



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

**INFORME DE INVESTIGACIÓN
PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
AGROINDUSTRIA**

MODALIDAD:

TRABAJO DE TITULACIÓN

TEMA:

**INCIDENCIA DEL TIEMPO Y TEMPERATURA DE
ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y
ESTABILIDAD DE LA TEXTURA EN CARNE DE CHAME
(*Dormitatos Latinfrons*)**

AUTOR:

ING. JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ

TUTOR:

ING. RAMÓN TOBÍAS RIVADENEIRA GARCÍA, Mgtr.

CALCETA, OCTUBRE 2022

DERECHOS DE AUTORÍA

JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, que se han respetado los derechos de autor de terceros, por lo que asumo la responsabilidad sobre el contenido del mismo, así como ante la reclamación de terceros, conforme a los artículos 4, 5 y 6 de la Ley de Propiedad Intelectual

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido en el artículo 46 de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.



ING. JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. RAMON TOBIAS RIVADENEIRA GARCIA, Mgtr, certifica haber tutelado el trabajo de titulación **INCIDENCIA DEL TIEMPO Y TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y ESTABILIDAD DE LA TEXTURA EN CARNE DE CHAME (*Dormitatos Latinfrons*)**, que ha sido desarrollado por **JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ**, previo a la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al reglamento de unidad de titulación de los programas de posgrado de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. RAMON TOBIAS RIVADENEIRA GARCIA, Mgtr

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **INCIDENCIA DEL TIEMPO Y TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA Y ESTABILIDAD DE LA TEXTURA EN CARNE DE CHAME (*Dormitatos Latinfrons*)**, que ha sido propuesto, desarrollado por JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ, previa la obtención del título de Magister en Agroindustria, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Mgtr. JOSÉ FERNANDO ZAMBRANO RUEDAS

MIEMBRO

Mgtr. FRANCISCO MANUEL DEMERA LUCAS

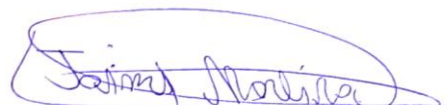
MIEMBRO

Ph.D. JULIO VINICIO SALTO SOLORZANO.

PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

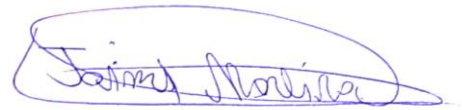
Agradecimiento al Padre eterno por la bendición recibida que me permitió continuar preparándome para alcanzar otro objetivo en la vida.

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a blue oval. The signature appears to read "Jaime Moreira".

ING: JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación al eterno que ha sido su gran bendición en todos los sentidos, gracias a ti padre eterno por este logro alcanzado



ING: JAIME JAVIER MOREIRA LÓPEZ

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR.....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE TABLAS, DIAGRAMAS Y FIGURAS.....	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3. OBJETIVOS.....	5
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO	5
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1. EL CHAME (<i>Dormitator latifrons</i>).....	6
2.1.1. CULTIVO DEL CHAME	6
2.2. CAMBIOS POST MORTEM EN EL PESCADO	6
2.2.1. RIGOR MORTIS.....	7
2.2.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL CHAME DE ACUERDO A SU PROCEDENCIA.....	7
2.2.3. TEXTURA Y ELASTICIDAD MUSCULAR DEL PESCADO	8
2.3. TEMPERATURA PARA LA CONSERVACIÓN DE PESCADO.....	8
2.3.1. REFRIGERACIÓN.....	9
2.3.2. CONGELACIÓN.....	9
2.4. CALIDAD BROMATOLÓGICA DEL PESCADO DE AGUA DULCE	10
2.4.2. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL PESCADO DE AGUA DULCE.....	11
2.4.3. REFERENCIAS DE ESTUDIOS REALIZADOS	13
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	15
3.1. UBICACIÓN	15
3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
3.3. FACTORES EN ESTUDIO	15
3.3.1. NIVELES DEL FACTOR.....	15
3.4. TRATAMIENTOS.....	16
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	17
3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	17
3.8. VARIABLES.....	17
3.8.1. VARIABLES INDEPENDIENTES.....	17
3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES.....	18
3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO	18
3.9.1. MÉTODO DE CONSERVACIÓN EN FRÍO DEL CHAME (<i>Dormitator latifrons</i>).	18
3.9.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE CHAME	18
3.9.3. DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA CONSERVACIÓN DE CHAME (<i>Dormitator latifrons</i>).....	21
3.10. VARIABLES A MEDIR Y MÉTODO DE EVALUACIÓN.....	22
3.10.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	22
3.10.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS.....	22
3.10.3. DETERMINACIÓN DE TEXTURA.....	23
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
4.1. ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE DEL CHAME EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO.....	24
4.2. PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EN ESTUDIO	25
4.2.1. <i>Aerobios mesófilos</i>	25
4.2.2. <i>E. coli</i>	28
4.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	31
4.3. TRATAMIENTOS Y TESTIGO COMERCIAL	34
4.3.1. <i>Aerobios mesófilos</i>	34
4.3.2. <i>E. coli</i>	35
4.3.3. <i>S. aureus</i>	36
4.4. CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DE LOS TRATAMIENTOS	38
4.5. PERFIL DE TEXTURA AL MEJOR TRATAMIENTO	41
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
4.1. CONCLUSIONES	42
4.2. RECOMENDACIONES	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44
Anexos.....	52

CONTENIDO DE TABLAS, DIAGRAMAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Niveles de los factores	15
Tabla 2. Combinación de los niveles de los factores en estudio.	16
Tabla 3. Esquema del ANOVA.....	16

Tabla 4. Esquema del ANOVA para tratamientos y testigo.....	17
Tabla 5. Requisitos microbiológicos según la norma NTE INEN 1896: 2013.....	22
Tabla 6. Análisis bromatológicos para pescado refrigerado y congelado.....	22
Tabla 7. Supuesto de normalidad para las variables microbiológicas en estudio.	24
Tabla 8. Supuesto de homogeneidad para la variable <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Tabla 9. Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de <i>Aerobios mesófilos</i>	25
Tabla 10. Prueba de Kruskal – Wallis para el factor B en relación a la carga microbiana de <i>Aerobios mesófilos</i>	26
Tabla 11. Prueba de Kruskal – Wallis para los tratamientos en relación a la carga microbiana de <i>Aerobios mesófilos</i>	27
Tabla 12. Subconjuntos homogéneos para los tratamientos en relación a de las medias de <i>Aerobios mesófilos</i>	27
Tabla 13. Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de <i>E. coli</i>	28
Tabla 14. Prueba de Kruskal – Wallis para el factor B en relación a la carga microbiana de <i>E. coli</i>	29
Tabla 15. Prueba de Kruskal – Wallis para los tratamientos en relación a la carga microbiana de <i>E. coli</i>	30
Tabla 16. Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Tabla 17. Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Tabla 18. Prueba de Kruskal – Wallis para los tratamientos en relación a la carga microbiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Tabla 19. Subconjuntos homogéneos para los tratamientos en relación a las medias de <i>Staphylococcus aureus</i>	33
Tabla 20. Características bromatológicas de los tratamientos.....	39
Tabla 21. Perfil de textura del mejor tratamiento microbiológicamente estable.....	41

Gráficos

Gráfico 1. Incidencia de los niveles del factor A sobre el crecimiento de <i>Aerobios mesófilos</i>	25
Gráfico 2. Incidencia de los niveles del factor A sobre el crecimiento de <i>E. coli</i>	29
Gráfico 3. Incidencia de los niveles del factor A sobre el crecimiento de <i>Aerobios mesófilos</i>	31
Gráfico 4. Medias de recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> (<i>ln</i>) para tratamientos y testigo.....	35
Gráfico 5. Medias de recuento de <i>E. coli</i> (<i>ln</i>) para tratamientos y testigo.	36
Gráfico 6. Medias de recuento de <i>S. aureus</i> (<i>ln</i>) para tratamientos y testigo.....	37

Figuras

Diagrama de proceso para la conservación de chame (<i>Dormitator latifrons</i>).....	21
--	----

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica y textura en la carne de chame (*Dormitator latifrons*). Como primer factor en estudio (A) se establecieron temperaturas de refrigeración ($3^{\circ}\text{C} \pm 1$) y congelación ($-11^{\circ}\text{C} \pm 1$), con tiempos de almacenamiento (factor B) de: 24, 48 y 72 horas. Las principales variables dependientes (calidad microbiológica) fue analizada mediante un arreglo factorial A*B +1 por la vía de un Diseño Completamente al Azar (DCA), con seis tratamientos y tres réplicas por cada uno. El T₆ ($-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ a 72 horas) se impuso como el mejor de los tratamientos con medias de *Aerobios mesófilos* de 2,54 ln (13 UFC/g), *E. coli* como ausencia y *Staphylococcus aureus* de 4,75 ln (117 UFC/g), estando para todos los casos, dentro de los rangos establecidos por la norma NTE INEN 1896 (2013), indicando que la congelación y tiempos prolongados, preservan la calidad microbiológica del chame. Se efectuaron características bromatológicas a los tratamientos de: humedad, proteína, grasa y cenizas, resaltando el contenido proteico, detectado diferencias porcentuales de los tratamientos, demostrando que el congelamiento lento y la descongelación producen desnaturalización de las proteínas por cambios autolíticos, lo cual también afecto al perfil de textura (TPA) efectuado al mejor tratamiento (T₆), dando medias de dureza de $12,41 \pm 1,37$ (N), elasticidad de $14,44 \pm 0,29$ (mm) y cohesividad de $0,75 \pm 0,16$, características no deseables en la carne de chame, debido a los procesos de desnaturalización enzimáticos.

