

VALORACION DE SALSA DE PESCADO TIPO NUOC MAM A PARTIR DE MUSCULO BLANCO, MUSCULO ROJO Y AMBOS MARGINALES DE LAS ESPECIES TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) Y MARLIN (*Xiphias gladius*)

JOSE GILBERTO CORREA CARABALLO



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA AGRICOLA Y DE ALIMENTOS
AREA CURRICULAR DE AGROINGENIERIA Y ALIMENTOS
MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, EN CONVENIO
CON LA UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
CARTAGENA DE INDIAS D. T. Y C, BOLÍVAR
Noviembre, 2015**

**VALORACION DE SALSA DE PESCADO TIPO NUOC MAM A PARTIR DE
MUSCULO BLANCO, MUSCULO ROJO Y AMBOS MARGINALES DE LAS
ESPECIES TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) Y MARLIN (*Xiphias gladius*)**

JOSE GILBERTO CORREA CARABALLO

**Tesis de grado presentado para optar el título de Magister en Ciencias y
Tecnología de Alimentos**

**DIRECTOR
HECTOR SUAREZ MAHECHA PhD**

**ASESOR
MARTIN EMILIO MENDIVIL GAMERO
Ingeniero Pesquero**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO DE INGIENERIA AGRICOLA Y DEALIMENTOS
AREA CURRICULAR DE AGROINGENIERIA Y ALIMENTOS
MAESTRIA EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, EN CONVENIO
CON LA UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
CARTAGENA DE INDIAS D. T. Y C, BOLÍVAR
Noviembre, 2015**

Nota de Aceptación

Firma del presidente del Jurado

Firma del Jurado

Firma del Jurado

Medellín, Noviembre de 2015

DEDICATORIA

Doy gracias a DIOS, por darme la vida y la entereza para escalar otro peldaño en mi formación académica y profesional.

A mis padres JOSÉ GABRIEL y AMÉRICA MARÍA, y a mis hermanos LUIS ALBERTO Y GABRIEL por creer en mí y darme siempre aliento para seguir adelante.

A mi hija VALENTINA DE LOS ANGELES, por ser la motivación, para esforzarme y lograr la meta.

JOSÉ GILBERTO

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a las siguientes personas y entidades que de una u otra hicieron posible el desarrollo de la presente investigación:

Agradezco a los Doctores Gabriel Acevedo, Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de Cartagena, Dr. Jairo Mercado, Dr. Julián Martínez y al Ingeniero Jaime Pérez Mendoza, Director programa de Ingeniería de Alimentos, por su apoyo incondicional en la culminación de este proyecto.

Un agradecimiento muy especial al Doctor Héctor Suarez Mahecha, Director del proyecto de investigación, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, por su acertada dirección y dedicación.

A la auxiliar académico administrativa Liliana María Gómez Gómez, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Colombia, sede Medellín, por su valiosa y oportuna colaboración.

A mi gran amigo Martin Emilio Mendivil Gamero, Ingeniero Pesquero, docente del Programa de Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Cartagena.

Al Doctor Arnulfo Tarón Dunoyer. Químico Farmacéutico. Investigador del grupo de investigación "GIBAE", de la Facultad de Ingenierías de la Universidad de Cartagena; por su apoyo, perseverancia y compromiso en este proyecto.

Al Ingeniero de Alimentos Alexander Arrieta, por su valiosa colaboración en los Análisis Microbiológicos de la Investigación.

A mis colegas y amigos Luis Gabriel Fuentes Rosado, Ángel Camacho Vergara, por ser mi soporte y darme fuerzas, para no desfallecer en los momentos difíciles.

CONTENIDO

<u>RESUMEN.....</u>	<u>11</u>
<u>ABSTRACT.....</u>	<u>12</u>
<u>INTRODUCCIÓN.....</u>	<u>13</u>
<u>1. MARCO DE REFERENCIA.....</u>	<u>16</u>
<u>1.1 TILAPIA NILOTICA (<i>Oreochromis niloticus</i>).....</u>	<u>16</u>
<u>1.2 COMPOSICION QUIMICA Y NUTRICIONAL DE LA CARNE DE TILAPIA.....</u>	<u>19</u>
<u>1.3 MARLIN (<i>Xiphias gladius</i> L.).....</u>	<u>19</u>
<u>1.4 SALSA DE PESCADO.....</u>	<u>22</u>
<u>1.4.1 Producción de Salsa de Pescado.....</u>	<u>22</u>
<u>1.5 SALSA TIPO NUOC MAM.....</u>	<u>24</u>
<u>1.6 ANTECEDENTES.....</u>	<u>25</u>
<u>2. OBJETIVOS.....</u>	<u>33</u>
<u>2.1 OBJETIVO GENERAL.....</u>	<u>33</u>
<u>2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</u>	<u>33</u>
<u>3. METODOLOGIA.....</u>	<u>34</u>
<u>3.1 ADQUISICIÓN DE LA MATERIA PRIMA Y RECEPCIÓN EN PLANTA.....</u>	<u>34</u>
<u>3.2 CONTROL DE CALIDAD.....</u>	<u>34</u>
<u>3.3 PESAJES.....</u>	<u>35</u>
<u>3.4 LIMPIEZA.....</u>	<u>35</u>
<u>3.5 MOLIENDA.....</u>	<u>35</u>
<u>3.6 DOSIFICACIÓN DE INGREDIENTES.....</u>	<u>36</u>
<u>3.7 MADURACIÓN.....</u>	<u>36</u>
<u>3.8 FILTRADO.....</u>	<u>37</u>

<u>3.9 CONTROL DE CALIDAD</u>	<u>37</u>
<u>3.10 EMPAQUE</u>	<u>37</u>
<u>3.11 ALMACENAMIENTO</u>	<u>37</u>
<u>3.12 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA.....</u>	<u>38</u>
<u>3.12.1 pH</u>	<u>38</u>
<u>3.12.2 Sal.....</u>	<u>38</u>
<u>3.13 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA</u>	<u>39</u>
<u>3.13 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA</u>	<u>39</u>
<u>3.15 CARACTERIZACIÓN SENSORIAL.</u>	<u>40</u>
<u>3.16 ANÁLISIS DE DATOS.....</u>	<u>40</u>
<u>4. RESULTADOS Y DISCUSION</u>	<u>41</u>
<u>4.1 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD</u>	<u>41</u>
<u>4.2 EVALUACIÓN DE PARAMETROS FÍSICOQUÍMICOS.....</u>	<u>42</u>
<u>4.3 RENDIMIENTO DE LAS SALSAS</u>	<u>43</u>
<u>4.4 ANÁLISIS PROXIMAL</u>	<u>45</u>
<u>4.5 BASES VOLÁTILES NITROGENADAS.....</u>	<u>52</u>
<u>4.4 PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS.....</u>	<u>53</u>
<u>4.5 EVALUACION SENSORIAL</u>	<u>58</u>
<u>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</u>	<u>60</u>
<u>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</u>	<u>63</u>

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional de la tilapia cocida.....	19
Tabla 2. Composición química Posta de Marlin (<i>Xiphias gladius</i> L.).....	21
Tabla 3. Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos (Larsen <i>et al.</i> , 1992).....	34
Tabla 4. Formulación para la Salsa de Pescado.....	36
Tabla 5. Evaluación de la calidad de la Tilapia negra (<i>Oreochromis niloticus</i>) mediante deméritos (Larsen <i>et al.</i> , 1992).....	41
Tabla 6. Evaluación de la calidad del Marlín (<i>Xiphias gladius</i> L.) mediante deméritos (Larsen <i>et al.</i> , 1992)	42
Tabla 7. Valores encontrados para pH en Tilapia negra (<i>Oreochromis niloticus</i>)	42
Tabla 8. Valores encontrados para pH en Marlín (<i>Xiphias gladius</i> L.)	43
Tabla 9. Cantidad de Musculo molido por tratamiento.....	43
Tabla 10. Densidad de las Salsas.....	44
Tabla 11. Rendimientos en Peso y Volumen de cada una de los Tratamientos	45
Tabla 12. Resultado del análisis proximal de salsa de pescado a partir de músculo blanco	466
Tabla 13. Porcentaje de sal y pH, salsa músculo blanco.....	467
Tabla 14. Resultado del análisis proximal de salsa de pescado a partir de músculo rojo.....	47
Tabla 15. Porcentaje de sal y pH, salsa músculo rojo	467
Tabla 16. Resultado del análisis proximal de salsa de pescado a partir de ambos músculos	48

Tabla 17. Porcentaje de sal y pH, salsa ambos músculos	468
Tabla 18. Perfil de aminoácidos de la salsa tipo nuoc-mam a partir de musculo blanco	51
Tabla 19. Valores de BVT-N de la salsa tipo nuoc-mam	53
Tabla 20. Resultados microbiológicos de salsa tipo nuoc-mam a partir de músculo blanco	54
Tabla 21. Resultados microbiológicos de salsa tipo nuoc-mam a partir de músculo rojo.....	55
Tabla 22. Resultados microbiológicos de salsa tipo nuoc-mam a partir de los dos músculos	56
Tabla 23. Resultados de la evaluación sensorial de salsa de músculo blanco .	58
Tabla 24. Resultados de la evaluación sensorial de salsa de músculo rojo	59
Tabla 25. Resultados de la evaluación sensorial de salsa de ambos músculos	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tilapia (<i>Oreochromis spp.</i>)	18
Figura 2. Marlin (<i>Xiphias gladius L</i>).....	20
Figura 3. Posta de Marlin (<i>Xiphias gladius L</i>)	20
Figura 4. Diagrama de flujo para la elaboración de salsas de pescado.....	38

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo evaluar una salsa de pescado tipo nuoc mam a partir de músculo blanco, músculo rojo y ambos músculos de las especies tilapia (*Oreochromis niloticus*) y marlín (*Xiphias gladius* L). La salsa fue elaborada en las plantas pilotos del programa de ingeniería de alimentos de la Universidad de Cartagena, con temperatura promedio es 29°C y humedad relativa del 78%, mediante fermentación con adición de cloruro de sodio en condiciones anaerobias durante 6 meses. Para ello se empleó un diseño unifactorial totalmente aleatorizado, donde los tratamientos: para músculo blanco y mezcla de ambos músculos fueron: T₁ 1:0.50; T₂ 1:0.465; T₃ 1:0.428 y T₄ 1:0.392. En el caso del músculo rojo las relaciones fueron T₁ 1:0.50; T₂ 1:0.458; T₃ 1:0.416 y T₄ 1:0.375. El pH de la salsa de pescado aumento durante la fermentación, independientemente en todas las muestras, encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). El cambio de pH fue probablemente debido a los ácidos producidos y a las BVT-N (231.5 mg/100g en promedio) alcalinas durante la fermentación. Las concentraciones mínimas y máximas de NaCl en todas las muestras analizadas fueron 28.0 y 31.8%, respectivamente; con una media general del 29.225%. No se observó diferencia significativa en los contenidos de sal entre los diferentes tratamientos ($p > 0,05$), pero si incidió en la densidad final de las salsas (1.30 g/ml). El contenido de proteína de pescado fermentado estuvo alrededor del 22% al 26%, el perfil de aminoácidos mostro que la Lisina, Leucina, Valina, Alanina, Histidina, Serina y Glutamato son los predominantes en la salsa de pescado tipo nuoc-mam. Los resultados microbianos de las muestras de salsa de pescado nuoc-mam no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) debido a las altas concentraciones de sal presentes en ella, que inhiben o retardan el crecimiento de microorganismos. El análisis sensorial demostró que los tratamientos 1 y 2 fueron los de mejor aceptación para los atributos de apariencia, color, olor y sabor, observándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos.

Palabras clave: Salsa de Pescado, Cloruro de Sodio, Músculo Blanco, Músculo Rojo.

