, MI. (1998). Isolation and characterization of microorganisms associated with marinated anchovy (*Engraulis anchoita*). *Journal of Aquatic Food Product Technology* **7(3)**: 29-38.

Gandemer, G. (2002). Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Sci.* 62: 309–321.

Gallart-Jornet, L; Barat, JM; Rustad, T; Erikson, U; Escriche, I; Fito, P.

(2007a). Influence of brine concentration on Atlantic salmon fillet salting. *J. Food Eng.* **80**: 267–275.

Gallart-Jornet, L.; Barat, J. M.; Rustad, T.; Erikson, U.; Escriche, I.; Fito, P. (2007b). A comparative study of brine salting of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Food Eng.* 79, 261–270.

Gallo Seminario, M. (2004). Workshop Internacional sobre Alternativas tecnológicas para o Aproveitamento de anchoita e cefalópodes. Organizado por el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Red Iberoamericana de Tecnología de Alimentos Pesqueros. (RITAP/CYTED). Fundacao Universidade Federal do Rio Grande Departamento de Química. Río Grande. 2 - 4 de septiembre de 2004.

German, JB; Kinsella, JE. (1985). Lipid Oxidation in Fish Tissue. Enzymatic Initiation via Lipoxygenase**.** *J. Agric. Food Chem.* **3 (4)**: 680-683.

Giannini, D, Davidivich, L, Lupín, HMM. (1979). Adaptación de método de uso comercial para la determinación de Nitrógeno Básico Volátil en merluza (*Merluccius hubbsi*). *Red Agroquim Tecnol. Aliment*, **19 (1)**: 55-60.

Girard, B; Durance, T. (2000). Headspace volatiles of sockeye and pink salmon as affected by retort process. *J. Food Sci.* **65 (1)**: 34-39.

Graiver, N; Pinotti, A; Califano, A; Zaritzky, N. (2006). Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *J. Food Eng.* **77 (4)**: 910–918.

González-Hernández, JC; Peña, A. (2002). Estrategias de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii* (Levadura halófila) *Revista Latinoamericana de Microbiología* **44 (3-4)**: 137-156.

Gou, P; Comaposada, J; Arnau, J. (2003). NaCl content and temperature effects on moisture diffusivity in the *Gluteus medius* muscle of pork ham. *Meat Sci.* **63** (1): 29–34.

Gram, L; Huss, HH. (1996). Microbiological spoilage of fish and fish products. *Int. J. Food Microbiol.* **33**: 121-137.

Gudmundsdóttir, G; Stefánsson, D. (1997). Sensory and Chemical Changes in Spice-salted Herring as Affected by Handling. *J. Food Sci.* **62 (4)**: 894-897.

Guillén, MD; Ruiz, A. (2004). Study of the oxidative stability of salted and unsalted salmon fillets by ^{1}H nuclear magnetic resonance. *Food Chem.* 86 (2): 297-304.

Hamm, R. (1961). Biochemistry of meat hydration. En: Chichester, CO; Mrak, EM (Eds.), *Advances in Food Research*, Vol 10. Academic Press, Pp: 355-463.

Hamre, K; Lie, Ø; Sandnes, K. (2003a). Seasonal development of nutrient composition, lipid oxidation and colour of fillets from Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus L.*). *Food Chem*. **82**: 441-446.

Hamre, K; Lie, Ø; Sandnes, K. (2003b). Development of lipid oxidation and flesh colour in frozen stored fillets of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.). Effects of treatment with ascorbic acid. *Food Chem*. **82**: 445-453.

Hansen, JE. (2000). Anchoíta (*Engraulis anchoita*). En: *Síntesis del Estado de las Pesquerías Marítimas Argentinas y de la Cuenca del Plata*. Años 1997-1998, *con una actualización de 1999*. Ed: Bezzi, S; Akselman, R; Boschi, EE. Publicaciones especiales. INIDEP, Mar del Plata, 388 p.