PALABRAS CLAVE

Control de temperatura, calidad microbiológica, desnaturalización, autolíticos

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of temperature and storage time on the microbiological quality and texture of chame (*Dormitorator latifrons*) meat. As the first factor under study (A), refrigeration ($3^{\circ}\text{C} \pm 1$) and freezing ($-11^{\circ}\text{C} \pm 1$) temperatures were established, with storage times (factor B) of: 24, 48 and 72 hours. The main dependent variables (microbiological quality) were analyzed using a factorial arrangement A*B +1 by way of a Completely Random Design (DCA), with six treatments and three replications for each one. T6 ($-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ to 72 hours) prevailed as the best of the treatments with means of Mesophilic Aerobes of $2.54 \ln$ (13 CFU/g), *E. coli* as absent and *Staphylococcus aureus* of $4.75 \ln$ (117 CFU/g), being for all cases, within the ranges established by the NTE INEN 1896 (2013) standard, indicating that freezing and prolonged times preserve the microbiological quality of the chame. Bromatological characteristics were made to the treatments of: moisture, protein, fat and ashes, highlighting the protein content, detecting percentage differences of the treatments, demonstrating that slow freezing and thawing produce protein denaturation by autolytic changes, which also affected to the texture profile (TPA) carried out at the best treatment (T6), giving average hardness of 12.41 ± 1.37 (N), elasticity of 14.44 ± 0.29 (mm) and cohesiveness of 0.75 ± 0.16 , undesirable characteristics in chame meat, due to enzymatic denaturation processes.

KEYWORDS

Temperature control, microbiological quality, denaturation, autolytic

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El pescado es un producto altamente perecedero debido a una serie de cambios autolíticos, oxidativos y microbiológicos, estos últimos son en gran parte responsables del deterioro, lo que resulta en cambios cualitativos como olor, sabor, apariencia, textura y efecto en la vida útil. Entre los cambios mencionados, son determinantes la calidad microbiana y el contenido de nitrógeno volátil, los cuales determinan la viabilidad para el consumo humano (Gómez et al., 2016).

Es por ello que se hace necesario evaluar constantemente la cadena de comercialización que permita a los consumidores obtener productos inocuos, debido a que los principales riesgos en la pérdida de la calidad de la carne de pescado están dados directamente por la acción de los microorganismos patógenos o no patógenos que actúan sobre los tejidos comestibles. En América Latina se registran cantidades de brotes significativos de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) debido a la falta de higiene en el manejo de estos, siendo este un grave problema de salud pública (Vásquez et al., 2018).

En Ecuador, la presencia de estos problemas se debe en muchos de los casos al mal manejo de las temperaturas durante el almacenamiento, siendo este un factor que acelera la descomposición y deterioro del producto (Barragán & Ayaviri, 2018). Dentro de la provincia de Manabí estos problemas están asociados a la falta de conocimientos de las personas que manipulan los pescados durante la captura o durante los procesos de comercialización (Osejos et al., 2017). Los diversos cambios que sufre el pescado desde su captura, lo convierten en un producto con alto grado de susceptibilidad al deterioro y putrefacción. Los responsables de estos fenómenos son las enzimas que lo constituyen y los microorganismos que invaden los órganos y tejidos tan pronto sucede la muerte (Cedeño et al., 2021).

En este sentido, el Chame (*Dormitator latifrons*), que es una de las especies nativas o endémicas más reconocidas en Ecuador, especialmente en la provincia de Manabí, donde representa una de las principales economías de cantones como Chone y Tosagua, no está exenta de estos problemas relacionados con la inocuidad, porque, al igual que otros pescados, son muy perecederos y, si no se

manipulan adecuadamente cuando se capturan, pueden volverse rápidamente no aptos para el consumo humano y pueden representar un peligro para la salud debido al crecimiento microbiano, la modificación química y la degradación por enzimas endógenas, principalmente debido a la comercialización y manipulación de esta especie debido a su pesca muy imperfecta y manual (Espinoza, 2022).

Así mismo, muchos de los comerciantes que se dedican al expendio de chame no tienen un lugar adecuado y expenden sus productos sobre mesas de madera en interiores de mercados o bien a orillas de carreteras, los cuales a menudo no usan los métodos de conservación como refrigeración o congelación de forma adecuada, o simplemente no lo usan, estando los recursos expuestos a las inclemencias del tiempo y considerando que la región se caracteriza por ser de climas templados y cálidos, al permanecer muchas horas a temperatura ambiente, su calidad se desmerece. (Seminario, 2019; Espinoza, 2022).

Los cambios físico-químicos y microbiológicos que ocurren en el chame desde el momento de la muerte conllevan una serie de cambios sensoriales, relacionados con el cambio en atributos como la apariencia, el olor, el color y la textura, mientras que los primeros cambios sensoriales durante el almacenamiento están relacionados con la apariencia y la textura. Inmediatamente después de la muerte, los músculos se relajan por completo y su textura es elástica y flexible. Después de unas horas, el músculo se contrae y se vuelve rígido y duro, lo que hace que todo el cuerpo se vuelva inelástico (Bdillo et al., 2018; Monsalve, 2016).

Los pescados como el chamé son perecederos y deben mantenerse en la cadena de frío desde la cosecha hasta la venta; sin embargo, el inadecuado mantenimiento al momento de la venta, sumado a la deficiente infraestructura y saneamiento en los mercados de abastecimiento, plantean riesgos para la salud de los consumidores. Las tardanzas en su refrigeración o congelación conducen a que se presenten riesgos sanitarios, debido a que, desde la captura, el pez viene con una carga microbiana inicial que va en aumento a menos que se disminuya su proliferación con los métodos de conservación antes mencionados (Suarez, 2019; Noef, et al., 2021).

Si la carga microbiana inicial es excesiva por mala manipulación desde la captura, aún en la cadena de frío se dan alteraciones causadas por bacterias psicrótrofas

que poseen actividades proteolíticas, responsables de desintegrar los tejidos y contribuir a reacciones bioquímicas que producen características indeseables como cambios sensoriales relacionados con la apariencia y la textura (Enríquez, 2018), donde este último atributo es uno de los más importantes; sin embargo, se ve afectado rápidamente durante el almacenamiento en frío, presentándose ablandamiento de la carne, fenómeno que no solo afecta la comercialización directa del pescado, sino que también restringe el uso de esta materia prima (Castañeda, 2016).

El chame posee muchas cualidades como una elevada calidad nutricional, es altamente digerible y presenta un importante contenido en vitaminas y minerales; tradicionalmente su consumo es en forma fresca, su carne es blanca, inodora y suave, siendo vulnerable al deterioro incluso bajo almacenamiento en frío, donde se dan cambios químicos indeseables, precisando que un problema principal es la dispersión de la información científica relacionadas con esta especie y estos problemas, no permite establecer un claro estado del conocimiento para darle seguimiento.

Por lo antes expuesto, se plantea la pregunta de investigación: ¿Qué incidencia tiene la temperatura y el tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica y la estabilidad de textura en la carne de chame (*Dormitatos latinfrons*)?

1.2. JUSTIFICACIÓN

El pescado es uno de los productos alimenticios básicos más comercializados y su consumo a nivel mundial ha ido en incremento en las últimas décadas. Actualmente los consumidores exigen el cumplimiento de normas más estrictas en cuanto a su grado de conservación, diversidad e inocuidad con el fin de proteger su salud, por eso la gran preocupación recae sobre las prácticas de cultivo y calidad del pescado que proviene de la acuicultura (Castillo et al., 2017).