ABSTRACT

The research aimed to evaluate a fish sauce nuoc mam type from white muscle, muscle and red muscle of both tilapia (*Oreochromis niloticus*) and marlin species (*Xiphias gladius* L). The sauce was produced in pilot plants of food engineering program at the University of Cartagena, with average temperature is 29 ° C and relative humidity of 78%, by fermentation with the addition of sodium chloride under anaerobic conditions for 6 months. For white muscle and mixture of both muscles they were: T1 1: To do a completely randomized design unifactorial, where treatments are used 0.50; T2 1: 0.465; T3 1: 0.428 and T4 1: 0.392. In the case of red muscle relationships were T1 1: 0.50; T2 1: 0.458; T3 1: 0.416 and T4 1: 0.375. The pH of the fish sauce increased during fermentation, independently in all samples and found significant differences between treatments ($p < 0.05$). The pH change was probably because the acids produced as TVB-N (231.5 mg / 100 g on average) alkaline during the fermentation. The minimum and maximum concentrations of NaCl in all samples analyzed were 28.0 and 31.8%, respectively; with an overall average of 29,225%. No significant difference was observed in the salt content between different treatments ($p > 0.05$), but affected the final density of the sauces (1.30 g / ml). The protein content of fermented fish was about 22% to 26%, the amino acid profile showed that lysine, leucine, valine, alanine, histidine, serine and glutamate are predominant in fish sauce nuoc-mam type. Microbial sampling results fish sauce nuoc-mam no significant differences ($p > 0.05$) due to high salt concentrations present in it, which inhibit or retard the growth of microorganisms. Sensory analysis showed that treatments 1 and 2 were better acceptance for the attributes of appearance, color, smell and taste, significant differences ($p < 0.05$) between treatments.

Keywords: Fish Sauce, Sodium Chloride, Muscle White, red muscle.

INTRODUCCIÓN

En Colombia los productos de la pesca, son mucho más costosos y menos consumidos, que los productos cárnicos, debido tal vez al poco enfoque y tratamiento tecnológico, que en nuestro país se hace de estos productos alimenticios, por tanto tenemos muy pocas opciones de encontrar en el mercado, productos elaborados a base de pescado, con precios razonables y de óptima calidad.

La salsa de pescado se define como el producto líquido obtenido de la fermentación por largos periodos de tiempo, con altas concentraciones de sal a temperaturas tropicales; a partir principalmente de peces como anchoas (*Stolephorus spp.*), la caballa (*Rastrelliger spp.*) y el arenque (*Clupea spp.*) (Fukui *et al.*, 2012; Lopetcharat *et al.*, 2001)

Este producto es todavía muy poco conocido en el mundo occidental, pero en la actualidad existe un creciente interés en la investigación sobre la idoneidad de diferentes materias primas y sus posibilidades de uso para este tipo de producción (Gildberg, 2001).

La salsa de pescado tipo nuoc-mam, no es precisamente un condimento sino un producto alimenticio propiamente dicho, con un valor nutritivo en aminoácidos, sales y vitaminas.

Esta es una práctica común en el sudeste Asiático, como medio para preservar y producir un valor agregado a los productos procedentes de especies pesqueras subutilizadas (Klomklao *et al.*, 2006). Para los asiáticos este producto no es solamente popular, como un condimento, para algunas zonas, regiones y ciertas clases sociales, es la principal fuente de proteína en la dieta y se había convertido en una necesidad en el hogar. Recientemente, se ha vuelto

más interesante para los consumidores en Europa, América del Norte y otros países (Brillantes, 1999). Esta se produce de manera tradicional se produce mediante la mezcla de pescado entero con sal en una proporción de 01:01 - 03:01 y fermentada durante 6 -12 meses o más (Tsai *et al.*, 2006).

Debido al alto contenido de sal, se limita su valor nutritivo porque no podrían ser consumidas en grandes cantidades (Aryanta *et al.*, 1991). Por lo tanto, salsas bajas en sal es la demanda urgente de la sociedad. El proceso tradicional para su fabricación comienza con una mezcla de sal junto con pequeños pescados pelágicos populares denominados anchoas (*Stolephorus ssp.*) (Gildberg, y Thongthai, 2001; Lopetcharat, *et al* 2001). Durante la fermentación, el músculo de pescado sufre la hidrólisis de sus proteínas, inducida por proteasas endógenas, así como por proteasas producidas por bacterias halófilas (Gildberg, 2001).

La combinación de la disminución de pH y ácidos orgánicos (principalmente ácido láctico) es el factor principal de preservación, en productos fermentados de pescado. Generalmente, el pH debe estar por debajo de 5 – 4.5 a fin de inhibir patógenos y bacterias responsables del deterioro, (Owens, 1985).

Los compuestos volátiles, contribuyen al sabor de la salsa de pescado, son producidos por las reacciones no enzimáticas de diversos componentes y las reacciones enzimáticas de muchos otros con las enzimas endógenas de los peces y las producidas por microorganismos sobrevivientes durante la fermentación (Fukami, *et al*, 2004).

Básicamente se produce por una mezcla de pescado y sal (3:1) que se coloca a fermentación durante un período de 6 a 12 meses. Durante la fermentación, aparecen subproductos de la degradación proteica, aminoácidos, ácidos y péptidos, que ejercen un efecto considerable sobre las características

sensoriales de la salsa. La salsa de pescado contiene unos 20 g/l de nitrógeno, de los cuales 80% es en forma de aminoácidos; por lo tanto, pueden considerarse como una importante fuentes de proteína.

Esta tiene un fuerte sabor; por lo cual los químicos de alimentos han estado interesados en la caracterización de su composición química durante un tiempo muy largo (Kurokawa, 1986; Mizutani, *et al.*, 1992; Tsuji, *et al.*, 1994).

Este producto puede disminuirse económicamente usando diversas materias primas; tales como subproductos y varias especies de peces subutilizadas, que no son normalmente usados para la alimentación por su tamaño o apariencia física.

Es por ello que la presente investigación tiene como objetivo elaborar y valorar una salsa tipo nuoc mam a partir de músculo blanco, músculo rojo y músculo de ambas especies; tilapia (*Oreochromis niloticus*) y Marlin (*Xiphias gladius*), como una fuente de diversificación de los productos pesqueros. Las salsas de pescado son muy poco conocidas en el mundo occidental, pero en la actualidad existe un creciente interés en la investigación sobre la idoneidad de diferentes materias primas y sus posibilidades de uso para este tipo de producción, (Gildberg, 2001).

1. MARCO DE REFERENCIA

1.1 TILAPIA NILOTICA (*Oreochromis niloticus*)

El cultivo de tilapia es uno de los productos marinos y dulceacuícolas que gozan de mayor popularidad. En la actualidad la demanda de tilapia continúa creciendo y se estima una producción mundial de tres millones de toneladas para el año 2010 a 2025. En Asia se produce el 75% de la tilapia del mundo, siendo China responsable de la mitad de la producción a nivel mundial (FAO, 2009). La tilapia es un pez teleósteo (pez óseo con aletas) perteneciente a la familia *Cichlidae*. Del grupo llamado "tilapia", diez de sus 60 especies son comestibles. Son originarias de los lagos de África tropical y se desarrollan muy bien en los climas tropical y subtropical (Josupeit, 2007).

Es comúnmente conocida como Mojarra o Tilapia Nilótica y su nombre se debe a su origen en el río Nilo en el África. Su crecimiento es comparable con el de la cachaza y no tiene problemas de depredación. Es un pescado de carne apetecida y es ideal para ser procesado en plantas industriales para obtener filete fresco o congelado. Deben ser cultivados únicamente los machos debido al mejor rendimiento frente a las hembras. La calidad de la semilla es primordial para garantizar poblaciones solo de machos. El cultivo se distribuyó ampliamente por el mundo desde 1940. Las técnicas de reversión sexual utilizando hormonas permitieron el cultivo de poblaciones mono sexos hasta tallas comerciales uniformes, en los años setenta. Esto y los avances en los sistemas de cultivos, dietas, procesamiento y desarrollo de nuevos mercados permitieron una rápida expansión de la industria en los años ochenta.

Con el fin de satisfacer los requerimientos locales de ingesta de proteína, la Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) introdujo la tilapia a los países en desarrollo (FAO, 2009). En los mercados

tradicionales la tilapia fue por muchos años una fuente de proteína de bajo valor. Actualmente, ha logrado ganarse la aceptación de mercados internacionales, siendo EE.UU. el principal país importador de tilapia a nivel mundial.

Después de productos de importancia como el arroz, los productos forestales, la leche y el trigo, los peces contribuyen ampliamente en la producción mundial de proteína según estadísticas de la FAO. Así mismo, ofrecen un gran recurso de proteína animal disponible para los humanos, tanto en países desarrollados como en los países en vías de desarrollo, comprendiendo aproximadamente el 20% de la proteína animal para más de 2800 millones de personas. (FAO, 2009). En relación con las carnes de origen avícola y vacuno, la composición proteica en la carne de pescado es mayor.

El sector pesquero proporciona empleo a más de 200 millones de personas en todo el mundo, donde el 98% son de países en desarrollo. Actualmente la producción acuícola representa el 45% del consumo animal de alimentos marinos y se prevé que seguirá aumentando para satisfacer la demanda futura. (FAO, 2008). Desde los años 70 la producción acuícola ha crecido substancialmente contribuyendo a la seguridad alimentaria mundial, dentro de la cual la tilapia es el segundo grupo más importante de peces a nivel mundial después de las carpas chinas, con una producción en acuicultura que alcanza el 1'000.000 de toneladas métricas a partir del año 2000 (Castillo, 2001).

Según estadísticas de la FAO, Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, para el año 2007 la tilapia presentó una producción mundial de 2'505.465 toneladas, lo cual representa un valor en dólares alrededor de los 3300 millones. Según estadísticas reportadas por el ICA, la producción de tilapia en Colombia a principios de los 90s se encontraba en 11.050 toneladas, permaneció constante hasta 1994 y para el año de 1995

tuvo un aumento considerable alcanzando una producción de 16.057 toneladas, hacia el año 1999 la producción se mantuvo en crecimiento reportando 19.842 toneladas, lo cual para ese año representaba el 46.2% de la producción acuícola nacional. Durante el año 2000 y 2001 la producción bajo en aproximadamente 9000 toneladas, pero para el año 2002 volvió a recuperarse con una producción de 15.223 toneladas, creciendo año tras año, reportando al año 2006, una producción de 23.146 toneladas.

Las tilapias (figura 1) son el segundo grupo de peces más producidos por la acuicultura mundial, con una contribución a la producción de aproximadamente el 20% del volumen total de peces, incrementándose poco a poco desde su implementación hasta la actualidad, siendo la especie *O. niloticus* (tilapia nilótica) equivalente al 80% de la producción, seguida de la *O. mossambicus* con el 5%. (Castillo, 2001)

Figura 1. Tilapia (*Oreochromis spp.*)



Fuente: (Regulatory Fish Encyclopedia: U.S. Food and Drug Administration, 2009).

1.2 COMPOSICION QUIMICA Y NUTRICIONAL DE LA CARNE DE TILAPIA

La carne de tilapia goza de gran aceptación en el mercado internacional. Está constituida en su mayoría de agua y proteína, se puede ver en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición nutricional de la tilapia cocida

NUTRIENTE	UNIDAD	Valor por 100 gramos
Agua	G	71.59
Energía	Kcal	128.00
Grasa Total	G	2.65
Proteína	G	26.15
Cenizas	G	1.14
Total Carbohidratos	G	0.00
Fibra Dietética	G	0.00
Azúcares	G	0.00

Fuente: USDA (2008) modificado por Crespo 2009.

1.3 MARLIN (*Xiphias gladius* L.)

El pez espada (*Xiphias gladius* L.) es una especie cosmopolita que se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial, localizándose en mares tropicales, subtropicales y temperados (Nakamura, 1985). Es altamente migratorio, su migración es vertical a lo largo de la columna de agua. Su cuerpo es algo comprimido (figura 2). El color es gris oscuro, negro o pardo negruzco, en la parte de arriba (dorso), y gris claro o café claro en la parte del vientre. Se distingue por la falta de aletas en la barriga y la presencia de la

quilla (proyección pequeña) en la base de la cola. También se lo conoce como emperador y tienen un peso promedio de hasta 100 kg., pero se han capturado ejemplares de un peso cuatro veces superior. Su talla promedio es de 280 cm (LT) (Castello, 2001).

Estos se alimentan de grandes moluscos, cefalópodos, crustáceos y de otros peces, le encanta comer calamar; los adultos carecen de dientes. Su carne es comestible y nutritiva (figura 3), Las hembras desovan durante todo el año, pero el pico más alto de 42 desove está entre junio y julio, los huevos toman de 2,5 a 3 días en salir del cascarón, crecen muy rápidamente y no viven un gran número de años (Castello, 2001).

La tabla 2, presenta la composición química y nutricional más detallada. De acuerdo con Castello (2001).