Hansen, JE; Garciarena, AD. (2004a). Diagnóstico de la población de anchoíta (*Engraulis anchoita*) al norte de los 41º S y estimación de capturas biológicamente aceptables durante el año 2004. Informe Técnico Interno INIDEP 15/04.

Hansen, JE; Garciarena, AD. (2004b). Modelo de producción aplicado a la población de anchoíta (*Engraulis anchoita*) al sur de los 41º S y estimación de capturas biológicamente aceptables durante el año 2004. Informe Técnico Interno INIDEP 01/04.

Hastings, RJ; Rodger, GW; Park, R; Matthews, AD; Anderson, EM. (1985). Differential scanning calorimetry of fish muscle: The effect of processing and species variations. *J. Food Sci.* **57**: 503-506.

Hernández-Herrero, MM; Roig-Sagués, AX; López-Sabater, EI; Rodríguez-Jerez, JJ; Mora-Ventura, MT. (1999a). Total Volatile Basic Nitrogen and another physico-chemical and microbiological characteristics as related to ripening of salted anchovies. *J. Food Sc*. **67 (2)**: 2631-2640.

Hernández-Herrero, MM; Roig-Sagués, AX; López-Sabater, EI; Rodríguez-

Jerez, JJ; Mora-Ventura, MT. (1999b). Protein hydrolysis and proteinase activity during the ripening of salted anchovy (*Engraulis encrasicholus l.*). A microassay method for determining the protein hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* **47 (8)**: 3319-3324.

Hernández-Herrero, MM; Roig-Sagués, AX; Rodríguez-Jerez, JJ; Mora-Ventura, MT. (1999c). Halotolerant and halophilic histamine-forming bacteria isolated during the ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicholus*). *J. Food Prot.* **62 (5)**: 509-514.

Hernández-Herrero, M; Roig-Sagués, AX; López-Sabater, EI; Rodríguez-Jerez, JJ; Mora-Ventura, MT. (2000). SDS-PAGE of salted anchovies (*Engraulis encrasicholus* L.) during the ripening process. *Eur. Food Res. Technol.* **212 (1)**: 26-30.

Hernández-Herrero, MM; Roig-Sagués, AX; López-Sabater, EI; Rodríguez-Jerez, JJ; Mora-Ventura, MT. (2002). Influence of raw fish quality on some physicochemical and microbial characteristics as related to ripening of salted anchovies (*Engraulis encrasicholus L*). *J. Food Sci.* **67 (7)**: 2631-2640.

Heu, MS; Kim, HR; Pyeun, JH. (1995). Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, *Engraulis japonica. Comp. Biochem. Physiol. B* **112 (3)**: 557-567.

Hjalmarsson, GH; Park, JW; Kristbergsson, K. (2007). Seasonal effects on the physicochemical characteristics of fish sauce made from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chem.* **103**: 495–504.

Holt, JG (Ed). (1989). Bergey´s Manual of Systematic Bacteriology. Vol. III, Sec. 25, *Archaeobacteria*. Williams & Wilkins, Baltimore. pp.2171-2233.

Hoyland, DV; Taylor, AJ. (1991). A review of the methodology of the 2-thiobarbituric acid test. *Food Chem.* **40**: 271-291.

Hsiu, HH; Pan, BS. (1996). Effect of protector and hydroxypatite partial purification on stability of lipoxygenase from gray mullet gill. *J Agric. Food Chem*. **44**: 741–745.

Huidobro, A; Tejada, M. (1990). Determinación analítica de los compuestos nitrogenados no proteicos en el músculo de pescado. Aplicación al control de

calidad. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* **30**: 293-302.

Hyldig, G; Nielsen, D. (2001). A review of sensory and instrumental methods used to evaluate the texture of fish muscle. *J. Text. Stud.* **32**: 219-242.

Huss, HH; Valdimarson, G. (1990). Microbiology of salted fish. *Fish Tech. News* **10 (1)**: 3-5.

Huss, HH. (1999). *El Pescado Fresco: su calidad y cambios de su calidad*. FAO Documentos técnicos de pesca –T 348. Roma, Italia.