En Ecuador se ha destinado la explotación a un número reducido de organismos acuáticos, los cuales han permitido obtener fuertes ingresos por su producción, sin embargo, se ha expuesto a caídas significativas al presenciar problema de inocuidad y precisamente, la ejecución de esta investigación sustenta su necesidad en la relevancia e importancia que tiene este tema, en especial para aquellos

productos que son perecederos y de amplia distribución como el chame (*Dormitator latifrons*), especie endémica del país que actualmente, se constituye como una de las más importantes, puesto que es aprovechado por los habitantes de diversos cantones manabitas para el desarrollo de actividades económicas y crecimiento social.

Sin embargo, la mala manipulación del chame desde su captura permiten un acelerado problema de deterioro, haciendo que sea peligroso para el consumo humano, generando pérdidas significativas, mismas que después son descartadas de mala manera a ríos, estuarios, lagunas causando problemas a diversos ecosistemas por la descomposición, generando también el descontento ciudadano. Es por esto que los procesos correctos de manipulación y conservación como refrigeración y congelación desde la captura del chame son de suma importancia, evitando así pérdidas de producto por contaminación de patógenos, maximizando la producción lo que permite además dinamizar la economía, satisfaciendo así las necesidades de los consumidores

El Chame posee muchas cualidades excepcionales que lo hacen interesante para su consumo entre las que se encuentran: carne blanca, sin espinas, buen sabor y textura. Al igual que otras especies de pescado, constituye un alimento de elevada calidad nutricional, es altamente digerible y presenta un importante contenido en vitaminas y minerales, además tiene pocos requerimientos para su cultivo en criaderos. Esta investigación también pretende demostrar que con las prácticas correctas de manipulación y conservación se pueden obtener chames de muy buena calidad que cumplan con los estándares microbiológicos especificados por la norma NTE INEN 1896 (2013), especificada para pescado fresco, refrigerado y congelado.

Esto se demostrará mediante la evaluación del efecto que tiene la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica y textura en la carne de chame, permitiendo generar información científica que servirá de sustento para futuras investigaciones a más de constituirse como un antecedente relevante para el diseño de estrategias a aplicar para la conservación de esta especie, considerando que la información científica sobre el chame aún es escasa.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica y textura en la carne de chame (*Dormitator latifrons*)

1.3.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

- Evaluar mediante la técnica de recuento en placa la estabilidad microbiológica de la carne de chame en función de la temperatura y tiempo de almacenamiento.
- Determinar características bromatológicas de humedad, proteína, grasa y cenizas en la carne de chame según la temperatura y tiempo de almacenamiento.
- Evaluar los cambios de dureza, elasticidad y cohesividad (TPA) al mejor tratamiento microbiológicamente apto según la norma NTE INEN 1896 (2013).

1.4. HIPÓTESIS

Al menos una de las temperaturas y tiempos de almacenamiento influye sobre la calidad microbiológica y estabilidad de la textura en la carne de chame.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EL CHAME (*Dormitator latifrons*)

También denominado fat sleeper, puyequé, popoyote o chalaco, es un pez cuya distribución natural va desde California, Estados Unidos de Norte América, hasta las costas de Perú, es cultivado a mediana escala en Ecuador (Rodríguez et al., 2012). El tiempo de producción es de aproximadamente un año. El macho presenta una coloración rojiza y la hembra un azul verdoso oscuro, además, su carne blanca sin espinas intramusculares de muy buen sabor y textura, condiciones que le ha hecho ganar aceptación en el mercado nacional como internacional. Esta especie es ofrecida comúnmente en los mercados locales de los cantones de las Provincias costeras de Manabí y Esmeraldas, considerándose parte de la dieta diaria de esta población (Ortega, 2016).

2.1.1. CULTIVO DEL CHAME

El Chame está disponible todo el año, pero en mayor número en invierno. Las semillas de chame se encuentran principalmente en las aguas de los estuarios, cuando las hembras acuden a desovar en estas aguas, se cree que debido a la salinidad que contienen, con el tiempo migrarán río arriba a zonas de lagunas, tanto adultos como juveniles llegan a su desove para y esperar por un nuevo ciclo de reproducción. Se sabe que crecen en estanques, piscinas, creciendo en zonas costeras bajas que se utilizan como fuente de agua para el ganado en el verano y se inundan cuando llega el invierno, creando lagunas donde se reproducen. En lugares con más tecnificación cuentan con sistema de bombeo permanente para una limpieza del agua (Zapata, y otros, 2018).

2.2. CAMBIOS POST MORTEM EN EL PESCADO

De acuerdo a Príncipe (2009) el pez, cuando muere se generan diversos cambios físicos químicos en su cuerpo que conducen a una alteración final del mismo. Estos procesos incluyen la producción de mucus en la superficie del cuerpo, desarrollo del rigor mortis, cambios autolíticos, cambios organolépticos, estos cambios no son

consecutivos, su principio, duración y final pueden variar dependiendo de muchos factores tales como las especies, sistema de captura, temperatura de almacenaje.

2.2.1. RIGOR MORTIS

Los cambios post mortem más importantes que ocurren en los peces desde el punto de vista sensorial son la aparición de rigor mortis, cambios en la apariencia, color, olor y textura de los músculos. Inmediatamente después de la muerte, el pez es suave, flexible y firme, los músculos se relajan; esta etapa se denomina pre – rigor mortis. Después de algunas horas, los músculos se contraen, se vuelven inelásticos, rígidos y duros (Avdalov, 2012).

2.2.2. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DEL CHAME DE ACUERDO A SU PROCEDENCIA

Los filetes de carne del chame silvestre sin cocer y cocido, obtuvo un 70% respecto a la consistencia firme y elasticidad, con relación a la carne de chame cultivado en piscinas o estuarios cuya preferencia estuvo en un 55% (Bermúdez et al., 2021).

Mediante estudios de análisis sensorial se demostró que los chames silvestres, tiene el 65% de aceptación respecto al sabor de su carne, organolépticamente con respecto en el olor, color, y sabor superan a los chame cultivado en piscinas.

La cual podría estar muy relacionado con la alimentación, debido a las fuentes alimenticias y de enzimas presentes en el alimento natural, que contribuyen a una mejor digestión y optimizan la asimilación de los nutrientes (Bermúdez et al., 2021).

También hay otros factores que intervienen sobre la textura del músculo del pescado como la congelación y descongelación, esto lleva a la desintegración del α -conectina. Estos factores podrían ser responsables de la desintegración estructural del músculo, afectando en diferentes intensidades respecto a la textura (Suárez et al., 2007).

2.2.3. TEXTURA Y ELASTICIDAD MUSCULAR DEL PESCADO

Respecto a la textura de la carne de chame cocida, Suárez (2019) determinó un 100% en firmeza y elasticidad de ésta, (Bermúdez et al., 2021) en el filete cocido del chame cultivado en piscina se obtuvo un 55%, obteniéndose mayores resultados tanto en los filetes cocidos y sin cocer de los chames silvestres.

La textura y elasticidad es uno de los factores más importantes a considerar en la calidad del pescado. Es una característica sensorial para el consumidor y un importante atributo para el procesamiento mecánico de los filetes. Las propiedades texturales dependen de la composición química y estructural. La carne de los peces teleósteos está formada por bloques musculares adyacentes, denominados miotos y separados uno del otro por las láminas de colágenos denominadas miocomatas. (Domínguez et al., 2011). La textura se la analizan presionando con los dedos sobre la superficie del pescado, en el pescado fresco la textura es firme y elástica, a medida que avanza el deterioro se vuelve más flácida, menos elástica y se desgarrar con la menor presión (Avdalov, 2015)

2.3. TEMPERATURA PARA LA CONSERVACIÓN DE PESCADO

Los mecanismos de conservación del pescado más usados, son el uso del hielo, refrigeración y congelamiento, cuyo objetivo principal es proporcionar bajas temperaturas con el fin de controlar la flora microbiana al disminuir la velocidad de crecimiento de los microorganismos. Si bien las dos primeras tecnologías se consideran relativamente simples y económicas, tienen la desventaja de una vida útil corta de aproximadamente 8 días, después de lo cual el producto debe someterse a congelación, una tecnología más compleja que permite el almacenamiento a largo plazo, pero a un costo mayor. Otras formas de conservación son: las atmósferas modificadas, sometimiento a altas presiones, técnicas de barreras (Castillo et al., 2017).

De acuerdo a Iriarte y María (2012) un aspecto principal a vigilar cuando se trata de mantener la calidad del pescado, es la temperatura misma que debería bajar hasta unos 3°C o menor a esta y se recomienda que la temperatura almacenamiento se mantenga por encima de 0°C para impedir que el hielo se funda. Se estima que una temperatura en condiciones más favorables para la conservar el pescado en

refrigeración es de 1 ,2 y 4°C, y la temperatura óptima de conservación de productos congelados es de -18°C 0 inferior (Rodríguez et al.,2009). Si bien no existen limitaciones para seleccionar, los dos valores más utilizados en la práctica es entre -10°C y -18°C (Salvadori, 2014).