Figura 2. Marlin (*Xiphias gladius* L)



Figura 3. Posta de Marlin (*Xiphias gladius* L).



Tabla 2. Composición química Posta de Marlin (*Xiphias gladius* L).

NUTRIENTE	UNIDAD	Valor por 100 gramos
Agua	G	80
Energía	Kcal	110.45
Grasa Total	G	4.3
Proteína	G	17
Hierro	mg	0.9
Magnesio	mg	57
Potasio	mg	342
Sodio	mg	102
Fosforo	mg	506
Vitamina A	mcg	500

Tomado de: Eroski Cosumer pescados y mariscos. consumer.es/pez-espada-o.../propiedades-nutritivas.

https://www.google.com/search?q=www.eroski+consumer&gws_rd=ssl. Consultado 10 de marzo de 2015.

1.4 SALSA DE PESCADO

Es el producto líquido desarrollado durante la fermentación de pescado salado fuertemente en tanques cerrados a temperaturas tropicales (25 - 40°C). Tailandia es el mayor productor (Saisithi, 1994). La salsa es un líquido marrón claro que cambia a oscuro y se utiliza comúnmente como un potenciador del sabor o en reemplazo de la sal en preparaciones alimenticias (Kasetsart, 2006).

Según Ibrahim, 2010, es un condimento color café, líquido de uso común en la mayor parte del sudeste Asiático, toma diferentes nombres en cada país o región. Por existir grandes diferencias en métodos de producción, uso y proporciones de materias primas. Contiene una mezcla de aminoácidos y otros productos de la degradación de proteínas (Fukami, *et al.*, 2004; Ruiz y Jiménez, 2004; Gildberg, 2001; Ijong y Ohta, 1995). Bioquímicamente, una salsa de pescado es la proteína de sal soluble en forma de aminoácidos y péptidos (Lopetcharat, *et al.*, 2001).

1.4.1 Producción de Salsa de Pescado. Tradicionalmente, esta se produce por la mezcla de una parte de la sal con dos o tres partes de peces y la fermentación a temperatura ambiente (30-40°C) para 6 meses o más (Lopetcharat, *et al.*, 2001). Sin embargo, la proporción de sal y peces puede ser diferente en las distintas regiones. Durante la fermentación, la hidrólisis de proteínas es inducida por proteasas endógenas del músculo y el tracto digestivo, así como de proteasas producidas por bacterias hemolíticas (Gildberg, 2001).

Los compuestos volátiles que contribuyen al sabor de la salsa, son producidos por las reacciones no enzimáticas de diversos componentes y las reacciones enzimáticas endógenas originadas en los peces y por los microorganismos que sobreviven durante la fermentación (Fukami, *et al.*, 2004). Uno de los más

importantes factores de calidad de salsa de pescado es el contenido en nitrógeno total en el líquido y los estándares de calidad se han basado en este valor. Es el índice utilizado como objetivo para clasificar la calidad de la nam pla de salsa tailandesa de pescado (Wilaipan, 1990). El contenido de nitrógeno total de diferentes tipos de salsa de pescado ha sido variable y puede basarse en la materia prima o las condiciones de procesamiento.

Beddows *et al.*, (1979). Determina nitrógeno total en salsa Budu, con valores de 1,77% después de 154 días de fermentación durante una producción comercial de la salsa de pescado (Saisithi *et al.*, 1966). Había informado el 1,8% de nitrógeno total en salsa nam pla después de 9 meses de fermentación.

La presencia de una alta concentración de sal, controla el crecimiento de microorganismos patógenos y da como resultado un aroma y sabor deseable (Catharina, *et al.*, 1999). La absorbancia de la salsa, con la activación de proteasas en pescado ha demostrado que depende en gran medida de la concentración de sal en el medio (Orejana y Liston, 1981). Si el contenido de sal inicial es demasiado alto, no sólo retardara la actividad enzimática, al inhibirse el ataque por enzimas proteolíticas sino que también causara deterioro en el tejido por un aumento en la presión osmótica.

Otros trabajos llegan a la conclusión que el color marrón de salsa de pescado es causado por browning no enzimático (Beddows, 1985; Wilaipan, 1990). de otra parte la Agencia Canadiense de inspección de pescado a configurado el límite máximo de histamina en salsa de pescado de 200 mg/l, mientras que la alimentación y la FDA define a 500 mg/l (por la, FDA, 2001b.).

1.5 SALSA TIPO NUOC MAM

Según Miro, *et al* (2010). La salsa de pescado Garum, encontrada en los hallazgos arqueológicos de Pompeya, Italia demuestran, la antigüedad de las salsas y el uso dado a la misma en el imperio romano, como también su calidad, pero se desconoce la composición química de la misma. Estas se encuentran entre los condimentos mejoradores del sabor más común, ampliamente producidos y distribuidos a través del antiguo Imperio Romano (Lowe, 2009a).

Su uso como condimento prácticamente desapareció de Europa en la edad media, debido al caos social y político, tras la caída del Imperio Romano de Occidente y de China y Japón, a comienzos del siglo XIV, nuevamente se da una mayor utilización de ellas. Las salsas de pescado en la antigua roma, especialmente “garum”, han suscitado un interés considerable entre los historiadores en los últimos años, las principales áreas de investigación, son las costas de España y el sur de Italia, especialmente de Pompeya (Curtis, 1991; Lowe, 2009b).

La salsa plaa-som se compone típicamente de peces de agua dulce, sal, arroz cocido y el ajo (Adams, 1986). Se produce principalmente en la parte central y noreste de Tailandia. Sin embargo, en la provincia de Songkhla al sur de Tailandia, se produce una variedad de plaa-som, en la que se sustituye el arroz, por arroz hervido, ajo y miel de palma. Otras veces la sustitución es por arroz tostado asemejándose a la salsa plaa-uan, otro tipo de salsa de pescado fermentado Tailandés. (Pithakpol, *et al.*,1995). El som-fak, un producto de pescado fermentado. Tailandés, donde el crecimiento de levaduras es un signo de deterioro (Saisithi *et al.*, 1986).

La concentración de sal puede variar de 1 al 10% (w/w) en los diferentes tipos de salsa y lotes de pescado fermentado (Saisithi, 1987). Es probable que esto

tenga una marcada influencia en el crecimiento microbiano y en la tasa de fermentación, y por ende sobre la calidad sensorial y en la seguridad del producto.

Por tanto, es de interés identificar la concentración óptima de sal, que no inhiba el crecimiento de los microorganismos fermentadores, y que contribuya positivamente al sabor y la textura del producto.

1.6 ANTECEDENTES.

Zarei *et al.*, (2011) en su estudio muestran un mejor conocimiento y el primer informe sobre las propiedades químicas y microbianas del mahyaveh una salsa tradicional iraní de pescado. Las muestras de salsa utilizadas en el estudio fueron procedentes de cinco regiones del sur de Irán. El pH de las muestras de las mahyaveh de diferentes ubicaciones estaba en el rango de 4.89 a 7.55 y la concentración de NaCl estaba en el intervalo de 7.48 a 17.1%. La media global de TVB-N en todas las muestras analizadas fue de 3.098 mg / kg. La histamina, con una media global de 2,662 mg / kg, se encontró que era la fuente principal de aminas biógenas en la salsa de pescado iraní. El alto contenido de histamina en este producto puede estar relacionado con los altos niveles de recuento de bacterias, especialmente enterobacterias (media global de 3,41 log ufc / g), y ácido láctico bacterias (media global de 4,13 log ufc / g). Espermidina fueron las segundas aminas biógenas dominantes, mientras que la putrescina y la tiramina estaban presentes a bajas concentraciones en las diferentes muestras. En consecuencia, el problema principal asociado con este producto es el alto contenido de histamina. Mahyaveh, por lo tanto, podría no ser completamente seguro para el consumo humano y el consumo excesivo de este producto de forma regular no es recomendable

Lung, *et al.*, (2003) manifiesta en Taiwán producen una salsa usando desechos de pescado bonito con o sin, la adición de diferentes enzimas, incluyendo vísceras, soja koji y ang-khak. También la preparan con el pescado entero para comparar. Obtuvieron salsas de pescado con calidad similar, cuando son utilizados los desechos o el pescado entero como materia prima. Identificaron un total de 23 compuestos volátiles, que pueden contribuir al aroma de las salsas de pescado. Los compuestos responsables del aroma de las salsas de pescado, fueron identificados principalmente; lípidos compuestos, aminoácidos y azúcar en las materias primas. En Taiwán producen salsa buscando minimizar el problema ambiental, donde el pescado como producto básico genera el 50% de desechos. Presentan la salsa, como recurso biológico valioso por suministrar abundante e importantes biomateriales, como proteínas, lípidos, enzimas y quitina. Los estudios mostraron en el pescado denominado bonito, abundancia en los ácidos grasos insaturados como DHA y EPA de buen valor nutricional. Cada tratamiento (ocho en total) contiene diferentes combinaciones de partes diferentes del cuerpo de los peces con o sin la adición de koji o ang-khak. Desechos de bonito combinados, se mezclaron con vísceras (1: 2, w/w) y una solución de sal al 20%, fueron mezclados y esterilizados a 121°C durante 15 minutos. El pH, contenido de proteínas y aminoácidos libres son analizados durante la fermentación a temperatura ambiente durante 5 meses. Actividades enzimáticas y sabor aromático se analizaron también regularmente. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA) se realizan para determinar las características sensoriales de salsas de pescado.

Los datos se procesaron con paquete estadístico SAS para el análisis de las diferencias y desviación de desviaciones entre observaciones por el conjunto de datos. Para supervisar el cambio en el curso de la fermentación, varias propiedades químicas como el pH, el contenido de proteínas y aminoácidos libres fueron analizadas durante la fermentación. Las propiedades de las salsas de peces de todos los tratamientos se comparan entre sí y con un patrón. El

cambio del pH en el curso de la fermentación, durante el primer mes de la fermentación, es probablemente debido al aumento de alcalinidad VBN durante el período de fermentación.

Sornchai, *et al.*, (2007) estudiaron la producción de proteasas por un microorganismo aislado de la salsa de pescado Tailandés, *Virgibacillus* SP, utilizaron diversos sustrato. Caldo de Neopeptone (NEO), caldo de halobacterium (HL) y HL sin extracto de levadura (HL-Y), peptona (HL-P) o ácido casamino (HL-C), que resultaron ser aptos para el cultivo de la proteinasas. La óptima producción de la enzima para el *Virgibacillus* SP. SK33 fue en el 5% (NaCl) a 40 °C, la máxima producción de proteinasa, se logró en 36 h y el crecimiento celular máximo obtuvo en 72 horas en el HL modificado complementado con sólo extracto de levadura (Ym). Los métodos para reducir tiempo de fermentación, tales como aumentar la temperatura de fermentación, cambiar el pH a alcalinas o ácidas y la adición de proteasas exógenas. El uso de enzimas comerciales está limitado por el costo y una reducción de la actividad en el alto contenido de NaCl. La Hidrólisis de proteínas durante la fermentación de salsa de pescado se realiza normalmente por la acción de proteasas endógenas y bacterianas del pescado.

Jin-Jin , *et al.*, (2007) realizaron un estudio de la salsa tradicional china “Yu Lu” para determinar composición química del proceso fermentativo, los microorganismos involucrados y los cambios sensoriales asociados. La salsa Yu-lu se hizo incubando mezclas de anchoas pequeñas y 30% de sal (sal peces, p/p) a 30°C ± 5°C durante 180 días, a continuación, aumento de la temperatura de incubación a 50°C durante 7 días. Cambios en el nitrógeno total soluble (TSN), péptidos solubles, TCA (ácido tricloro acético), nitrógeno de formaldehído, total, ácido volátil base nitrógeno total (TVB-N), nitrógeno trimetilamina (TMA-N), composición de aminoácidos, se observaron en los no enzimáticos. Recuentos en placa de índice y total cambio de color de Yu-lu. Es

producida por la fermentación de anchoas (o los pequeños peces marinos) que han sido pre acondicionados con sal a aproximadamente 1: 3 (sal: pescado, peso húmedo). La fermentación el resultado de la acción de las enzimas en el pescado y algunos microorganismos halo tolerantes y halófilos. La Hidrólisis proteica de pescado produce como resultante; aminoácidos libres, péptidos y amoníaco. La salsa Yu-lu contiene aminoácidos esenciales y muchas vitaminas y minerales (Lopetcharat, *et al.*, 2001). En presencia de altas concentraciones de sal, se controla el crecimiento de microorganismos patógenos y la sal da como resultado un aroma y sabor deseable. Su estudio pretendía investigar las propiedades químicas y sensoriales del proceso de fermentación de Yu-lu, especialmente durante los primeros 6 meses. El proceso de elaboración de Yu-lu, es igual que algunos procesos tradicionales, carece de evaluación de la calidad y control de calidad. El estudio mostró que en el proceso de producción de Yu-lu se mezclan los cultivos fermentativos. Esto es característico de muchos procesos tradicionales. Los resultados de la investigación de Yu-lu pueden también aplicarse a desarrollar la amplia variedad de condimentos con sabor a mariscos en un futuro muy próximo.