ICMSF. (1983). *Microorganismos de los Alimentos I. Técnicas de análisis microbiológicos*. Ed. Acribia. España.

International Organization for Standardization (ISO). (2000). Animal and vegetable fats and oils-Preparation of methyl esters of fatty acids. Suiza. (ISO 5509:2000).

IRAM. (1995). Análisis Sensorial. Guía para la instalación de locales de ensayo. Norma 20003. 18 p.

Ismail, N; Wootton, M. (1992). Fish salting and drying: A review. *ASEAN Food Journal*, **7(4)**: 175–183.

Jensen, KN; Jørgensen, BM. (2003). Effect of storage conditions on differential scanning calorimetry profiles from thawed cod muscle. *LWT* **36**: 807–812.

Jensen, KN; Jacobsen, C; Nielsen, HH. (2007). Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* ***L***.): influence of time and place of catch on n-3 PUFA content. *J. Sci. Food Agric*. **87 (4)**: 710–718.

Jurado, A; García, C; Timón, ML; Carrapiso, AI. (2007). Maduración del jamón ibérico: evolución de indices basados en compuestos volátiles. *Ciencia y tecnología Alimentaria* **5 (4)**: 278-286.

Kanner, J; Harel, S; Jaffe, R. (1991). Lipid peroxidation of muscle food as affected by NaCl. *J Agric Food Chem* **39**:1017-1021.

Khin, M; Zhou, W; Perera C. (2006). A study of the mass transfer in osmotic dehydration of coated potato cubes. *J. Food Eng.* **77 (1)**: 84-95.

Khoyi, M; Hesari, J. (2007). Osmotic dehydration kinetics of apricot using sucrose solution. *J. Food Eng.* **78 (4)**: 1355-1360.

Kirk, R; Sawyer, R; Egan, H. (1996). Composición y Análisis de Alimentos de Pearson. Segunda Edición. Editorial Continental S.A. De C.V. México.

Labuza, TP. (1980). Effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technol*. **34(4)**: 36.

Lackshmanan, R; Jeya Shakila, R; Jeyasekaran, G. (2002). Changes in the halophilic amine forming bacterial flora during salt-drying of sardines *(Sardinella gibbosa)*. *Food Res. Int.* **35**: 541-546.

Larrea, V; Hernando, I; Quiles, A; Lluch, MA, Pérez-Munuera, I. (2006). Changes in proteins during Teruel dry-cured ham processing. *Meat Sci.* **74**: 586–593.

Larrea, V; Pérez-Munuera, I; Hernando, I; Quiles, A; Lluch, M. (2007). Chemical and structural changes in lipids during the ripening of Teruel dry-cured ham. *Food Chem.* **102 (2)**: 494-503.

Lauritzsen, K; Akse, L; Johansen, A; Joensen, S; Sørensen, NK; Olsen, RL. (2004). Physical and quality attributes of salted cod (*Gadus morhua* L.) as affected by the state of rigor and freezing prior to salting. *Food Res. Int.* **37**: 677–688.

Lawrie, RA. (2005). Ciência da carne, 6ta Ed. Artmed, Porto Alegre.

Lees, R. (1969). *Manual de Análisis de Alimentos*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Lindahl, G; Lundström, K; Tornberg, E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Sci.* **59 (2):** 141–151.

Lupín, HM. (1979). Curso sobre tecnología de elaboración de productos pesqueros. Ed. Publitec SA. 150 p.

Love, RM. (1970). *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press, Londres.

MacLean CH; Newberry SJ; Mojica WA; Khanna P; Issa AM; Suttorp MJ; Lim YW; Traina SB; Hilton L; Garland R; Morton SC. (2006). Effects of omega-3 fatty acids on cancer risk: a systematic review. *Journal of the American Medical Association*, **295(4)**:403-15.