2.3.1. REFRIGERACIÓN

Es el descenso de la temperatura en la cual se reduce la velocidad de las reacciones químicas y disminuye la actividad de los microorganismos. El pescado debe permanecer en refrigeración, por recomendación, máximo tres días a una temperatura de entre 1 a 4°C lo que permite conservar su buen sabor y textura, la cual además lo hace más consistente para prepararlo. Dentro del sistema industrial encontramos que se sumergen en salmueras a temperaturas de 1 a 4°C en el cual se alarga su vida útil durante la refrigeración. En la refrigeración se elimina el calor sensible y metabólico, reduciendo la temperatura hasta un valor entre 4°C y 7 °C. (Guzmán, 2020).

2.3.2. CONGELACIÓN

Durante la congelación propiedades del músculo del pescado como; la capacidad emulsionante, la capacidad de unión a lípidos, la capacidad de retención de agua y la capacidad de formación de músculo disminuyen, siendo mucho menor que en el pescado fresco. La causa principal de estos cambios en la masa muscular es la desnaturalización de las proteínas, en específico, de las miofibrillas. El pescado azul es más estable que el pescado magro cuando se congela, según la temporada y las condiciones biológicas, como la composición química y el sexo del pescado (Mena et al., 2010)

Los autores mencionados anteriormente también manifiestan que el almacenamiento inadecuado durante la congelación puede provocar la desnaturalización de proteínas como la actina y la miosina, lo que se evidencia en cambios en la textura y el sabor. La congelación se puede lograr por inmersión o glaseado, es decir, cubriendo con hielo la superficie del producto congelado, rociando o sumergiendo en agua potable con o sin aditivos permitidos. Esta tecnología se usa ampliamente para proteger los productos de la deshidratación y

reducir la oxidación, y también es una de las tecnologías de conservación de agua más utilizadas en todo el mundo.

El glaseado es una barrera protectora que protege al producto de los efectos de los cambios de temperatura y humedad a los que pueda estar expuesto el producto durante su venta. La duración del glaseado del pescado dependerá de su temperatura, el tamaño y la forma del producto, la frecuencia o duración del remojo, el glaseado utilizado y los productos químicos como el hidrocólide, para reducir la fragilidad o la tasa de evaporación de la levadura (Rungsinee & Natcharee, 2007).

2.4. CALIDAD BROMATOLÓGICA DEL PESCADO DE AGUA DULCE

- **CONTENIDO GRASO**

El contenido de porcentaje de grasa, en las especies de agua dulce como el bagre, bocachico, cachama y tilapia reportan valores que oscilan entre el 0.4% y 6.3%, mientras para el salmón y la trucha se reportan valores que oscilan entre el 4.1% y 17.0% (Perea et al., 2008).

- **CONTENIDO HUMEDAD**

La determinación de humedad es un método que permite establecer la estabilidad microbiológica, el valor nutricional y la calidad de los productos destinados al consumo humano. La humedad en los alimentos se refiere a la cantidad de agua y sustancias volátiles en los alimentos; El peso seco que queda después de la eliminación de la humedad a menudo se denomina contenido total de sólidos. La determinación de este parámetro analítico es importante porque el contenido de agua es un determinante de la calidad de un producto alimenticio y, además, conocer este valor es necesario para predecir el comportamiento de algunos productos en el proceso de elaboración. En pescado, el contenido de humedad para peces de agua dulce varía entre 77,13 % y 83.12% (Fonseca et al., 2017).

- **CONTENIDO DE PROTEÍNA**

El pescado se caracteriza por ser unas fuentes importantes de nutrientes, principalmente proteínas de un alto valor nutricional, su contenido de proteico en merluza entre el 18,70% y para el pez armadillo entre el 25,53% (Izquierdo et al., 2017).

- **CENIZA**

Su contenido está relacionado con la cantidad de materia inorgánica que queda después de calcinar la materia orgánica del producto. Las cenizas están compuestas principalmente de minerales en forma iónica o de sal, normalmente la pérdida por evaporación puede ocurrir durante la calcinación y los minerales en su forma original se convierten en carbonatos u óxidos debido a los productos químicos y otras influencias. Por las razones mencionadas anteriormente, este análisis puede determinar la calidad de los alimentos y detectar cualquier adulteración (Rodríguez, 2017).

2.4.2. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DEL PESCADO DE AGUA DULCE

- **AEROBIOS MESÓFILOS**

Son microorganismos heterótrofos, aeróbicos o aerobios mesófilos y psicrófilos capaces de crecer a temperaturas entre 15 y 45°C con un rango óptimo de 35°C/-2°C, estos son indicadores de la calidad microbiológica general de los alimentos. Su presencia dependerá del tipo de alimento, y los criterios variarán para alimentos procesados o fermentados. Cuando se realiza un recuento de este tipo de bacterias se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos, reflejando así la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima (Campuzano et al., 2015).

- **COLIFORMES TOTALES**

La denominación genérica Coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante

como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. Los coliformes entra al medio ambiente en grandes cantidades junto con las heces humanas y animales. Por esta razón, se cree que la mayor parte de la *E. coli* en el ambiente proviene de las heces. Sin embargo, hay muchas *Escherichia coli* de vida libre.

- **COLIFORMES FECALES**

Se derivan de los coliformes fecales pudiendo fermentar la lactosa a 44 °C en lugar de 37 °C como la *E. coli* común. Alrededor del 95% del grupo de *E. coli* están presente en las heces y algunas especies de *Klebsiella*. Dado que los Coliformes Fecales se encuentran casi exclusivamente en las heces de animales de sangre caliente, se cree que reflejan mejor la presencia de contaminación fecal.

Este último se denomina tolerancia térmica debido a su capacidad para soportar temperaturas más altas. Esta es la característica distintiva de las coliformes totales y fecales. La capacidad de coliformes fecales para reproducirse en las heces fuera de los intestinos de los animales de sangre caliente se facilita cuando están presentes las condiciones adecuadas de materia orgánica, pH y humedad. Se han utilizado durante mucho tiempo como un indicador ideal de contaminación fecal.

- ***Escherichia coli***

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, entre cuyas características está formada por *bacilosrectos* Gramnegativos donde los miembros de este género son clasificados en seis especies: *E. coli*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. vulneris*, *E. hermannii*, *E.albertii*, siendo *E. coli* la especie con más significación. El microorganismo *E. coli* es miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, que incluye muchos géneros, incluidos los patógenos conocidos como *Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*. La mayoría de las cepas son capaces de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas una vez ha pasado 24 - 48 horas (Sánchez A. , 2018).

- ***Staphylococcus aureus***

Prácticamente todas las cepas de estos organismos producen una familia de enzimas y citotoxinas, incluidas cuatro hemolisinas (alfa, beta, gamma y delta), nucleasas, proteasas, lipasas, hialuronidasas y colagenasas. La función principal

de estas proteínas es convertir los tejidos del huésped en los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano. Provoca intoxicación al ingerir alimentos con sobrecrecimiento de *Staphylococcus aureus*, creando enterotoxinas (Campuzano et al., 2015). Este microorganismo Puede crecer hasta valores de pH de 4,5 y la temperatura mínima de crecimiento se encuentra entre 7 y 10°C (Checmarec, 2015; Cevallos, 2020).

Su metabolismo es oxidativo/fermentativo, es catalasa-positivo y puede metabolizar una gran variedad de carbohidratos en condiciones aeróbicas, con la subsecuente liberación de ácido, principalmente ácido acético con pequeñas cantidades de bióxido de carbono; en condiciones anaerobias. Las tres condiciones necesarias para su óptimo desarrollo son: pH cercano a la neutralidad, temperatura alrededor de 30°C y ausencia de microorganismos competitivos. Los peces pueden infectarse con estafilococos de los criadores infectados o del medio ambiente. La infección más común ocurre en una persona con infección en la mano, resfriado o dolor de garganta (Ninahuaman, 2019)

2.4.3. REFERENCIAS DE ESTUDIOS REALIZADOS

- **EFFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS BACTERIOLÓGICAS FILETES DE PESCADO**

Estudios realizados en filete de pescado (pez volador) durante el tiempo de almacenamiento de 6,39,67, y 95 días bajo congelación a -18°C se le realizaron recuentos de aerobios mesófilos en placa los cual fueron bajos, no hubo crecimiento de *S. aureus* y el valor más alto de coliformes fecales fue de 240 NMP/g. Se concluye que esta especie pudiera comercializarse bajo la modalidad de filetes siempre y cuando a los filetes se les elimine completamente la piel, se glaseen, se empaquen herméticamente y se vigilen las temperaturas de almacenamiento (Iriarte et al., 2006)

- **EVALUACIÓN INSTRUMENTAL DE LA TEXTURA**

Los cambios de textura que ocurren cuando la carne y el pescado cocidos se enfrían se pueden monitorear objetivamente mediante métodos instrumentales

utilizando el medidor de textura D2A. Dependiendo del tipo de alimento, se pueden realizar muchos estudios para proporcionar información sobre el deterioro de la textura durante el almacenamiento.