WeiXu, *et al.*, (2007) Preparó junto con sus colaboradores salsa a partir de calamar (cefalópodo), con bajas concentraciones de sal, usando tres diferentes técnicas de fabricación (A, B y C), con o sin el proceso de autólisis y la adición de la enzima sabor, koji soja, obtenida del frijol de soya. Con el fin de minimizar los problemas ambientales al reducir los desechos de cefalópodos y generando de paso un valor agregado al calamar. Los productos obtenidos a través de las diferentes técnicas son muy similares en calidad con la salsa de pescado obtenida por fermentación a 48°C en 30 días de proceso. El contenido de nitrógeno total soluble (TSN) se midió utilizando el método Kjedad, AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1999. En cada una de las tres salsa de pescado y fue expresada en g/100 ml. Se determinó el contenido de Nitrógeno Total Volátil (TVB-N) de cada método y para cada muestra

(triplicado) con el ensayo de micro difusión Conway con el método de Conway y Byrne, (Conway, E. J., y Byrne, A. 1936). Contenido de nitrógeno básico volátil se calcula a partir de volumen liberado y expresado en mg/100 ml. El contenido de sal (NaCl) se determinará según el método Volard, AOAC, 1990. (Association of official Analytical Chemists). Se determinó la actividad de la proteinasa con caseína (Merck, Alemania) como un sustrato. 1,0 ml de 2% caseína en tampón de fosfato (pH 7.2), fue incubado durante 5 minutos a 40°C, seguida de añadir 1,0 ml de la solución de la enzima. Determinándole a su filtrado la absorbancia, la cual fue se midió en 660 nm. Una unidad (U) se define como la cantidad de enzima que lanzó 1 equivalente de Ig de tirosina por minuto.

Las salsas se sometieron a análisis microbiológicos, para determinar su calidad, los recuentos viables totales fueron determinados por el método de placa pour, mediante el recuento por placa de Agar (PCA, Oxoid, CM463) que contiene 0,5% NaCl como medio. Los datos microbiológicos se transformaron en logaritmos del número de unidades formadoras de colonia (UFC/ml). Además se determinó la composición de aminoácidos libres con el analizador de aminoácidos (835 – 50 modelo aminoácido análisis aparato, Japón).

La evaluación sensorial fue realizada a partir del análisis descriptivo cuantitativo (QDA) para determinar las características sensoriales de las muestras de salsa de pescado. A estos resultados se les aplico el Análisis de la varianza (ANOVA) para establecer diferencias significativas entre los valores medios. Como conclusión WeiXu, *et al.*, (2007), expresa que el cambio del pH fue debido probablemente a la producción de ácidos y bases, al liberarse el nitrógeno básico Volatil (VBN) durante la fermentación. El contenido de ácidos totales en líquidos aumentó en todas las muestras durante la fermentación inicial de 5 días y allí después disminuyeron gradualmente. El contenido de sal observado en muestras de salsa de pescado A, B y C fueron inferiores a lo que generalmente

se encontró en salsa de pescado comercial (Mizutani, *et al.*, 1992). El bajo contenido en sal podría tener efectos favorables sobre el proceso de fermentación. Estos incluyen un aumento en la tasa de degradación de proteínas, aumentado su valor nutricional y una aceleración del proceso de fermentación. La activación de proteasas en pescados ha demostrado que depende en gran medida de la concentración de sal en el medio ambiente. Las salsas de pescado producidas en todos los tratamientos fueron probadas y no se encontró ningún sabor particularmente fuerte o desagradable. Lo cual indica que no se produjo deterioro evidente durante la fermentación de 30 días. Por lo tanto, las condiciones de fermentación con un control preciso de pH, temperatura, tiempo, cantidad de koji, cantidad de agua, etc., pueden realizarse y hay que seguir realizándolas para hacer más claridad en los resultados.

Hjalmarsson, *et al.*, (2006) trabajaron una salsa a partir del Capelán, (*Mallotus villosus*) que es un pez pelágico que se encuentran principalmente en los océanos Atlántico y Ártico. Se cosecha durante las temporadas, invierno y verano, en aguas islandesas. Las condiciones de reacción para procesamiento de la salsa fueron optimizadas con respecto a la temperatura, concentración de sal y tiempo de reacción, mediante una metodología de superficie de respuesta (RSM). Se realizaron optimizaciones de RSM, que van desde 5% al 30% de sal y a intervalos concretos de 0°C a 5°C a 65°C. La actividad autolítica fue estimada por la cantidad de líquido formado por la mezcla y el contenido de proteína con ácido tricloro acético por el método de Lowry. Para el capelán de verano las muestras fueron preparadas en condiciones optimizadas, mezclando Capelán con 10% de sal a 50°C hasta 270 días y hasta 360 días para el Capelán de invierno. Las muestras fueron recogidas a intervalos regulares y analizados por rendimiento de líquido, humedad, proteína, sólidos solubles, pH, color y aminoácidos contenidos. El contenido de proteína se determinó utilizando el método Kjeldahl para el capelán de verano, siendo su porcentaje de 2,03% después de 250 días de fermentación y dos veces más alto que la

salsa con Capelán de invierno. El pH y la humedad fueron inferiores en la salsa de Capelán de verano, pero superiores en la de Capelán invierno, se determinaron además sólidos solubles y la densidad. Se observó además que la formación de color marrón, fue muy rápida en la salsa de capelán de verano, pero muy lenta en la salsa de Capelán de invierno. El Capelán de verano puede ser utilizado entero y sin enzimas añadidas con éxito para la producción de salsas, mientras que el Capelán macho se ha utilizado principalmente para la producción de harina y aceite de pescado.

Dissaraphong, *et al.*, (2005) estudiaron la influencia de las condiciones de almacenamiento de las vísceras de atún antes de la fermentación sobre los cambios químicos, físicos y microbiológicos y de la salsa durante la fermentación. Los resultados basados en recuentos microbianos, de los productos de la degradación proteica, la bases volátiles totales (TVB-N) y contenido de trimetilamina (TMA), mostraron que las vísceras de atún almacenados a temperatura ambiente sufrieron un mayor deterioro que las mantenidas en hielo, especialmente al aumentar el tiempo de almacenamiento durante la fermentación. Como resultado, la salsa de pescado obtenida de las vísceras del atún almacenado a temperatura ambiente durante un tiempo más largo presenta el mayor contenido de trimetilamina (TMA) y de bases volátiles totales (TVB-N) así como la intensidad de browning de la salsa. Salsas producidas con vísceras de atún mantenidas a temperatura ambiente, presentan un menor contenido de histamina que las preparadas a partir de vísceras frescas o almacenadas en hielo. Por lo tanto, vísceras de atún almacenadas a temperatura ambiente hasta 8 horas, podrían utilizarse para la producción de salsa sin ningún efecto perjudicial sobre la calidad de la misma.

Gildberg, (2000) estudio el uso de subproductos de pescado, el capelán macho del Ártico y los intestinos de bacalao del Atlántico como materia prima para la producción de salsa de pescado con alto valor nutritivo para el consumo

humano. Al complementar el capelán picado, con los ciegos pilóricos de bacalao ricos en enzimas entre el 5 -10%, se obtuvo una buena recuperación de proteína de salsa de pescado (60%) después de 6 meses de almacenamiento. Siendo beneficioso el aporte enzimático intestinal. A pesar que las proteasas presentes en los ciegos pilóricos del bacalao son enzimas adaptadas al frío, una temperatura de almacenamiento de 26°C dio una mayor recuperación de salsa de pescado que aquel que fue almacenado a 21°C. La acidez inicial, pH 8 aceleró la disolución del tejido muscular y dio una mejor recuperación de salsa de pescado sin que afectara el pH del producto final. Adición de pequeñas cantidades de calcio no tuvieron efectos significativos sobre la actividad de recuperación o de la cantidad de proteasa en la fracción de salsa de pescado. Demostró que el uso de los ciegos pilóricos del bacalao es adecuado como un suplemento enzimático durante la fermentación de capelán Ártico macho, con un bajo contenido de enzimas digestivas. Las enzimas Peptonas tienen máxima actividad en condiciones alcalinas. Los resultados demuestran que una moderada alcalinización inicial acelera la disolución de tejidos, estabiliza las proteasas del ciego pilórico y mejora el rendimiento de proteína de la salsa de pescado sin afectar el pH del producto final. Basado en los resultados de análisis bioquímicos, así como del valor nutricional, también de los recuentos microbianos, indicó que los peces gambusia podrían ser utilizados con éxito para la producción de salsa de pescado, como valor añadido de los productos pesqueros.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar una salsa de pescado tipo nuoc mam a partir de músculo blanco, músculo rojo y ambos músculos de las especies tilapia (*Oreochromis niloticus*) y marlín (*Xiphias gladius* L)

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los parámetros de calidad de las especies utilizadas mediante el índice de calidad basada en deméritos y análisis fisicoquímicos.
- Evaluar la salsa de pescado a través de parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.
- Realizar perfil de Aminoácidos a la salsa

3. METODOLOGIA

3.1 ADQUISICIÓN DE LA MATERIA PRIMA Y RECEPCIÓN EN PLANTA.

Las especies que se utilizaron en la investigación fueron Tilapia (*Oreochromis niloticus*) y Marlín (*Xiphias gladius* L.) que se compraron en la Pesquera la Ballena Azul, que expende sus productos en el mercado de Bazurto. Utilizando para su transporte hielo y cavas isotérmicas. Una vez llegó la materia prima a la Planta, se lavó con agua clorada a 5 ppm y a temperatura entre 5 - 10 °C.

3.2 CONTROL DE CALIDAD

Se realizó con base en un análisis organoléptico para determinar el grado de frescura de las materias primas. Empleando para ello el esquema de evaluación de la calidad mediante deméritos de Larsen, *et al.*, (1992) de acuerdo a la tabla 3.

Tabla 3. Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos (Larsen et al., 1992)

Parámetro de la calidad	Característica	Puntuación (hielo/agua de mar)
Apariencia general	Piel	0 Brillante, resplandeciente
		1 Brillante
		2 Opaca
	Manchas de sangre (enrojecimiento) en opérculos	0 Ninguna
		1 Pequeños, 10-30%
		2 Grandes, 30-50%
	Dureza	3 Muy grandes, 50-100%
		0 Duro, en rigor mortis
		1 Elástico
		2 Firme
		3 Suave

	Ventre	0 Firme
		1 Suave
		2 Estallido de vientre
	Olor	0 Fresco, algas marinas/metálico
		1 Neutral
		2 A humedad/Mohoso/ácido
Ojos	Claridad	3 Carne pasada/rancia
		0 Claros
		1 Opacos
	Forma	0 Normal
		1 Planos
		2 Hundidos
Branquias	Color	0 Rojo característico
		1 Pálidas, descoloridas
	Olor	0 Fresco, algas marinas/metálico
		1 Neutral
		2 Dulce/ligeramente rancio
		3 Hedor agrio/pasado, rancio
Suma de la puntuación		(Mínimo 0 y máximo 20)

En la que de 0-3 es pescado fresco; de 4-6 moderadamente fresco; y de 7 en adelante deterioro.

3.3 PESAJE

Se llevó a cabo utilizando una balanza electrónica, pesando las especies enteras (sin vísceras) para llevar un control sobre el rendimiento de las materias primas a través de todo el proceso, y determinar el costo de producción del alimento terminado.

3.4 LIMPIEZA

Con éste, término se agrupan las operaciones de eviscerado, descabezado y desuello. Si el producto no se va a elaborar de inmediato, las especies se evisceran, se lavan y finalmente se congelan (-18°C) para su posterior procesamiento.

3.5 MOLIENDA

Se realizó en un molino eléctrico para disminuir el tamaño de la carne.