Madureira, LS; Castello, JP; Prentice-Hernández, C; Queiroz, MI; Espírito

Santo, ML; Ruiz, WA; Raggi Abdallah, P; Hansen, J; Bertolotti, MI; Manca, E; Yeannes, MI; Avdalov, N; Fernández Amorín, S. (2009). Current and potential alternate food uses of the Argentine anchoita (*Engraulis anchoita*) in Argentina, Uruguay and Brazil. En: (Hasan, MR; Halwart, M, Eds.) *Fish as Feed Inputs for Aquaculture. Practices, Sustainability and Implications*. FAO Fisheries Technical Paper. Roma, Italia.

Martín, L; Córdoba, JJ; Antequera, T; Timón, ML; Ventanas, J. (1998). Effects of salt and temperature on proteolysis during ripening of Iberian ham. *Meat Sci.* **49 (2)**: 145-153.

Martín, L; Córdoba, JJ; Ventanas, J.; Antequera, T. (1999). Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry-cured ham. *Meat Sci.* **51 (2)**: 129-134.

Maqsood, S; Benjakul, S. (2011). Effect of bleeding on lipid oxidation and quality changes of Asian seabass (*Lates calcarifer*) muscle during iced storage. *Food Chem.* **124**: 459-467.

Martínez, A; Olsen; RL; Serra, JL. (1988). Purification and characterization of two trypsin-like enzymes from the digestive tract of anchovy *Engraulis encrasicholus*. *Comp. Biochem. Physiol. B* **91 (4)**: 677-684.

Martínez, A; Serra, JL. (1989). Proteoltyic activities in the digestive tract of anchovy (*Engraulis encrasicholus*) *Comp. Biochem. Physiol. B* **93 (1)**: 61-66.

Massa, AE; Yeannes, MI; Manca, EA. (2007). Ácidos grasos poliinsaturados de la serie Omega-3 en ejemplares bonaerenses y patagónicos de anchoíta argentina. *Revista A&G* **69 (1)**: 568-572.

Masson, L. (1997). Métodos analíticos para la determinación de humedad, alcohol, energía, materia grasa y colesterol. En: *Producción y Manejo de Datos de Composición Química de Alimentos en Nutrición* (Cap. 14). FAO. Santiago de Chile.

Mc Faddin JF. (1980). Pruebas bioquímicas para la identificación de Bacterias de importancia clínica. Médica Panamericana. Buenos Aires.

Medina, I; Saeed, S; Howell, N. (1999). Enzymatic oxidative activity in sardine (*Sardina pilchardus*) and herring (*Clupea harengus*) during chilling and

correlation with quality**.** *Eur. Food Res. Tech.* **210 (1)**: 34-38**.**

Medina-Vivanco, M; Sobral, PJA; Sereno, AM; Hubinger, MD. (2004). Thermal analysis of osmotically dehydrated tilapia muscle: effect of sodium chloride and sucrose on denaturation temperature of myofibrillar proteins. *Drying 2004* – Proceedings del 14th International Drying Symposium (IDS 2004). San Pablo, Brasil, 22-25 August 2004, vol. C, pp. 1859-1867.

Meir, S; Philosoph-Hadas, S; Aharoni, N. (1992). Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid-peroxidation products detected during senescence of parsley by a newly developed method. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **117**: 128-132.

Merck. (1994). Manual de medios de cultivo.

Mora L; Valero ML; Del Pino MMS; Sentandreu MA; Toldrá F. (2011). Small peptides released from muscle glycolytic enzymes during dry-cured ham processing. *J. Proteomics*, doi: 10.1016/j.jprot.2010.12.008

Moreno, VJ; Aizpún de Moreno, JE. (1979). Lípidos de la anchoíta *Engraulis anchoita*. *XV Reunión Nacional de la Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica.* 21 a 24 de Octubre. Bermejo, Mendoza, Argentina.

Niven, CF; Jeffrey, MB; Corlett, DA. (1981). Differential plating medium for cuantitative detection of histamine-producing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**: 321-322.

Nguyen, MV; Arason, S; Thorarinsdottir, KA; Thorkelsson, G; Gudmundsdóttir, A. (2010). Influence of salt concentration on the salting kinetics of cod loin (*Gadus morhua*) during brine salting. *J. Food Eng.* **100**: 225-231.