Diferentes tipos de ensayos basados en fenómenos de extrusión, cizallamiento, torsión, flexión y estiramiento se fundamentan debido a la estructura muscular de la carne de pescado; la prueba de corte se usa más comúnmente en la prueba de falla estructural. Estas pruebas implican cortar una muestra de un tamaño y forma específicos utilizando una hoja de forma especial. La hoja más utilizada para este tipo de ensayo es la hoja Warner-Bratzler, que se caracteriza por la presencia de un triángulo equilátero en el corte (Díaz, 2009).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

Esta investigación se desarrolló en los laboratorios de Microbiología y Bromatología de la carrera de Agroindustria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López” [ESPAM MFL], ubicada en el sitio El Limón, Calceta, cantón Bolívar, provincia de Manabí, que geográficamente se encuentra situada entre las siguientes coordenadas: 0°49'27 Latitud sur, 80°10'47.2 Longitud oeste y una Altitud de 15 m.s.n.m (Espinoza & Mendieta, 2018).

Por otra parte, el análisis de perfil de textura (TPA) se realizó en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, ubicada en la ciudad de Manta, en sus coordenadas: latitud sur 0°57'10'' y longitud oeste 80°44'43'', con una altitud promedio de 20 msnm (Montesdeoca, 2020).

3.2. DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Este trabajo tuvo una duración de seis meses a partir de la aprobación del proyecto de titulación

3.3. FACTORES EN ESTUDIO

FACTOR A: Temperatura de almacenamiento (°C).

FACTOR B: Tiempo de almacenamiento (horas).

3.3.1. NIVELES DEL FACTOR

Los niveles del factor A y el factor B se presentan en la tabla 1.

Tabla 1.

Niveles de los factores

Factor A	Factor B
a ₁ : Entre 3°C ± 1	b ₁ : 24 horas
a ₂ : Entre -11°C ± 1	b ₂ : 48 horas
	b ₃ : 72 horas

Fuente: El investigador

3.4. TRATAMIENTOS

La combinación de los niveles de los factores en estudio dio como resultado seis tratamientos, a los cuales se sumó un testigo que correspondió a chames conservados de la manera tradicional utilizada en mercados y locales artesanales que se dedican al expendio de este pez. El tiempo de conservación del testigo fue a temperatura de conservación tradicional con hielo (10 – 18°C) por 24 horas.

Tabla 2.

Combinación de los niveles de los factores en estudio.

DESCRIPCIÓN			
Tratamientos	Códigos	Grados de temperatura °C	Tiempo (horas)
T1	a ₁ *b ₁	Entre 3°C±1	24
T2	a ₁ *b ₂	Entre 3°C±1	48
T3	a ₁ *b ₃	Entre 3°C±1	72
T4	a ₂ *b ₁	Entre -11±1	24
T5	a ₂ *b ₂	Entre -11±1	48
T6	a ₂ *b ₃	Entre -11±1	72
Testigo	Conservación tradicional	Entre 10 y 18	24

Fuente: El investigador

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la evaluación de los datos relacionados a las variables en estudio, se empleó un arreglo factorial A*B analizado por la vía de un Diseño Completamente al Azar (DCA), con seis tratamientos y tres réplicas por cada uno de estos. En la tabla 3 se muestra el esquema del análisis de varianza.

Tabla 3.

Esquema del ANOVA

Fuente de variación	g libertad
Total	20
Tratamiento	6
Factor A	1
Factor B	2
AB	2
Error	9

Fuente: El investigador

Por otra parte, en relación al testigo manejado en esta investigación, para su análisis y contraste con los tratamientos, en la tabla 4 se presenta el esquema del ANOVA.

Tabla 4.

Esquema del ANOVA para tratamientos y testigo.

Fuente de variación	gl
Total	20
Tratamientos	6
Error	9

Fuente: El investigador

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- A los datos microbiológicos relacionados a las principales variables respuesta y reportados por los laboratorios como notación científica, se los transformó a datos logarítmicos (software Microsoft Excel 2016), para analizarlos a través de los supuestos del ANOVA, normalidad con el test estadístico de Shapiro – Wilk y Homogeneidad con el de Levene.
- Los datos de las variables microbiológicas fueron analizados a través de la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis.
- Los niveles de los factores en estudio, fueron analizados a través de gráficos de medias (software Microsoft Excel 2016)
- El contraste de los tratamientos y el testigo, se realizó mediante la prueba no paramétrica de Friedman.
- Lo manifestado anteriormente se llevó a cabo en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 26 (versión libre) (IBM. 2021).

3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL

La unidad experimental estuvo constituida por un chame eviscerado con un peso comprendido entre 360g – 400g que equivale al peso comercial de este pescado. Para la experimentación sólo se utilizaron ejemplares machos.

3.8. VARIABLES

3.8.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

- Temperatura de Almacenamiento (°C)
- Tiempo de Almacenamiento (horas)

3.8.2. VARIABLES DEPENDIENTES

- Calidad Microbiológica (UFC/g - ln)
- Características bromatológicas
 - Proteína (%)
 - Grasa (%)
 - Humedad (%)
 - Cenizas (%)
- Textura
 - Dureza (N)
 - Elasticidad (mm)
 - Cohesividad (N)

3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para el cumplimiento de los objetivos planteados en esta investigación se ejecutaron los siguientes procedimientos.

3.9.1. MÉTODO DE CONSERVACIÓN EN FRÍO DEL CHAME (*Dormitator latifrons*).

- Método de refrigeración $3^{\circ}\text{C} \pm 1$
- Método de congelación $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$

Para estos métodos de conservación se utilizaron dos neveras de marca INDURAMA modelo RI – 385, mismas que preliminarmente se sometieron a pruebas de calibración para conseguir de manera constante las temperaturas requeridas por cada método de conservación planteado. Esto fue posible utilizando un termómetro infrarrojo PCE-889B y una termocupla tipo J.

3.9.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE CONSERVACIÓN DE CHAME

Todos los procesos descritos en cada una de las operaciones se realizaron con la asepsia adecuada, utilizando guantes de nitrilo para la manipulación de las muestras para evitar contaminación cruzada, además, en los procesos posteriores se aplicaron técnicas BPM (buenas prácticas de manufactura).

Recepción de chames (*Dormitator latifrons*): este espécimen fue capturado en el sistema integrado de crianzas de chame del Sr. Ecuador Zambrano, mismo que se encuentra ubicado en la parroquia Santa Rita, sector El mate, en el cantón Chone, ubicado en las coordenadas 00°40.378' S y 80°03'363' W. Los ejemplares a receptor fueron machos en buenas condiciones, sin presencia visible de daños o enfermedades, con un peso comercial por encima de los 360 g de peso vivo, los cuales, inmediatamente después de su captura fueron sacrificados por medio de punción en el cerebro y transportados en cavas isotérmicas con hielo (7 – 15°C) hasta el lugar de trabajo en un tiempo aproximado de 35 min.

Lavado: Los peces fueron lavados con agua clorada a 5 ppm y a temperatura ambiente (22 – 30 °C) para despojarlos de cualquier impureza y restos de suciedad (lodo, algas).

Descabezado y eviscerado: Para ello se escogieron los ejemplares con más de 20 cm de largo para obtener piezas de entre 170- 200 g. Los chames fueron descabezados y eviscerados de forma manual, con un cuchillo de acero inoxidable limpio e higienizado, donde la mayor parte aprovechable del pescado se separó del cuerpo sin extraer filetes, debido a la anatomía de la espina dorsal de este pez para después proceder a lavarlos.

Acondicionamiento: Los chames una vez descabezados, eviscerado y lavados fueron empacados en fundas de vacío Stashe con medidas de 12 x 19 cm, donde se colocó una unidad (chame) por cada funda de acuerdo a las unidades experimentales, empacándolos al vacío con la ayuda de una empacadora ECUAPACK de una barra EV – 300.

Conservación por refrigeración (3°C ±1) y congelación (-11°C ±1): Una vez que los chames fueron acondicionados se procedió a conservarlos a temperatura de refrigeración (3°C ±1) y congelación (-11°C ±1) de acuerdo a los tratamientos planteados. Para esta operación se utilizaron dos neveras de marca INDURAMA modelo RI – 385 las cuales previamente fueron calibradas a 3°C ±1 y -11°C ±1 con la ayuda de un infrarrojo PCE-889B y una termocupla tipo J. En esta operación, los chames fueron preservados durante tiempos de 24, 48 y 72 horas según la combinación de los factores en estudio (Tabla 1).