3.6 DOSIFICACIÓN DE INGREDIENTES

Después de ensayar diferentes formulaciones se seleccionó para darle aplicación con las especies pesqueras utilizadas en el estudio, las que se presenta en la Tabla 4, donde las cifras hacen relación a la cantidad de pulpa de pescado y sal.

Para músculo blanco y ambos músculos las relaciones trabajadas fueron de T₁ 1:0.50; T₂ 1:0.46; T₃ 1:0.42 y T₄ 1:0.39. En el caso del músculo rojo las relaciones fueron de T₁ 1:0.50; T₂ 1:0.46; T₃ 1:0.42 y T₄ 1:0.375

Tabla 4. Formulación para la Salsa de Pescado

Tratamientos	Músculo Blanco	Músculo Rojo	Ambos Músculos
T ₁	700:350	600:300	700:350
T ₂	700:325	600:275	700:325
T ₃	700:300	600:250	700:300
T ₄	700:275	600:225	700:275

3.7 MADURACIÓN

En esta operación se dejó en reposo la mezcla de pescado: sal a la temperatura ambiente de la ciudad de Cartagena (T^oprom 32°C y Hr 78%), durante un tiempo no menor a 5 meses y no mayor de 10 meses. Esta operación se llevó a cabo en condiciones anaerobias en tanques plásticos cerrados herméticamente.

3.8 FILTRADO

Se realizó para eliminar cualquier sustancia indeseable, tales como: espinas restos de piel, escamas o cristales de sal.

3.9 CONTROL DE CALIDAD

Se realizó tomando muestras al azar de cada una de las salsas para efectuar los análisis Microbiológicos, Bromatológicos y Organolépticos.

3.10 EMPAQUE

El producto final se presentó en frascos de vidrio por 250 cc.; que es la presentación habitual de esta salsa. La salsa de pescado se envaso en frasco de vidrio marca Peldar Ref. (3062), con capacidad de 250 cc..

3.11 ALMACENAMIENTO

Dadas las características del producto elaborado, el almacenamiento se hizo a temperatura ambiente con el objeto de evaluar la vida útil de cada una de las salsas.

Figura 4. Diagrama de flujo para la elaboración de salsas de pescado



3.12 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

3.12.1 pH. Se determinó usando un potenciómetro (F-72 MEDIDOR DE MESA DE PH /ORP/ION MARCA HORIBA) por inmersión del electrodo en la muestra, previa calibración con soluciones tampón de pH 4 y 7 a 28°C (método AOAC 981.12/90), adaptado por Bernal (1993). Para esto el pH se evaluó tomando una muestra entre 10 y 15 cc de salsa.

3.12.2 Sal. El contenido de sal en las muestras fue medido por el método de AOAC (2000). O por la NTC 1322.

3.13 CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA

Se determinó el contenido de cenizas según el método 942.05/90 de la AOAC, la grasa según el método 920.39/95 de la AOAC, proteínas según el método 955.04/90 de la AOAC.

Determinación de BVT-N

Bases Volátiles Nitrogenadas BVT-N se realizó siguiendo la metodología propuesta para la determinación de proteínas por la AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (ICONTEC, 2004), la cual es avalada por la Norma Técnica Colombiana NTC 1556, usando un destilador Büchi (BÜCHI Labortechnik, Meierseggstrasse Postfach, Switzerland).

Determinación del perfil de aminoácidos

El perfil de aminoácidos fue realizado por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) (Marca: WATERS Modelo: ALLIANCE E 2695), por derivatización con ortoftaldehído con lectura utilizando detector de fluorescencia. El método utilizado corresponde al descrito por White *et al.*, (1986).

3.14 CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA.

Se realizaron las valoraciones de Coliformes totales (NTC 4458); Mohos y Levaduras (NTC 4132); Aerobios mesofilos (NTC 4519); Stafilococos Coagulasa (NTC 4779) y *Listeria monocytogenes* (NTC 4666).

3.15 CARACTERIZACIÓN SENSORIAL.

Se utilizó un perfil sensorial de aproximación multidimensional basado en las Normas Técnicas Colombianas NTC 3501, 3925 y 3932, donde se evidenciarán posibles cambios de sabor, color y aceptación global, de las diferentes salsas.

La valoración de los productos se realizó con un panel no entrenado de 40 personas, comparándolos con una salsa de pescado comercial.

3.16 ANÁLISIS DE DATOS.

El análisis de varianza (ANOVA), las diferencias significativas y las correlaciones se llevaron a cabo en los datos experimentales adoptando el método de diferencia mínima significativa (LSD) y correlación de Pearson, respectivamente. El nivel de significancia fue menor o igual a un 5%, utilizando para ello el paquete estadístico SPSS versión 15.

Estudio de almacenamiento: Las salsas obtenidas de las diferentes formulaciones, fueron evaluadas a una temperatura de almacenamiento de 28°C y tiempos de 0, 30, 60, 90 y 120 días. Las variables de respuestas evaluadas fueron las propiedades fisicoquímicas, bromatológicas, microbiológicas y sensoriales.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD

La evaluación de los ejemplares de Tilapia negra (*Oreochromis niloticus*) y Marlin (*Xiphias gladius* L.) comprados en la pescadería, La Ballena Azul del mercado de Bazurto de Cartagena, se realizó mediante métodos sensoriales.

Métodos sensoriales: El examen sensorial está basado en la determinación de la apariencia, del aroma y de la textura del pescado. Esto se hizo para categorizar el pescado, para ello se observó y determino el aspecto de la piel, apariencia del ojo, el color de las branquias, la adherencia de la carne a la espina, el color a lo largo de la espina y el aspecto de los órganos en el peritoneo (fresco está pegado). Las Tablas 5 y 6 muestran el análisis de frescura basado en la evaluación de deméritos de Larsen *et al.*, 1992

Tabla 5. Evaluación de la calidad de la Tilapia negra (*Oreochromis niloticus*) mediante deméritos (Larsen *et al.*, 1992)

Parámetro de la calidad	Característica	Refrigerado con hielo
Apariencia general	Piel	1 Brillante, resplandeciente
	Manchas de sangre (enrojecimiento) en opérculos	0 Pequeños, 10-30%
	Dureza	0 Duro, en rigor mortis
	Vientre	0 Firme
	Olor	1 Neutral
Ojos	Claridad	0 Claros
	Forma	0 Normal
Branquias	Color	0 Rojo característico
	Olor	0 Algas
Suma de la puntuación		2, correspondiente a pescado fresco

El Marlín fue comprado entero que es la presentación comercial del negocio, para ello se tuvo en cuenta la dureza, el color y el olor característicos de esta especie.

Tabla 6. Evaluación de la calidad del Marlín (*Xiphias gladius* L.) mediante deméritos (Larsen et al., 1992)

Parámetro de la calidad	Característica	Refrigerado con hielo
Apariencia general	Piel	1 Brillante, resplandeciente
	Manchas de sangre (enrojecimiento) en opérculos	0 Pequeños, 10-30%
	Dureza	0 Duro, en rigor mortis
	Vientre	0 Firme
	Olor	1 Neutral
Ojos	Claridad	0 Claros
	Forma	0 Normal
Branquias	Color	1 Rojo característico
	Olor	0 Algas
Suma de la puntuación		3, correspondiente a pescado fresco

4.2 EVALUACIÓN DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS

Los resultados muestran un valor promedio en diez lecturas de 6.7 para tilapia y de 6.6 para las postas de marlín, como lo muestra la Tabla 7 y 8.

Tabla 7. Valores encontrados para pH en Tilapia negra (*Oreochromis niloticus*)

MUESTRA	pH Inicial	pH Después de 1 hora	pH Promedio
Tilapia negra	6.6	6.8	6.7
Tilapia negra	6.7	6.7	6.7
Tilapia negra	6.9	6.4	6.7
Tilapia negra	6.5	6.9	6.7
Tilapia negra	6.6	6.8	6.7
Tilapia negra	6.7	6.9	6.8
Tilapia negra	6.6	6.6	6.6
Tilapia negra	6.6	7.0	6.8
Tilapia negra	6.7	6.7	6.7
Tilapia negra	6.5	6.7	6.6
PROMEDIO	6.8	6.6	6.70

Tabla 8. Valores encontrados para pH en Marlín (*Xiphias gladius L.*)

MUESTRA	pH Inicial	pH Después de 1 hora	pH Promedio
Marlín	6.7	6.9	6.8
Marlín	6.7	6.7	6.7
Marlín	6.8	6.4	6.7
Marlín	6.6	6.8	6.6
Marlín	6.6	6.8	6.7
Marlín	6.5	6.9	6.7
Marlín	6.7	6.8	6.8
Marlín	6.6	6.8	6.8
Marlín	6.7	6.7	6.7
Marlín	6.8	6.8	6.8
PROMEDIO	6.8	6.6	6.74

4.3 RENDIMIENTO DE LAS SALSAS

Fueron utilizados 1.050 kg de musculo tilapia molido y 0.950 kg de musculo de marlín molido (Tabla 9), de acuerdo a las siguientes formulaciones:

Tabla 9. Cantidad de Músculo molido por tratamiento

Tratamientos	Músculo Blanco	Músculo Rojo	Ambos Músculos
T ₁	700:350	600:300	700:350
T ₂	700:325	600:275	700:325
T ₃	700:300	600:250	700:300
T ₄	700:275	600:225	700:275

Requiriéndose en total 4.2 kg de musculo de tilapia y de 3.8 de musculo de marlín. Además se empleó 3.55 kg de sal común. Después del proceso de fermentación (6 meses) en condiciones anaerobias de cada tratamiento las densidades se muestran en la tabla 10.

Tabla 10. Densidad de las Salsas

Tratamientos	Músculo Blanco (g/ml)	Músculo Rojo (g/ml)	Ambos Músculos (g/ml)
T ₁	1.3025	1.3021	1.3043
T ₂	1.3042	1.3032	1.3045
T ₃	1.3033	1.3041	1.3062
T ₄	1.3014	1.3023	1.3051

De lo anterior se puede concluir que el nivel de sal en cada uno de los tratamientos incidió en la densidad final de las salsas, además que hubo presencia de algunos cristales de sal al final de la fermentación. La presencia de estos cristales es consecuencia de la acumulación de un aminoácido, la tiroxina, como resultado de un fenómeno de proteólisis intensivo (Charrasquiél y Pérez, 2006).

Ésta puede consumirse porque no presenta riesgos para la salud humana, en algunos países estos cristales son signos de alta calidad de las salsas y desarrollan programas de publicidad basados en estos cristales.

Valores similares son reportados por Charrasquiél y Pérez (2006), quienes elaboraron una salsa de pescado tipo nuoc-mam partir de musculo de sable (*Trichiurus lepturus*) y de jurel (*Trachurus pictaratus murphyi*) reportando datos de densidad de 1.3007 para salsa de sable y de 1.3015 para salsa de jurel.

Tabla 11. Rendimientos en Peso y Volumen de cada una de los Tratamientos

Tratamientos	Músculo Blanco		Músculo Rojo		Ambos Músculos	
	V (ml)	P (g)	V (ml)	P (g)	V (ml)	P (g)
T ₁	346	450.665	285	371.098	332	433.027
T ₂	323	421.256	269	350.560	314	444.834
T ₃	298	388.383	251	327.329	293	382.716
T ₄	284	396.157	240	312.552	276	360.207

Se observó que la cantidad de salsa para las dos especies y la combinación de ambas esta en relación directa con la cantidad de sal utilizada, a mayor concentración de sal mayor volumen de extracción (Tabla 11). Las composiciones bioquímicas de algunas salsas de pescado han sido evaluadas para determinar su rendimiento (Yoshida, *et al*, 1998). Aunque los resultados son variados, cada salsa de pescado se caracteriza por un alto contenido de sal (Yoshida, 1998).

4.4 ANÁLISIS PROXIMAL

El propósito principal de un análisis proximal es determinar, en un alimento, el contenido de humedad, grasa, proteína y cenizas. Estos procedimientos químicos revelan también el valor nutritivo del producto y como puede ser combinado con otras materias primas para alcanzar el nivel deseado de los distintos componentes de una dieta. Es también un excelente procedimiento para realizar control de calidad y determinar si los productos terminados alcanzan los estándares establecidos por los organismos de control, los productores y consumidores.