Ochoa Martínez, C; Ayala Aponte, A. (2005). Modelos matemáticos de transferencia de masa en deshidratación osmótica. Ciencia y Tecnología Alimentaria **4 (5)**: 330-342.

Offer, G; Trinick, J. (1983). On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Sci.* **8 (4)**: 245-281.

Okos, MR; Narsimhan, G; Singh RK; Weitnauer, AC. (1992). Food Dehydration. En: Heldmann D; Luna D (Ed.), *Handbook of Food Engineering*. Marcel

Dekker, Inc. Nueva York.

OriginPro Versión 7.5. (1991). OriginLab Corporation, Northampton, Estados Unidos.

Paredi, M; Yeannes, M. (1987). Histamina en productos pesqueros. *Revista de Ciencias Agrarias* **8 (1-2)**: 5-12.

Pedrosa-Menabrito, A; Regenstein, JM. (1990). Shelf-life extension of fresh fish. A review, Part II: Preservation of fish. *J. Food Qual.* **13**: 129-146.

Peleg, M. (1988). An empirical model for the description of moisture sorption curves. *J. Food Sc.* **53 (4)**: 1216–1217, 1219.

Pérez Borla, O. (1985). *Proteasas alcalinas del músculo de anchoíta*. Tesis Doctoral Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Pérez-Borla, O; Roura, S; Montecchia, S; Roldán, H; Crupkin, M. (2002). Proteolytic activity of muscle in pre- and post-spawning hake (*Merluccius hubbsi Marini*) after frozen storage. *LWT* **35 (4)**: 325-330.

Pérez-Villareal, B; Pozo, R. (1992). Ripening of salted anchovy (*E.ngraulis encrasicholus*): Study of the sensory, biochemical and microbiological aspects. En: Huss, HH y col. (Eds.). *Quality Assurance in the Fish Industry*. Elsevier.

Perú: Plan Estratégico Nacional Exportador 2003–2013. (2009). Plan Operativo Exportador Pesca y Acuicultura. Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. Perú. 93 p. [fecha de consulta: 11 de noviembre de 2009]. Disponible en: www.mincetur.gob.pe

Pokorný, J; Schmidt, S; Parkányiová, J. (2005). Ultraviolet-visible spectrophotometry in the analysis of lipid oxidation. En: Kamal-Eldin, A; Pokorný, J (Eds.). *Analysis of Lipid Oxidation*. AOCS Press, Estadus Unidos. Pp: 17-39.

Pons-Sánchez-Cascado, S; Veciana-Nogués, MT; Vidal-Carou, MC. (2003). Effect of Delayed gutting on biogenic amine contents during ripening of European anchovies. *Eur. Food Res. Technol.* **216 (6):** 489-493.

Pons-Sánchez-Cascado, S. (2005). *Estudio de alternativas para la evaluación de*

la frescura y la calidad del boquerón (Engraulis encrasicholus) y sus derivados. Tesis en Nutrición, Tecnología e Higiene de los Alimentos. Universidad de Barcelona, España.

Pons-Sánchez-Cascado, S; Veciana-Nogués, MT; Bover-Cid, S; Mariné-Font, A; Vidal-Carou, MC. (2005). Volatile and biogenic amines, microbiological counts, and bacterial amino acid decarboxylase activity throught the salt-ripening process of anchovies (*Engraulis encrasicholus*). *J. Food Prot.* **68 (8)**: 1683-1689.

Ponce de León, CV. (1987). *Influencia de diversos factores químicos y biológicos de la materia prima en la calidad de conservas de pescado*. Tesis en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Pozo, R; Pérez-Villarreal, B; Saiuta, E. (1992). Total lipids and omega-3 fatty acids from seven species of pelagic fish. En *Pelagic Fish: The Resource and its Exploitation*. Eds: Burt, JR; Hardy, R; Whittle, KJ. Fishing New Books, Oxford, Reino Unido.

Quiñónes, J. (2007). *Mercados y evolución de las exportaciones pesqueras. Gerencia de Pesca u Acuicultura*. Comisión de Promoción del Perú para la Exportación y el Turismo.