Preparación de muestra para análisis de laboratorio: Este procedimiento se realizó en un ambiente aséptico en los laboratorios de bromatología del área agroindustrial de la ESPAM “MFL”, donde para la manipulación y toma de muestra, se utilizaron guantes de nitrilo y un bisturí previamente esterilizado. Los análisis microbiológicos se determinaron en el músculo del chame según la norma NTE INEN 1896 (2013), especificada para pescado, fresco, refrigerado o congelado serán: recuento de microorganismos mesófilos (UFC/g), *E. coli* (UFC/g) y *Stafilococcus aureus* (UFC/g).

Análisis Bromatológico: Una vez que se obtuvieron todas las muestras para los análisis microbiológicos se procedió a preparar las muestras para los análisis bromatológicos, mismo que se realizaron en un ambiente aséptico en los laboratorios de bromatología del área agroindustrial de la ESPAM “MFL”, debido a que el músculo del chame para estos análisis debía estar a una temperatura ambiente (22 – 30°C).

Análisis de textura (TPA): una vez realizadas las pruebas microbiológicas se procedió con el análisis de textura (TPA) empleando un texturómetro TA-XT2 (Stable Microsystems, Godalming, UK), con una celda de carga de 50 kg, y el software proporcionado por el fabricante (texture expert exceed, versión 2.63) para cuantificar: dureza (kgf/g), elasticidad y cohesividad.

Almacenamiento: culminada la parte experimental y analítica, los ejemplares de chame se almacena en congelación en una nevera marca INDURAMA modelo RI – 385.

3.9.3. DIAGRAMA DE PROCESO PARA LA CONSERVACIÓN DE CHAME (*Dormitator latifrons*)

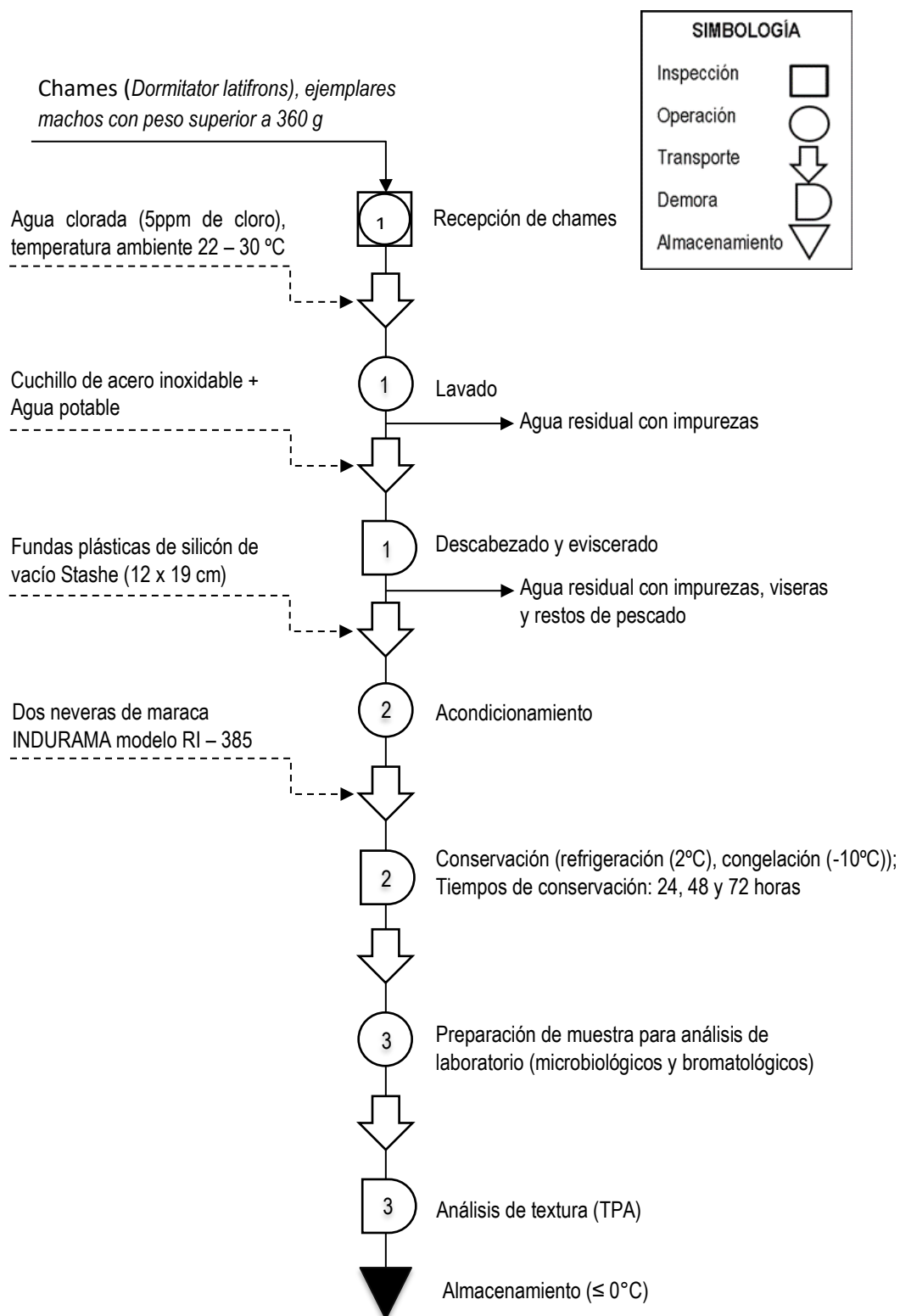


Figura 1.

Diagrama de proceso para la conservación de chame (*Dormitator latifrons*)

3.10. VARIABLES A MEDIR Y MÉTODO DE EVALUACIÓN

3.10.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

En cuanto a los análisis microbiológicos, una vez culminado el tiempo de conservación especificado para los tratamientos en estudio, estos se sometieron a análisis microbiológicos según lo establece la norma NTE INEN 1896 (2013), misma que está especificada para pescados frescos refrigerados o congelados de producción acuícola. Los análisis que se efectuaron se presentan en la tabla 5.

Tabla 5.

Requisitos microbiológicos según la norma NTE INEN 1896: 2013

Requisito	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, (UFC/g)	5×10^4	1×10^5	AOAC 990.12
<i>E. coli</i> , (UFC/g)	< 10	10	AOAC 998.08
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	1000	AOAC 2003.11

Fuente: El investigador

3.10.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS

Una vez que se hayan obtenido todas las muestras para los análisis microbiológicos, se procedió a efectuar los análisis bromatológicos a la carne de chame que se especifican en la tabla 6.

Tabla 6.

Análisis bromatológicos para pescado refrigerado y congelado.

ANÁLISIS	DESCRIPCIÓN	UNIDAD DE MEDIDA	TÉCNICA
Contenido graso	Basado en la extracción líquido-sólido, cíclica y continua, en un equipo micro Soxhlet, empleando pequeñas cantidades de solvente orgánico.	%	AOAC 960.39 A
Humedad	Determinación gravimétrica de la variación de la masa, al secar una cantidad determinada de muestra en una estufa de aire, en el lapso de 16 a 18 horas, a 105 ± 3 °C, hasta obtener un peso constante.	%	(AOAC 950.46 B
Proteína	Basado en tres etapas: Digestión ácida, donde la muestra se sumerge en ácido sulfúrico concentrado. Destilación donde se alcaliniza la muestra anteriormente digestada y Titulación que es la cuantificación del nitrógeno amoniacal.	%	AOAC 981.10
Ceniza	Basado en la calcinación de una cantidad determinada de muestra en una mufla, en el lapso de 3 a 5 horas a 550 °C, hasta obtener un residuo de cenizas de un color ligeramente gris.	%	AOAC 920.153

Fuente: El investigador

3.10.3. DETERMINACIÓN DE TEXTURA

Este análisis se efectuará empleando un texturómetro TA-XT2 (Stable Microsystems, Godalming, UK), con una celda de carga de 50 kg, y el software proporcionado por el fabricante (texture expert exceed, versión 2.63) para cuantificar: dureza (kgf/g), elasticidad y cohesividad. Para esto se cortarán porciones de 1.5 cm x 1.5 cm x 2.0 cm por cada muestra o tratamiento.