Las composiciones bioquímicas de algunas salsas de pescado ya se han evaluado (Yoshida, 1998; Lowe, 2009b;. Tsuji *et al*, 1994; Ijong y Ohta, 1995).

Aunque los perfiles son variados, cada salsa de pescado se caracteriza por un alto contenido de sal y una dominante concentración de ácido glutámico libre que llegó a más de 1.000 mg / 100 ml en algunas salsas de pescado japonés (Yoshida, 1998).

En resumen los contenidos de aminoácidos libres son altos en las salsas de peces, comparables a otros condimentos, como salsas de soja, salsa inglesa, el queso parmesano (Sinesio *et al.*, 2009) o cubos de caldo (Yoshida, 1998).

En las tablas 12,14 y 16 se observan los resultados del análisis realizado al producto final. Las tablas 13, 15 y 17 contienen los porcentajes de sal y el pH, respetivamente.

Tabla 12. Resultado del análisis proximal de salsa de pescado a partir de musculo blanco

MUESTRA	PROTEÍNA	GRASAS	HUMEDAD	CENIZAS
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₁	26.452±0,13	2.632±0,13	67.332±0,17	5,438±0,06
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₂	26,431±0,11	2..629±0,14	67.376±0,12	5,433±0,11
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₃	26,412±0,13	2.663±0,12	67.462±0,10	5,450±0,14
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₄	26,401±0,15	2.660±0,10	67.578±0,09	5,473±0,15

Tabla 13. Porcentaje de sal y pH, salsa de pescado a partir de musculo blanco

MUESTRA	SAL	pH
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₁	28.4	7,01
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₂	28.0	6,12
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₃	28.5	7,05
Salsa de Pescado a partir de Músculo Blanco, Tratamiento₄	28.1	6,81

Tabla 14. Resultado del análisis proximal de salsa de pescado a partir de musculo rojo

MUESTRA	PROTEÍNA	GRASAS	HUMEDAD	CENIZAS
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₁	23.145±0,11	3.467±0,12	68.871±0,15	5.648±0,11
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₂	22.956±0,14	3.291±0,11	68.647±0,12	5.587±0,14
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₃	22.745±0,16	3.280±0,13	68.,453±0,09	5.564±0,08
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₄	22.274±0,14	3.162±0,11	68.285±0,08	5.601±0,07

Tabla 15. Porcentaje de sal y pH, salsa de pescado a partir de musculo rojo.

MUESTRA	SAL	pH
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₁	30.0	6,56
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₂	30.1	6,50
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₃	29.9	6,21
Salsa de Pescado a partir de Músculo Rojo, Tratamiento₄	31.8	7,12

Tabla16. Resultado del análisis proximal de salsa de pescado a partir ambos músculos.

MUESTRA	PROTEÍNA	GRASAS	HUMEDAD	CENIZAS
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies Tratamiento₁	24.781±0,13	2.879±0,12	67.856±0,16	1,438±0,09
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies Tratamiento₂	24.733±0,11	2.821±0,14	67.801±0,11	1,433±0,13
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies Tratamiento₃	24.697±0,16	2.793±0,11	67.784±0,07	1,440±0,16
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies Tratamiento₄	24.686±0,12	2.791±0,10	67.735±0,09	1,436±0,15

Tabla 17. Porcentaje de sal y pH, salsa de pescado a partir de ambos músculos.

MUESTRA	SAL	pH
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies, Tratamiento₁	29.0	6,59
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies, Tratamiento₂	29.1	6,04
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies, Tratamiento₃	28.9	6,66
Salsa de Pescado a partir de Músculo de las dos especies, Tratamiento₄	28.9	7,24

El rango del contenido de proteína de pescado fermentado esta alrededor del 22% a casi el 26%, dependiendo del contenido de agua. Esto hace que el producto sea una buena fuente de proteína animal.

Por lo tanto, si los productos fermentados son consumidos en gran escala como el pescado, como alimento en la dieta, hacen una importante contribución al total de la ingesta de proteínas. Sin embargo, cuando sólo pequeñas cantidades de pescado se utilizan como condimento para preparar salsas, su contribución es de menor importancia (El Sheikha, 2014). Por lo tanto, la salsa de pescado es considerado como una fuente importante de proteínas alimentarias y de aminoácidos, y se ha convertido en una necesidad en los hogares de los países del Sudeste Asiático (Sanceda *et al.*, 1996).

En la tabla 12 y 16 se observa que las salsas que presentaron mejor comportamiento con relación al análisis proximal fueron las obtenidas a partir de músculo blanco, seguidas de las de ambas especies y los niveles más bajos se presentaron para músculo rojo, el tratamiento que presentó el mayor valor de proteína fue el tratamiento 1 para ambos casos con valores de 26.452% y 24.781%, seguidos del tratamiento 2 con un 26.431% y 24.573%, sin diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Se encontró que el valor de pH de la salsa de pescado tiende a aumentar durante la fermentación, independientemente en todas las muestras, encontrándose diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$). El cambio de pH fue probablemente debido a los ácidos producidos y a las VBN alcalinas durante la fermentación. Las concentraciones mínimas y máximas de NaCl en todas las muestras analizadas fueron 28.0 y 31.8%, respectivamente; con una media general del 29.225%. No se observó diferencia significativa en los contenidos de sal entre los diferentes tratamientos ($p > 0,05$). Las salsas de pescado tienen típicamente altas concentraciones de sal y en consecuencia no pueden ser consumidas en grandes cantidades. Una salsa tradicional coreana de mariscos fermentados (Myeolchijeot) tiene generalmente de 15 a 25% NaCl (Mah y Hwang, 2009), las salsa de pescado Nukazuke contiene 9.1 a 16.5% NaCl (Kuda *et al.*, 2007). Este alto nivel de NaCl es probable que tenga una

influencia pronunciada en el crecimiento microbiano y la tasa de fermentación, y por lo tanto en la calidad sensorial y la seguridad del producto (Paludan-Muller *et al.*, 2002).

También se observó que la concentración de sal era relativamente constante durante la fermentación de la salsa de pescado. Dissaraphong *et al.* (2006) y Yongsawatdigul *et al.* (2007) también encontraron que no había cambios en la concentración de sal, en la salsa de pescado durante la fermentación. Estos resultados están de acuerdo con datos anteriormente informados de productos pesqueros fermentados en Japón, China y los países del Sudeste Asiático (Fujii *et al.*, 1980; Ijong y Ohta, 1996; Lopetcharat y Park, 2002; Mizutani *et al.*, 1992; Ren *et al.*, 1993).

La alta concentración de cloruro de sodio (NaCl) influye en el metabolismo bacteriano y genera el cambio progresivo en la membrana donde se produce la descarboxilación de las enzimas. Las concentraciones de 3,5 y 5,5% de NaCl pueden inhibir la formación de histamina (Koehler y Henry, 1986 citado Suzzi; Gardini, 2003).

Por lo tanto, en la elaboración las condiciones de fermentación, tales como pH, temperatura y tiempo necesitan un control preciso. Estos factores están actualmente siendo investigados para lograr una salsa de pescado bajo en sal, un producto de calidad comercial.

La hidrólisis de la proteína es inducida por las enzimas proteolíticas de los tejidos de los pescados, además de las enzimas proteolíticas producidas por las bacterias halófilas (Dissaraphong *et al.*, 2007).

La Tabla 18. Presenta los valores encontrados para aminoácidos a partir de salsa para musculo blanco

Tabla 18. Perfil de aminoácidos de la salsa tipo nuoc-mam a partir de musculo blanco

Aminoácidos	Cantidad a 180 días de fermentación (mg/100 g)
Aspartate	96.57
Glutamate	425.16
Serine	384.23
Glycine	119.47
Histidine	368.21
Arginine	243.52
Threonine	227.36
Alanine	341.62
Tyrosine	112.84
Valine	389.75
Methionine	216.46
Cysteine	12.57
Isoleucine	267.21
Leucine	443.59
Tryptophan	210.98
Phenylalanine	200.58
Lysine	498.79
Total	4558.91

Las salsas de pescado contienen aproximadamente 20 g / l de nitrógeno; 80% de los cuales en forma de aminoácidos. Los aminoácidos se encuentran en altas concentraciones en el presente estudio y en cierto modo son similares a los encontrados en otros estudios (Park *et al.*, 2001; Yongsawatdigul *et al.*, 2007).

Park *et al.*, (2001) reveló que los aminoácidos en las salsas de pescado de los países del Sudeste y Este de Asia que predominaron son: histidina, lisina, arginina, aspartato, glutamato, alanina, valina y tirosina. Llegaron a la conclusión de que el perfil de aminoácidos en las salsas de pescado dependía del pescado utilizado como materia prima. Los aminoácidos libres son sustancias presentes de forma natural en los alimentos y determinan el sabor, sabor y la calidad de diversos productos alimenticios (Sinesio *et al.*, 2009; Kabelová *et al.*, 2008; Barylko-Pikielna y Kostyra, 2007). El ácido glutámico

libre es la molécula de señalización del gusto umami y el ingrediente principal en condimentos salados modernos (Yamaguchi y Ninomiya, 1998; Bellisle, 2008).

Kim *et al.*, (2003) obtuvieron resultados similares. Ellos encontraron que después de 3 meses los principales aminoácidos de una salsa salada y fermentada de camarón eran ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, leucina y lisina. Además, la taurina puede ser considerado como un importante aminoácido en la salsa salada y fermentada de camarón en Filipinas (Peralta *et al.*, 2005).

El característico "sabor" del producto obtenido es esencialmente constituido por una mezcla de aminas, ácidos orgánicos y aminoácidos. Las aminas aparecerán en el producto final, pero algunos microorganismos tienen la capacidad de descarboxilar los aminoácidos. El amoníaco está presente durante todo el proceso, con poca variación y, junto con la trimetilamina y el nitrógeno volátil total. Además, la relación entre la concentración de aminas y aminoácidos se usa como un indicador de calidad de los líquidos fermentados. Una alta tasa de nitrógeno volátil total indica deterioro de origen bacteriano y un producto de mala calidad nutricional y sensorial. El exceso de aroma a amoníaco no es deseable, y la presencia de componentes de azufre tales como sulfuro de hidrógeno o metilmercaptanos, si están presentes, incluso en pequeñas cantidades, pueden promover el aroma característico del pescado fermentado (Oetterer, 2005).

4.5 BASES VOLATILES NITROGENADAS

Los valores para **BVT-N** son presentados en la tabla 19. Los niveles de **BVT-N** en todas las muestras variaron de 215 a 248 mg/100 g. Como se muestra las

BVT-N, como un indicador de la fermentación en un alimento rico en proteína como en mahyaveh (la media global es de 3,098 mg/kg).

Los altos niveles de **BVT-N** (1080 a 1850 mg / kg) se han reportado para la sardina, el bacalao y el pez globo Nukazuke, mientras que se observaron bajos niveles de **BVT-N** (410 a 760 mg/kg) en muestras de caballa-Nukazuke (Kuda *et al.*, 2007).

Killine *et al.* (2006) presentaron valores de **BVT-N** inferiores a los del presente trabajo, llegando a 210,58 mg de N/100 g de muestra al final del período de fermentación. Sin embargo, el comportamiento de este parámetro era el mismo, la obtención de valores crece con el progreso del período de fermentación.

De ahí que los valores encontrados en la salsa tipo nuoc-mam se encuentran dentro de estos rangos.

Tabla 19. Valores de BVT-N de la salsa tipo nuoc-mam

Tratamientos	Músculo Blanco BVT-N (mg/100g)	Músculo Rojo BVT-N (mg/100g)	Ambos Músculos BVT-N (mg/100g)
T ₁	246	221	243
T ₂	248	228	239
T ₃	239	215	241
T ₄	241	219	236

4.4 PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

Se analizaron muestras de cada formulación después de seis meses de fermentación del producto realizando controles por duplicado, siguiendo la metodología establecida por las normas microbiológicas colombianas (INVIMA y Ministerio de Salud de Colombia). En las tablas 20, 21 y 22 se muestran los

resultados microbiológicos de la salsa tipo nuoc-mam, con valores por debajo de los de referencia.