Rastogi, NK; Raghavarao, KSMS; Nirajan, K. (2005). Developments in osmotic dehydration. En: Sun, Da-Wen (Ed.), *Emerging Technologies and Food Processing* (pp. 226). Academic Press, Londres.

Richards, MP; Hultin, HO. (2002). Contributions of Blood and Blood Components to Lipid Oxidation in Fish Muscle. *J. Agric. Food Chem*. **50**: 555-564.

Rodtong, S; Nawong, S; Yongsawatdigul, J. (2005). Histamine accumulation and histamine-forming bacteria in Indian anchovy (*Stolephorus indicus*). *Food Microbiol.* **22**: 475-482.

Roldán, H; Barassi, C; Trucco, R. (1985). Increase on free fatty acids during ripening of anchovies (*E. anchoita*). *J. Food Technol.* **20**: 581-585.

SAGPYA. (2009). Exportaciones e Importaciones Pesqueras 2008. Dirección de Economía Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos.

República Argentina. [fecha de consulta: 7 de diciembre de 2009]. Disponible en: www.miniagri.gob.ar/SAGPyA

SAGPYA. (2011). Ficha por Especie: Anchoíta. Dirección de Economía Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. República Argentina. [fecha de consulta: 2 Febrero de 2011]. Disponible en: www.miniagri.gob.ar/SAGPyA

Samson, E; Stodolnik, L. (2001). Effect of freezing and salting on the activity of lipoxygenase of the muscle tissue and roe of Baltic herring. *Acta Ichthyol. Piscat.* **31**: 97-112.

Sánchez Molinero, F. (2003). Modificaciones tecnológicas para mejorar la seguridad y calidad del jamón curado. Tesis Doctoral de la Universidad de Girona, España.

Sankar, TV; Ramachandran, A. (2005). Thermal stability of myofibrillar protein from Indian major carps. *J. Sci. Food Agric*. **85(6)**: 563-568.

Schmidt, FC; Carciofi, BAM; Laurindo, JB. (2008). Salting operational diagrams for chicken breast cuts: Hydration-dehydration. *J. Food Eng.* **88**: 36-44.

Schmidt, FC; Carciofi, BAM; Laurindo, JB. (2009). Application of diffusive and empirical models to hydration, dehydration and salt gain during osmotic treatment of chicken breast cuts. *J. Food Eng.* **91(4)**: 553-559.

Shah AAKM; Tokunaga, C, Kurihara, H, Takahashi, K. (2009). Changes in lipids and their contribution to the taste of migaki-nishin (dried herring fillet) during drying. *Food Chemistry* **115**: 1011–1018.

Shirai, N; Terayama, M; Takeda, H. (2002). Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comp. Biochem. Physiol. B* **131 (3)**: 387–393.

Sidhu, K. (2003). Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. *Regul. Toxicol. Pharm.* **38 (3)**: 336-344.

Sigurgisladottir, S; Sigurdardottir, MS; Torrissen, O; Vallet, JL; Hafsteinsson, H. (2000). Effects of different salting and smoking processes on the microstructure, the texture and yield of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fillets. *Food Res. Int.* **33 (10)**: 847-855.

Sopade, PA; Pang Yu Xun; Halley, PJ; Hardin, M. (2007). Equivalence of the Peleg, Pilosof and Singh–Kulshrestha models for water absorption in food. *J. Food Eng.* **78 (2):** 730–734.

STATISTICA Versión 6.0. (1998). Statsoft, Inc., Tulsa, Estados Unidos.

Steffánson, G; Guðmundsdóttir G. (1995). Free amino acids and their relationship to taste in (salt) ripened pelagic fish species. Rf Report 91, Islandic Fish Laboratories.