El análisis consiste en colocar la muestra sobre placas de acero inoxidable circulares paralelas de 75 mm de diámetro (una fija y otra móvil) con ciclos de doble compresión al 50% de la altura original. (se utiliza una celda de 50 Kg cuyo rango es de 20 Kg), con una velocidad de la sonda de 2 mm/s, y un tiempo de espera de 5 segundos entre cada ciclo (2 ciclos). Se cuantifican los siguientes parámetros: dureza (kgf/g o N), elasticidad y cohesividad (ambas a dimensionales). Estos procedimientos están basados en la investigación de Contreras & Cardiles, (2013) quienes evaluaron microbiológicamente filetes de tilapia, realizando, además, análisis de textura (TPA).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA CARNE DEL CHAME EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO

Como se muestra en la tabla 7, el supuesto de normalidad (Shapiro – Wilk), indicó diferencias estadísticas significativas ($sig. \leq 0,05$) para los datos de las variables *Aerobios mesófilos* y *E. coli*, indicando proliferaciones microbianas distintas entre las temperaturas ($3^{\circ}\text{C} \pm 1$ y $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$) y tiempos (24, 48 y 72 horas) de almacenamiento de la carne de chame (*Dormitator latifrons*), y al no cumplir con el supuesto, no fue necesario realizar la prueba de homogeneidad; no obstante, los datos para la variable *Staphylococcus aureus*, se distribuyeron de manera normal ($sig. \geq 0,05$).

Tabla 7.

Supuesto de normalidad para las variables microbiológicas en estudio.

Variables dependientes	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
<i>Aerobios mesófilos</i>	0,875	18	0,022
<i>E. coli</i>	0,838	18	0,005
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,91	18	0,087

Fuente: El investigador

La prueba de homogeneidad (Levene) para el recuento de *Staphylococcus aureus* (tabla 8), demostró que la variable dependiente no es la misma en el conjunto de la población definida por la combinación de los factores en estudio ($sig. \leq 0,05$), indicando la existencia de poblaciones microbianas distintas entre los tratamientos. Estos datos pasaron a ser analizados a través de la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis

Tabla 8. Supuesto de homogeneidad para la variable *Staphylococcus aureus*.

Contraste de Levene sobre la igualdad de las varianzas error ^a			
Variable dependiente: <i>Staphylococcus aureus</i>			
F	gl1	gl2	Sig.
6,458	5	12	0,004

Fuente: El investigador

4.2. PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS PARA LAS VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EN ESTUDIO

4.2.1. *Aerobios mesófilos*

La prueba de Kruskal – Wallis aplicada a los niveles del factor A (Temperaturas de almacenamiento) indicó diferencias estadísticas significativas ($sig. \leq 0,05$), revelando que las temperaturas de almacenamiento incidieron sobre la carga microbiana (logaritmo natural Ln) de *Aerobios mesófilos* en la carne del chame, rechazando la hipótesis nula y aceptando la alternativa (Ver tabla 9).

Tabla 9.

Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de *Aerobios mesófilos*.

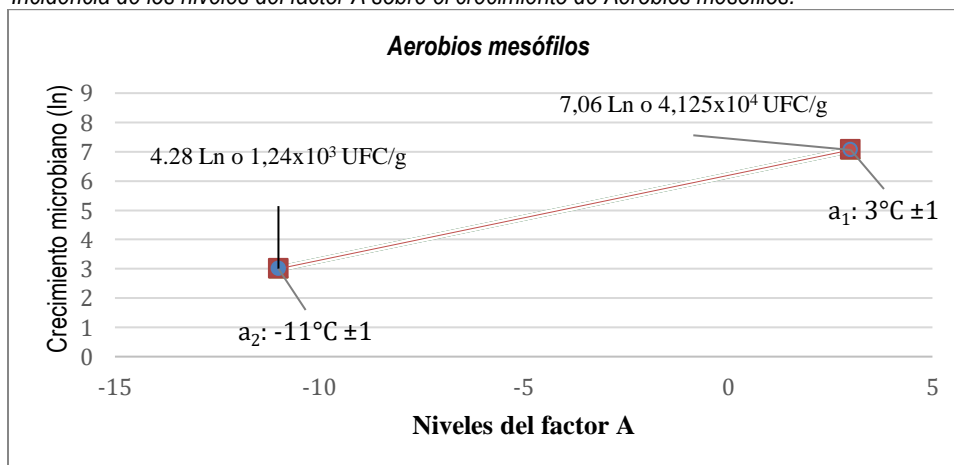
Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Aerobios mesófilos</i> es la misma entre las categorías del factor A (Temperaturas de almacenamiento)	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,000	Rechazar la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

Fuente: El investigador.

Para establecer la incidencia de los niveles del factor A (temperaturas de almacenamiento) sobre el crecimiento de *Aerobios mesófilos*, se aplicó un gráfico de medias donde el nivel a_1 : $3^{\circ}\text{C} \pm 1$ presentó una mayor proliferación de estos patógenos sobre la carne del chame con una media de 7,06 Ln (4.583×10^3), mientras que a $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ la incidencia de estos microorganismos fue más baja con una media de 4,28 Ln (1.24×10^2) (Ver gráfico 1).

Gráfico 1.

Incidencia de los niveles del factor A sobre el crecimiento de *Aerobios mesófilos*.



Fuente: El investigador.

La actividad microbiológica de *Aerobios mesófilos* en la carne de chame presentada en el nivel a_1 : $3^{\circ}\text{C} \pm 1$, se debió principalmente al método de conservación, donde se utilizaron temperaturas de refrigeración, las cuales, según Arias et al. (2019) permiten retardar y reducir la actividad de los agentes degenerativos (microorganismos y enzimas) al eliminar el calor sensible y metabólico del producto; sin embargo, no elimina estos patógenos, razón por la cual la vida en anaquel es limitada para este tipo de alimentos perecederos y conservados bajo estas temperaturas (Salvatierra, 2019).

Por otra parte, se evidenció que en el nivel a_2 : $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ correspondiente a temperatura de congelación, la actividad microbiológica de los *Aerobios mesófilos* sobre la carne de chame, fue disminuyendo progresivamente (ver anexo 1-A), llegando a presentarse como media general de proliferación logarítmica 4,28 Ln (1.24×10^2 UFC/g). Esta reducida actividad se debió a las bajas temperaturas de congelación, la cual inactivó estos patógenos, atendiendo a que los aerobios mesófilos se desarrollan en presencia de oxígeno libre, a la presión ordinaria y a una temperatura comprendida entre 15 y 45°C , siendo el rango óptimo entre 30 y 40°C (Cáceres, 2018; Alvarez, 2021).

Además, estas reducidas proliferaciones bajo los dos métodos de preservación (refrigeración y congelación) a los que se sometió la carne de chame, los cuales no destruyeron los microorganismos, pero los inactivaron, reflejó que los tratamientos previos a la refrigeración y congelación del producto fueron manipulados de una manera correcta, evitando contaminaciones cruzadas (Alvarez, 2021).

En cuanto al factor B (tiempo de almacenamiento), la prueba de Kruskal – Wallis demostró que los tiempos de almacenamiento (24, 48 y 72 horas), no incidieron sobre la proliferación de *Aerobios mesófilos* en la carne de chame, lo cual se comprueba en la tabla 10 donde se sugiere retener la hipótesis nula ($\text{sig.} \geq 0,05$).

Tabla 10.

Prueba de Kruskal – Wallis para el factor B en relación a la carga microbiana de *Aerobios mesófilos*.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Aerobios mesófilos</i> es la misma entre las categorías de tiempo de almacenamiento (Factor B)	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,127	Retener la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

Fuente: El investigador

Para demostrar las diferencias entre los tratamientos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis, misma que indicó diferencias estadísticas significativas (sig. 0,006) entre las medias de la población microbiana de *Aerobios mesófilos* de los tratamientos lo cual, se puede apreciar en la tabla 11, donde se rechaza la hipótesis nula, aceptando la alternativa.

Tabla 11.

Prueba de Kruskal – Wallis para los tratamientos en relación a la carga microbiana de Aerobios mesófilos.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Aerobios mesófilos</i> es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,006	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Fuente: El investigador.

Para demostrar las diferencias entre los tratamientos, se aplicó la prueba de subconjuntos homogéneos, misma que categorizó a los tratamientos de acuerdo a las medias poblacionales de *Aerobios mesófilos* presentes en la carne de chame, lo cual se muestra en la tabla 12.

Tabla 12.

Subconjuntos homogéneos para los tratamientos en relación a de las medias de Aerobios mesófilos.