Tabla 20. Resultados microbiológicos de salsa tipo nuoc-mam a partir de músculo blanco

Análisis	Muestra	Resultados Obtenidos	Valor de Referencia	Valoración de Resultados
Aerobios Mesofilos ufc/ml	Muestra 1 (700 : 350)	10	<20000	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	30	<20000	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	10	<20000	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	20	<20000	Ausencia
Coliformes Totales ufc/ml	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
Coliformes Fecales ufc/ml	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
Estafilococos Coagulasa ufc/ml	Muestra 1 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
Mohos y Levaduras ufc/ml	Muestra 1 (700 : 350)	2	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	2	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	3	<10	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	3	<10	Ausencia
Listeria Monocytogenes ufc/ml	Muestra 1 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 1 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Tabla 21. Resultados microbiológicos de salsa tipo nuoc-mam a partir de músculo rojo

Análisis	Muestra	Resultados Obtenidos	Valor de Referencia	Valoración de Resultados
Aerobios Mesofilos ufc/ml	Muestra 2 (700 : 350)	60	<20000	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	50	<20000	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	60	<20000	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	60	<20000	Ausencia
Coliformes Totales ufc/ml	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
Coliformes Fecales ufc/ml	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
Estafilococos Coagulasa ufc/ml	Muestra 2 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
Mohos y Levaduras ufc/ml	Muestra 2 (700 : 350)	5	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	5	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	7	<10	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	7	<10	Ausencia
Listeria Monocytogenes ufc/ml	Muestra 2 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 2 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Tabla 13. Resultados microbiológicos de salsa tipo nuoc-mam a partir de los dos músculos

Análisis	Muestra	Resultados Obtenidos	Valor de Referencia	Valoración de Resultados
Aerobios Mesofilos ufc/ml	Muestra 3 (700 : 350)	20	<20000	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	40	<20000	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	40	<20000	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	40	<20000	Ausencia
Coliformes Totales ufc/ml	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
Coliformes Fecales ufc/ml	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<10	Ausencia
Estafilococos Coagulasa ufc/ml	Muestra 3 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	0	<100	Ausencia
Mohos y Levaduras ufc/ml	Muestra 3 (700 : 350)	5	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	2	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	3	<10	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	5	<10	Ausencia
Listeria Monocytogenes ufc/ml	Muestra 3 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia
	Muestra 3 (700 : 350)	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Los microorganismos necesitan agua en una forma disponible para el crecimiento y el metabolismo. Los halófilos crecen óptimamente a altas concentraciones de sal, pero son incapaces de crecer en medios sin sal. Los organismos halotolerantes crecen mejor y sin cantidades significativas de sal, pero también pueden crecer en concentraciones más altas que la de agua de mar.

En general, los recuentos microbianos disminuyen continuamente cuando aumentó el tiempo de fermentación, posiblemente causado por las altas concentraciones de sal.

Lopetcharat y Park (2002), informan después de 5 meses, las bacterias halófilas y el recuento de bacterias proteolíticas, disminuyó gradualmente durante la fermentación y fueron inferiores a 1 log CFU/ml después de 4 y 5 meses, respectivamente. Estos microorganismos podrían contribuir a la hidrólisis de proteínas así como al desarrollo del sabor de la salsa de pescado obtenida.

Con el desarrollo de la fermentación, los recuentos microbiológicos disminuyeron gradualmente. Se podría creer que los microorganismos tienen acción sobre la degradación de los pescados, pero después de 5 - 6 meses, este grupo de microorganismos desapareció, dejando sólo los grupos halotolerantes y halófilas que cumplen un papel importante en la fermentación. El cambio gradual de los componentes del pescado causados por las enzimas degradantes, juegan un papel importante en la determinación del grupo de bacterias dominantes presentes (Berna *et al.*, 2005). Se ha informado de que estos halófilos y bacterias halotolerantes en su mayoría eran LAB y levaduras (Paludan- Muller *et al.*, 2002).

4.5 EVALUACION SENSORIAL

La tabla 23, 24 y 25 muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial, en función de 5 atributos sensoriales. Se utilizó un panel no entrenado de 40 personas que fueron seleccionadas como consumidores potenciales de este tipo de producto. La evaluación sensorial se hizo teniendo en cuenta los atributos característicos de este tipo de salsa como apariencia, sabor, olor y color correspondiente a los cuatro tratamientos a través de una escala hedónica de 5 puntos, con los siguientes descriptores:

DESCRIPTORES	PUNTOS
Me gusta mucho	1
Me gusta poco	2
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta poco	4
Me disgusta mucho	5

Tabla 14. Resultados de la evaluación sensorial de salsa de músculo blanco

Muestra	Apariencia	Sabor	Olor	Color
T ₁	2,93±0.12 ^a	2,76±0.15 ^a	2,65±0.18 ^a	2,05±0,25 ^a
T ₂	2.90±0.09 ^a	2,70±0.23 ^b	2,61±0,21 ^a	2,07±0,17 ^a
T ₃	2.88±0.14 ^a	2,59±0.17 ^c	2,68±0,13 ^a	2,04±0,20 ^a
T ₄	2.80±0.21 ^b	2,46±0.08 ^d	2,66±0,18 ^a	2,09±0,10 ^a

Letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tabla 24. Resultados de la evaluación sensorial de salsa de músculo rojo

Muestra	Apariencia	Sabor	Olor	Color
T ₁	2,81±0.16 ^a	2,58±0.10 ^a	2,77±0.11 ^a	2,14±0,12 ^a
T ₂	2.86±0.15 ^a	2,47±0.13 ^b	2,76±0,15 ^a	2,11±0,07 ^a
T ₃	2.83±0.19 ^a	2,40±0.21 ^c	2,75±0,19 ^a	2,16±0,09 ^a
T ₄	2.73±0.14 ^b	2,32±0.12 ^d	2,74±0,20 ^a	2,14±0,16 ^a

Letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Tabla 25. Resultados de la evaluación sensorial de salsa de ambos músculos

Muestra	Apariencia	Sabor	Olor	Color
T ₁	2,74±0.06 ^a	2,40±0.13 ^a	2,64±0.20 ^a	1,93±0,23 ^a
T ₂	2.75±0.23 ^a	2,32±0.19 ^b	2,67±0,25 ^a	1,96±0,21 ^a
T ₃	2.72±0.11 ^a	2,23±0.22 ^c	2,63±0,14 ^a	1,94±0,16 ^a
T ₄	2.80±0.19 ^b	2,15±0.27 ^d	2,66±0,18 ^a	1,97±0,09 ^a

Letras diferentes en columnas presentan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Realizado el análisis de varianza con un factor, se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en los atributos sensoriales de apariencia y de sabor, observándose que la muestras de los tratamientos T₁ y T₂ mostraron los mejores resultados sensoriales.

Charrasquiél & Pérez (2006) reportan resultados similares donde existe una marcada preferencia por la salsa de pescado elaborada con musculo blanco para los atributos de color, olor y sabor.

CONCLUSIONES

Las salsas que presentaron mejor comportamiento con relación al análisis proximal fueron las obtenidas a partir de músculo blanco, seguidas de las de ambas especies y los niveles más bajos se presentaron para músculo rojo, los mayores valores de proteína fueron para el tratamiento 1 en ambos casos con valores de 26.452% y 24.781%, seguidos del tratamiento 2 con un 26.431% y 24.573%.

La combinación de un pH bajo, ácidos orgánicos y la sal es el principal factor de preservación de productos pesqueros fermentados.

En conclusión, se encontró que las altas concentraciones de sal (entre 37.5 y 50%) retrasan o inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos en la salsa. Y estos niveles de sal podrían ser recomendados en la fermentación de otros productos pesqueros.

Los resultados microbianos de las muestras de salsa de pescado nuoc-mam no presentaron diferencias estadísticamente significativas debido a las altas concentraciones de sal presentes en ella, que inhiben o retardan el crecimiento de microorganismos.

Con relación a la evaluación sensorial los tratamientos 1 y 2 fueron los de mejor aceptación para los atributos de apariencia, color, olor y sabor.

El perfil de Aminoácidos muestra que la Lisina, Leucina, Valina, Alanina, Histidina, serina y Glutamato son los predominantes en la salsa de pescado tipo

nuoc-mam. Además los valores de BVT-N (231.5 mg/100g en promedio) son un indicador de un alimento rico en proteínas.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar pruebas con menor contenido de sal, para evaluar la aparición de aminos biogénicos y la estabilidad microbiológica de la salsa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, 1990. Method nr. 937.09: salt (Chlorine as Sodium Chloride) in seafood. Volumetric method. AOAC Official Methods of Analysis, 15 edn. AOAC, Arlington, V

AOAC, 1999. In K. Helrich (Ed.), Official Methods of Analysis (15th ed.). Washington, DC: Association of official Analytical Chemists

Adams, M.R., 1986. Fermented fish products. In: Adams, M.R (Ed.), Micro-Organisms in the Production of Food, vol. 23. Elsevier, amsterdam, pp. 179–193.

Aryanta, R. W., et, al. 1991. The occurrence and growth of microorganisms during the fermentation of fish sausage. International Journal of Food Microbiology, 13, 143–155.

Barylko-Pikielna, N., Kostyra, E., 2007. Sensory interaction of umami substances with model food matrices and its hedonic effect. Food Quality and Preference 18, 751–758.

Beddows C G, Ardeshir AG, (1979). The production of soluble fish protein solution for use in fish sauce manufacture. I. The use of added enzyme. J Food Technol; 14:603–12.

Beddows, C. G., Ismail, M., & Steinkraus, K. H. (1979). The use of biomelain in the investigation of fermentation. Journal of the Science of Food and Agriculture, 11, 379–388.

Beddows, CG. 1985. Pescados fermentados y productos pesqueros. En Microbiología de los alimentos fermentados vol2. Editado por Madera, BJB, ElsevierAppliedScience. Londres. p.1-39.

Bellisle, F., 2008. Experimental studies of food choices and palatability responses in European subjects exposed to the umami taste. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition 17S, 279–376.

Berna, K., Sukran, C., & Sebnem, T. (2005). Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce process. European Food Research and Technology, 222, 604–613.

Brillantes, S. (1999). Histamine in fish sauce-health and safety considerations. INFOFISH International, 4, 51–56.

Brillantes, S., & Samsorn, W. (2001). Determination of histamine in fish sauce from Thailand using a solid phase extraction and high-performance liquid chromatography. Fisheries Science, 67, 1163–1168.

Brillantes, S., Panknoi, S., & Totakien, A. (2002). Histamine formation in fish sauce production. Journal of Food Science, 67, 2090–2094.

Castello A. M., 2001. Estudio de la calidad microbiológica de los pescados frescos de exportación. Tesis previa la obtención del título de doctor en química y farmacia. facultad de ciencias químicas. Universidad de Guayaquil. Guayaquil-Ecuador.

Castillo, C, L. F. (2001) *Tilapia Roja 2001: Una evolución de 20 años de la incertidumbre al éxito doce años después*. Cali- Colombia: 69pp. Artículo de Internet En : www.ag.arizona.edu/azaqua/ista/edited_tedpapers/south%20A

Catharina, Y. W., Keshun, L., & Huang, Y. W. (1999). Traditional oriental seafood products. In *Asian foods science & technology* (pp. 262–265). USA: Technomic Publishing. Co. Inc

Conway, E. J., & Byrne, A. (1936). An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances I. The microdetermination of ammonia. *Journal of Biochemistry*, 27, 419–429.

Charrasquiel, J & Pérez E. 2006. Elaboración de una Salsa de Pescado tipo Nuoc-Mam a Partir de Músculo Rojo, Músculo Blanco y Ambos Marginales de las Especies Sable (*Trichurus lepturus*) y Jurel (*Trachurus pictaratus murphyi*). Tesis de Grado. Programa de Ingeniería de Alimentos. Universidad de Cartagena. Colombia.

Dissaraphong, S., Benjakul, S., y Visessanguan, W. (2006). The influence of storage conditions of tuna viscera before fermentation in the chemical, physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. *Bioresource technology*, 97, 2032–2040.

Dissaraphong, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H., 2006. The influence of storage conditions of tuna viscera before fermentation on the chemical, physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. *Bioresource Technology* 97, 2032–2040.

Dissaraphong, S.; Benjakul, S.; Visessanguan, W.; Kishimura, H. 2007. The influence of storage conditions of tuna viscera before fermentation on the chemical, physical and microbiological changes in fish sauce during fermentation. *Bioresource Technology*. Disponível em: www.sciencedirect.com. Acessado em: 24 de setembro de 2007.