Subsecretaría de Pesca. (2008a). Anchoveta XV, I y II Regiones (*Engraulis ringens*). Gobierno de Chile. [fecha de consulta: 28 de octubre de 2009]. Disponible en: www.subpesca.cl

Subsecretaría de Pesca. (2008b). Anchoveta III y IV Regiones (*Engraulis ringens*). Gobierno de Chile. [fecha de consulta: 28 de octubre de 2009]. Disponible en: www.subpesca.cl

Subsecretaría de Pesca. (2008c). Anchoveta V-X Regiones (*Engraulis ringens*). Gobierno de Chile. [fecha de consulta: 28 de octubre de 2009]. Disponible en: www.subpesca.cl

Suhur, S; Nazlin, KH. (2001). 12-Lipoxygenase activity in the muscle tissue of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and its prevention by antioxidants. *J. Sci. Food Agric.*, **81**: 745–750.

Sun, Q; Faustman, C; Senecal, A; Wilkinson, AL; Furr, H. (2001). Aldehyde reactivity with 2-thiobarbituric acid and TBARS in freeze-dried beef during accelerated storage. *Meat Sci*. **57**: 55-60.

Svensson, VT; Nielsen, HH; Bro, R. (2004). Determination of the protein content in brine from salted herring using near-infrared spectroscopy. *LWT* **37**: 803–809.

Szczesniak, AS. (2002). Texture is a sensory property. *Food Qual. Preference* **13 (4)**: 215-225.

Tateo, A; De Palo, P; Quaglia, N; Centoducati, P. (2007). Some qualitative and chromatic aspects of thawed buffalo (*Bubalus bubalis*) meat. *Meat Sci.* **76 (2)**: 352–358.

Tarladgis BG; Watts BM; Younathen MT. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **37**:44-48.

Telis, V; Romanelli, P; Gabas, A; Telis-Romero, J. (2003). Salting kinetics and salt diffusivities in farmed pantanal caiman muscle. Pesquisa Agropecuária Brasileira [online] **38 (4)**: 529-535.

Thanonkaew, A; Benjakul, S; Visessanguan, W; Decker, EA. (2006). Development of yellow pigmentation in squid (*Loligo peali*) as a result of lipid oxidation. *J. Agric. Food Chem*. **54**: 956-962.

Thorarinsdottir, KA; Arasona, S; Geirsdottirb, M; Bogasonc, SG; Kristbergsson, K. (2002). Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chem*. **77**: 377–385.

Tironi, VA. (2005). Rancidez oxidativa en salmón de mar (*Pseudopercies semifasciata*): interacción lípidos oxidados-proteínas. Tesis Doctoral Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Tironi, VA; Tomás, MC; Añón MC. (2007). Lipid and protein deterioration during the chilled storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). *J Sci Food Agric* **87**:2239–2246.

Tironi, VA; Tomás, MC; Añón, MC. (2010). Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudopercis semifasciata*). Effect of rosemary (Rossmarinus officinalis L.) extract, *LWT* **43 (2)**: 263-272.

Toldrá, F. (2006). Dry Cured Ham. En: Y. H. Hui (Ed.), *Handbook of Food Science Technology and Engineering*, Vol. 4, Boca Ratón: CRC Press 164-164-11.

Triqui, R; Reineccius, GA. (1995a). Flavor development in the ripening of anchovy (*Engraulis encrasicholus L.*). *J. Agric. Food Chem.* **43 (2)**: 453-458.

Triqui, R; Reineccius, GA. (1995b). Changes in Flavor Profiles with Ripening of Anchovy *(Engraulis encrasicholus). J. Agric. Food Chem.* **43***:* 1883-1889.

Triqui, R; Zouinc, K. (1999). Sensory and instrumental assessments of the ripening process of anchovy (*Engraulis encrasicholus*). *LWT* **32 (4)**: 203-207.

Tsai, Y; Lin, C; Chang, S; Chen, H; Kung, H; Wei, C; Hwang, D. (2005). Occurence of histamine and histamine-forming bacteria in salted mackerel in Taiwan. *Food Microbiol.* **22**: 461-467.

Turhan, M; Sayar, S; Gunasekaran, S. (2002). Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. *J. Food Eng.* **53 (2)**: 153–159.