El Sheikha, A. F., Ray, R., Montet, D., Panda, S. and Worawattanamateekul, W. 2014. African fermented fish products in scope of risks. Minufiya University, Faculty of Agriculture, Department of Food Science and Technology, 32511 Shibin El Kom, Minufiya Government, Egypt.

FDA, 2001b. Other decomposition-related hazards. In: Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance, third ed. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Seafood, Washington, DC, p. 103–104.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2009. Departamento de Pesca y Acuicultura : programa de información de especies acuáticas *Oreochromis niloticus*. (en línea). Consultado 6 jun. 2009. Disponible en http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es

Fishbase.<http://www.fishbase.org/FieldGuide/FieldGuideSummary.php?GenusName=Caranx&SpeciesName=crysos&pda=&sps>

Fujii, T., Basuki, B., & Tozawa, H. (1980). Chemical composition and microflora of fish sauce “Patis”. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 46, 1235–1240.

Fukami, K., Funatsu, Y., Kawasaki, K., Watabe, S., 2004. Improvement of fish sauce odor by treatment with bacteria isolated from the fish sauce mush (Moromi) made from frigate mackerel. J. Food Sci. 69, 45–49. Sewage sludges. J. Hazard. Mater. 108, 161–169.

Fukui, Y., Yoshida, M., Shozen, K., Funatsu, Y., Takano, T., Oikawa, H., Yano, Y., Satomi, M., 2012. Bacterial communities in fish sauce mash using culture-dependent and -independent methods. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 58, 273–281.

Ijong, F. G. y Ohta, Y. (1995). Microflora and chemical assessment of an Indonesian traditional fermented fish sauce "Bakasang". *J. Fac. Appl. Biol. Sci. Hiroshima; niv.* 34, 95, 100.

Ijong, F. G., & Ohta, Y. (1996). Physicochemical and microbiological changes associated with Bakasang processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, 69–74.

Hjalmarsson, Gustaf Helgi , Jae W. Park, Kristberg Kristbergsson. 2006. Seasonal effects on the physicochemical characteristics of fish sauce made from capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemistry, Volume 103, Issue 2, 2007, Pages 495-504.*

Jin-Jin Jiang *, Qing-Xiao Zeng, Zhi-Wei Zhu, Li-Yan Zhang. 2007. Chemical and sensory changes associated Yu-lu fermentation process – A traditional Chinese fish sauce. School of Food Science and Technology, South China University of Technology, 381 Wushan Road, Guangzhou 510640, Guang Dong Province, People's Republic of China.

Josupeit, H. 2009. FAO Globefish: tilapia marketreportmay 2009. (en línea). Consultado 6 jun. 2009. Disponible en <http://www.globefish.org/dynamisk.php4?id=4723>

Kabelova, J., Dvorakova, M., Cizkova, H., Dostalek, P., Melzoch, K., 2008. Determination of free amino acids in beers: a comparison of Czech and foreign brands. *Journal of Food Composition and Analysis* 21, 726–741.

Kasetsart J. 2006. Propiedades sensoriales de las salsas de pescado de Tailandia y su clasificación. Nat. Sci.40 (Suplemento): 181 – 191. Bangkok, Tailandia.

http://kasetsartjournal.ku.ac.th/kuj_files/2008/A080403145627.pdf

Kim, S., Jeon, Y., Byeun, H., Kim, Y., Lee, C., 1997. Enzymatic recovery of cod frame proteins with crude proteinase from tuna pyloric caeca. Fish. Sci. 63, 421–427.

Kim, J.H., Ryu, K.H., Ahn, H.J., Lee, K.H., Lee, H.J., Byun, M.W., 1997. Quality evaluation of commercial salted and fermented anchovy sauce. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 29, 837–842.

Kiesvaara, M. (1975). On the soluble nitrogen fraction of barrel-salted herring and semi-preserves during ripening. Technical Research Center of Finland.

KILINE, B.; CAKLI, S.; TOLASA, S.; DINCER, T. 2006. Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce processing. *European Food Research Technology*, n. 222, p. 604-613, 2006.

Klomklao, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H., & Simpson, Benjamin K. (2006). Effects of the addition of spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) on the liquefaction and characteristics of fish sauce made from sardine (*Sardinella gibbosa*). *Food Chemistry*, 98, 440–452.

Kuda, T., Mihara, T., & Yano, T. (2007). Detection of histamine and histamine-related bacteria in fish-nukazuke, a salted and fermented fish with rice-bran, by simple colorimetric microplate assay. *Food Control*, 18, 677e681.

Larsen Heldbo, EP, J., Jespersen CM y J. Nielsen (1992). Elaboración de una norma para la evaluación de la calidad del pescado para el consumo humano. En: HH Huss, Jacobsen, M. Liston y J. (eds.) *Garantía en el pescado. Industria Calidad* Memorias de una Conferencia Internacional, Copenhague, Dinamarca, agosto de 1991. Elsevier, Amsterdam, 351-358.

Ijong, F., Ohta, Y., 1995. Microflora and chemical assessment of an Indonesian traditional fermented fish sauce "Bakasang". *Journal of Faculty of Applied Biological Sciences* 34, 95–100.

Lopetcharat, K., Choi, Y.J., Daeschel, M.A., 2001. Fish sauce products and manufacturing: a review. *Food Rev. Int.* 17, 65–88.

Lopetcharat, K., & Park J.W., 2002. Characteristic of fish sauce made from Pacific whiting and surimi by products during fermentation stage. *J. Food Sci.* 67, 511–516.

Lowe, B., 2009a. *Roman Iberia, Economy, Society and Culture*. Duckworth, London, pp. 139–165.

Lowe, B., 2009b. Fish sauces in ancient Rome: a historic perspective on the use of free glutamates to enhance flavor. In: *An Abstract Presented at the Pang born Conference, Florence, Italy*.

Mah, J. H., & Hwang, H. J. (2009). Effects of food additives on biogenic amine formation in Myeolchi-jeot, a salted and fermented anchovy (*Engraulis japonicus*). *Food Chemistry*, 114, 168e173.

Miro, S., *et al.*, 2010. Amino acids and minerals in ancient remnants of fish sauce (garum) sampled in the “Garum Shop” of Pompeya, Italy. *Journal of Food Composition and Analysis* 23 (2010) 442–446.

Mizutani, T., Kimizuka, A., Ruddle, K., & Ishige, N. (1992). Chemical components of fermented fish products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 5, 152–159.

Nakamura, I. 1985. FAO species catalogue. Vol. 5. Billfishes of the World. An annotated and illustrated catalogue of marlins, sailfishes, spearsfishes and swordfishes known to date. FAO Fish. Synop., Rome, 5: 65 pp.

Oetterer, O. 2005. Processo de Fermentação do pescado (Anchovamento). USP/ ESALQ. LAN.662. Disponível em: www.esalq.usp.br Acesso em: 01 de outubro de 2005.

Orejana, F. M., & Liston, J. (1981). Agents of proteolysis and its inhibition in Patis (Fish sauce) fermentation. *Journal of Food Science*, 47, 198–203.

Owens, J.D., Mendoza, L.S., 1985. Enzymatically hydrolysed and bacterially fermented fishery products. *J. Food Technol.* 20, 273–293.

Paludan-Muller, C., Madsen, M., & Sophanodora, P. (2002). Fermentation and microflora of Plaa-soma Thai fermented fish.

Paludan - Müller, C., Madsen, M., Sophanodora, P., Gram, L., Moller, R.L., 2002a. Fermentation and microflora of plaa-som, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *International Journal of Food Microbiology* 73, 61–70.

Paludan-Müller, C., Valyasevi, R., Huss, H.H., Gram, L., 2002b. Genotypic and phenotypic characterization of garlic-fermenting lactic acid bacteria isolated from som-fak, a Thai low-salt fermented fish product. *Journal of Applied Microbiology* 92, 307–314.

Paludan-Muller, C., Madsen, M., & Sophanodora, P. (2002). Fermentation and microflora of Plaa-som a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 61–67.

Paludan-Muller, C., Madsen, M., Sophanodora, P., Gram, L., & Moller, P. L. (2002). Fermentation and microflora of Plaa-som a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 61e67.

Park, J. N., Fukumoto, Y., y Fujita, E. (2001). Chemical composition of fish sauces produced in Southeast and East Asian countries. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 113–125.

Peralta, E. M., Hatate, H., Watanabe, D., Kawabe, D., Murata, H., Hama, V., & Tanaka, R. (2005). Antioxidative activity of Philippine salt-fermented shrimp and variation of its constituents after fermentation. *Journal of Oleo Science*, 54(10), 553–558.

Perez-Villareal, B., & Pozo, R. (1992). Ripening of the salted anchovy (*Engraulis encrasicolus*): study of the sensory, biochemical and microbiological aspects. In H. H. Huss (Ed.), *Quality assurance in the fish industry* (pp. 7–167). New York: Elsevier Science Publishers.

Pithakpol, B., Varayanond,W., Reungmaneepaitoon, S., Wood, H., 1995. The traditional fermented foods of Thailand Institute of Food Research and Product Development Kasertsart University, Bangkok, Bangkok.

Ruiz-Capillas, C., y Jimenez-Colmenero, F. (2004). Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(7–8), 489–499.

Ren, H., Hayashi, T., Endo, H., & Watanabe, E. (1993). Characteristics of Chinese and Korean soy and fish sauces on the basis of their free amino acid composition. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 1929–1935.

Saisithi, P., Kasemsarn, B., Liston, J., & Dollar, A. M. (1966). Microbiology and chemistry of fermented fish. *Journal of Food Science*, 31, 105–110.

Saisithi, P., Yongmanitchai, P., Chimanage, P., Wongkhalaung, C., Boonyaratanakornit, M., Maleehuan, S., 1986. Improvement of a Thai traditional fermented fish product: som-fug. FAO.

Saisithi, P., 1987. Traditional fermented fish products with special reference to Thai products. *Asean Food J.* 3, 3 – 10.

Saisithi P. 1994 Traditional fermented fish: fish sauce production. In: Martin A. M, editor. *Fisheries processing biotechnological application*. London: Chapman & Hall;. p. 111–31.

Sanceda, N. G., Kurata, T., & Arakawa, N. (1996). Accelerated fermentation process for the manufacture of fish sauce using histidine. *Journal of Food Science*, 61, 220–225.

Sinesio, F., Comendador, F.J., Peperario, M., Moneta, E., 2009. Taste perception of umami rich dishes in Italian culinary tradition. *Journal of Sensory Studies* 24, 554–580.

Suzzi, G.; Gardini, F. 2003. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*. n. 88, p. 41-54.

Tsuji, K., Kaneko, K., Kim, C.-H., Otaguro, C., & Kaneda, T. (1994). Composition of free sugars, organic acids, free amino acids and oligopeptides of Kochujang seasoning made in Korea. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 41, 568–573.

Tsai, Y.-H., Lin, C.-Y., Chien, L.-T., Lee, T.-M., Wei, C.-I., & Hwang, D.-F. (2006). Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria. *Food Chemistry*, 98, 64–70.

Tsuji, K., Kaneko, K., Kim, C.H., Otaguro, C., Kaneda, T., 1994. Composition of free sugars, organic acids, free amino acids and oligopeptides of kochujang seasoning made in Korea. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi* 41, 568–573.

WHITE, J.A.; HART, R.J. and FRY J.C. 1986. An evaluation of the Waters Pico Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *Journal of Automatic Chemistry / Journal of Clinical Laboratory Automation* 8 (4): 170 – 177.

Wilaipan, P. M. S. (1990). Thesis. ChulalongkornUniversity, Bangkok, Thailand.

Yoshida, Y., 1998. Umami taste and traditional seasonings. *Food Reviews International* 14, 213–246.

Yongsawatdigul, J., Rodtong, S., Raksakulthai, N., 2007. Acceleration of Thai fish sauce fermentation using proteinases and bacterial starter cultures. *Journal of Food Science* 72 (9), 282–290.

Yoshida, Y., 1998. Umami taste and traditional seasonings. *Food Reviews International* 14, 213–246.

Yamaguchi, S., Ninomiya, K., 1998. What is umami? *Food Reviews International* 14, 123–138.

Zarei Mehdi, Najafzadeh Hossein, Hadi Eskandari Mohammad, Pashmforoush Marzieh, Enayati Ala, Gharibid Dariush, Fazlara Ali. 2011. Chemical and microbial properties of mahyaveh, a traditional Iranian fish sauce. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. *International Journal of Food Microbiology*