Varlet, V; Prost, C; Serot, T. (2007). Volatile aldehydes in smoked fish: Analysis methods, occurence and mechanisms of formation. *Food Chem.* **105 (4)**: 1536–1556.

Ventosa, A; Nieto, JJ; Oren, A. (1998). Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **62 (2)**: 504-544.

Villar, M; Ruiz Holgado, A; Sanchez, J; Trucco, R, Oliver, G. (1985)**.** Isolation and characterization of *Pediococcus halophilus* from salted anchovies *(Engraulis anchoita)*. Appl. Envirom. Microbiol. **49 (3)**: 664-666.

Voskresensky, NA. (1965). Salting of herring. En *Fish as Food*, Vol III. Ed.: Borgstrom, G. Academic Press, Londres. pp. 107-131.

Wang, D; Tang, J; Correia, LR. (2000). Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis. *J. Food Eng.* **43 (2)**: 115-123.

Yanar, Y; Çelik, M; Akamca, E. (2006). Effects of brine concentration on shelf-life of hot-smoked tilapia (*Oreochromis niloticus*) stored at 4ºC. *Food Chem.* **97**: 244–247.

Yeannes, MI. (1995). Histamina en productos pesqueros. En: *Toxicología de los Alimentos*. Cap VII. Ed. Hemisferio Sur S.A. Argentina. Pág.: 30- 45.

Yeannes, MI; Casales, MR. (1995). Estudio de las variables de proceso de marinados de anchoíta (*E. anchoita*). *Revista de Higiene y Tecnología Alimentaria* **262**: 87- 91.

Yeannes, MI; Félix, M; Ameztoy, I; Ramírez, EE. (2003). Incidencia de *Halococcus spp* en muestras de anchoíta (*Engraulis anchoita*) salada-madurada. *VIII Taller ANTAC.* Varadero, Cuba. 1-4 de octubre de 2003.

Yeannes, MI. (2005). Aminas biógenas en alimentos. *La Alimentación Latinoamericana* **260**: 65-70.

Yeannes, MI; Ramírez, E; Félix, M; Ameztoy, I. (2005). Incidencia y géneros más hallados en anchoíta salada de bacterias halófilas extremas deteriorantes. *Proceedings X Congreso de Ciencia y Tecnología de Alimentos.* Mar del Plata, Argentina, 18-20 de mayo de 2005. Trabajo Nº18.45.

Yeannes, MI. (2006). *Aspectos Científicos y Tecnológicos en Preservas de Productos Pesqueros*. Ed. Fundación Universidad Católica Argentina, Buenos Aires. 73 p.

Yeannes, MI. (2007). Curso: Industria de la Pesca. Facultad de Ciencias Agrarias, UCA.

Zhuang, H; Hildebrand, DF; Barth, MM. (1997). Temperature influenced lipid peroxidation and deterioration in broccoli buds during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol*. **10**: 19-58.

Zlatanos, S; Laskaridis, K. (2007). Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicholus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chem.* **103 (2)**: 725–728.

Zugarramurdi, A; Lupín, HMM. (1976). Studies on anchovy salting I. Equilibrium considerations and concentration profiles. *Latin American Journal of Chemical Engineering and Applied Chemistry* **6 (2)**: 79-90.

Zugarramurdi, A; Lupín, HMM. (1977). Studies on anchovy salting II. Dynamics of the process. *Latin American Journal of Chemical Engineering and Applied Chemistry* **7 (1)**: 25-38.

Zugarramurdi, A., & Lupín, HM. (1980). A model to explain observed behavior of fish salting. *J. Food Sc.* **45 (5)**: 1305-1311, 1317.

Zugarramurdi, A; Parín, MA; Gadaleta, L; Carrizo, G; Lupín, HMM. (2004). The effect of improving raw material quality on product quality and operating costs: a comparative study for lean and fatty fish. *Food Control* **15**: 503–509.

“Al andar se hace el camino,
y al volver la vista atrás
se ve la senda que nunca
se ha de volver a pisar.
Caminante no hay camino, sino estelas en la mar”

Antonio Machado