Subconjuntos para <i>Aerobios mesófilos</i> (medias expresadas en UFC/g)						
		Subconjunto				
		1	2	3	4	5
Muestra ¹	T6 (-11°C ± 1 / 72 horas)	13				
	T5 (-11°C ± 1 / 48 horas)		1,46x10 ²			
	T4 (-11°C ± 1 / 24 horas)		6,4x10 ²	6,4x10 ²		
	T3 (3°C ± 1 / 72 horas)			7,1x10 ²		
	T2 (3°C ± 1 / 48horas)				1,54x10 ³	
	T1 (°C ± 1 / 24 horas)					3,9x10 ⁴

Fuente: El investigador

El análisis estadístico ubicó al T₆ (-11°C ± 1 / 72 horas) en el subconjunto uno con la menor media poblacional de *Aerobios mesófilos* presente en la carne de chame, seguidos del T₅ (-11°C ± 1 / 48 horas) y T₄ (-11°C ± 1 / 24 horas) que se posicionaron en la casilla dos compartiendo categorías, mientras que el T₁ (3°C ± 1 / 24 horas), se ubicó en el subconjunto cinco con la mayor carga promedio de este patógeno en la carne de chame. En la interacción de factores se pudo apreciar que las temperaturas de almacenamiento (factor A) ejercieron mayor influencia sobre la carga microbiana, en especial, la de congelación (-11°C), reduciendo en mayor proporción la actividad de los aerobios mesófilos.

La norma NTE INEN 1896 (2013), establece que los requisitos microbiológicos para pescado fresco, refrigerado y congelado, en relación al recuento de microorganismos mesófilos debe ser máximo de: 1×10^5 UFC/g (11, 51 Ln). En este sentido, y de acuerdo a los reportes de laboratorios (ver anexo 1-A), todos los tratamientos estuvieron dentro de los parámetros establecidos, resultando útil para esta investigación debido a que, según Cevallos, (2020) permite conocer el grado general de contaminación bacteriana o el nivel de higiene aplicado durante la manipulación de los filetes de chame, lo cual, de acuerdo a los resultados microbiológicos, resultó favorable.

4.2.2. *E. coli*

La prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis aplicada a los niveles del factor A (temperaturas de almacenamiento) indicó diferencias estadísticas significativas (*sig.* $\leq 0,05$), revelando la incidencia que tuvieron las diferentes temperaturas de almacenamiento sobre la carga microbiana (Ln) de *E. coli* en la carne del chame, rechazando la hipótesis nula y aceptando la alternativa (tabla 13.)

Tabla 13.

Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de E. coli.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>E. coli</i> es la misma entre las categorías de temperatura de almacenamiento (factor A)	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,014	Rechazar la hipótesis nula.

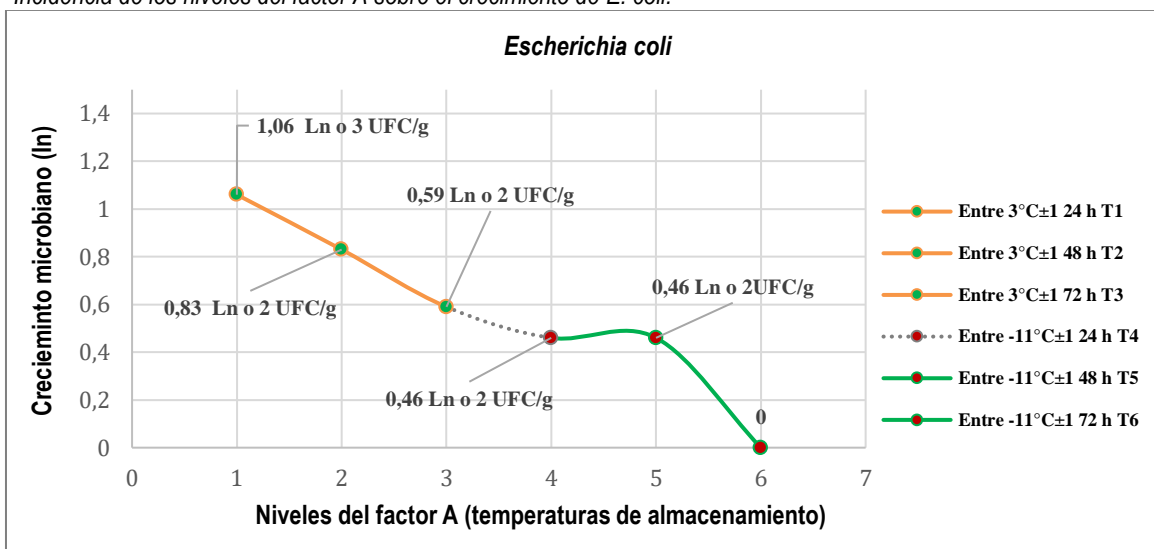
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Fuente: El investigador.

Las incidencias causadas por los niveles del factor A (temperaturas de almacenamiento) sobre la proliferación microbiana de *E. coli*, se demostraron a través de un gráfico de medias, donde se puede apreciar que en la temperatura de almacenamiento $3^{\circ}\text{C} \pm 1$ se produjo un mayor crecimiento de este patógeno, mientras que a $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ esta población bacteriana fue disminuyendo en cuanto a su recuento, siendo menos incidente sobre la carne de chame, reportándose incluso como ausencia para el tratamiento T₆, tal y como se lo demuestra en el gráfico 2.

Gráfico 2.

Incidencia de los niveles del factor A sobre el crecimiento de *E. coli*.



Fuente: El investigador

Como ya lo manifestó Arias et al. (2019) y Salvatierra, (2019), a temperaturas de refrigeración los microorganismos se mantienen en estado latente; sin embargo, su proliferación se ve disminuida, sobre todo en congelación, donde se reduce su actividad enzimática y metabólica, siendo para algunos casos parcial y en otros, total; como se lo demostró en el gráfico 2. Es por esto que la población microbiana de *E. coli* sobre la carne de chame, se vio reducida cuando se utilizaron temperaturas de congelación a $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ (factor A, nivel a₂), debido a que este microorganismo le favorecen rangos entre 7 y 50°C , siendo la óptima de 37°C para su crecimiento (Cedeño et al., 2021).

En cuanto al factor B (tiempo de almacenamiento), la prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis demostró que los tiempos de almacenamiento (24, 48 y 72 horas), no incidieron sobre la proliferación de *E. coli* en la carne de chame, mismo que se puede comprobar con lo expuesto en la tabla 14 donde el análisis sugirió retener la hipótesis nula ($\text{sig.} \geq 0,05$).

Tabla 14.

Prueba de Kruskal – Wallis para el factor B en relación a la carga microbiana de *E. coli*.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>E. coli</i> es la misma entre las categorías de tiempo de almacenamiento (factor B)	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,222	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Fuente: El investigador

Para establecer diferencias entre los tratamientos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, la que demostró, que no existen diferencias estadísticas significativas entre las medias de los tratamientos ($sig. \geq 0,05$), es decir, la carga microbiana de *E. coli*, estadísticamente es la misma para todos los tratamientos, lo que se demuestra en la tabla 15, donde el análisis sugiere retener la hipótesis de igualdad.

Tabla 15.

Prueba de Kruskal – Wallis para los tratamientos en relación a la carga microbiana de E. coli.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>E. coli</i> es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,102	Retener la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

Fuente: El investigador

A pesar de que no hubo diferencias estadísticas entre las medias poblacionales de *E. coli*, todos los tratamientos presentaron UFC/g menores de 10 (Ver anexo 1-A), estando dentro de lo establecido por la norma NTE INEN 1896 (2013), misma que establece que los requisitos microbiológicos para pescado fresco, refrigerado y congelado debe ser máximo de: 10 UFC/g (2,30 Ln) para *E. coli*.

Según Suarez (2016), la *E. coli* es un microorganismo que prolifera y transmite muy fácilmente a través de la manipulación, misma que se da, desde los pescadores y vendedores al momento del contacto físico con el pez, resultando ser los principales causantes del aumento en el recuento microbiano de esta flora patógena. Lo anterior se ve claramente sustentado, debido a la mala manipulación del pez, donde los operarios no realizan un lavado y secado de manos correcto, es decir, poseen una inadecuada higiene y baja educación sanitaria (Palma, 2021).

Según Barbaran (2019) otro aspecto importante a destacar es el manejo y manipulación del pescado cuando sufre un proceso de cortado y fileteado debido a que se produce mayor contacto con el manipulador, con superficies y con los utensilios que pudieran estar contaminados, exponiendo el alimento a un mayor riesgo de proliferación patógena. En este sentido, y de acuerdo a la carga microbiana de *E. coli* reportada en la carne de chame, los procesos de manipulación fueron los correctos.

4.2.3. *Staphylococcus aureus*

La prueba de Kruskal – Wallis aplicada a los niveles del factor A (temperaturas de almacenamiento) demostró diferencias estadísticas significativas ($sig. \leq 0,05$), señalando que las temperaturas de almacenamiento empleadas en la conservación de la carne de chame, incidieron sobre la carga microbiana (Ln) de *Staphylococcus aureus*, rechazando la hipótesis nula y aceptando la alternativa, mismo que se aprecia en la tabla 16

Tabla 16.

Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de *Staphylococcus aureus*.

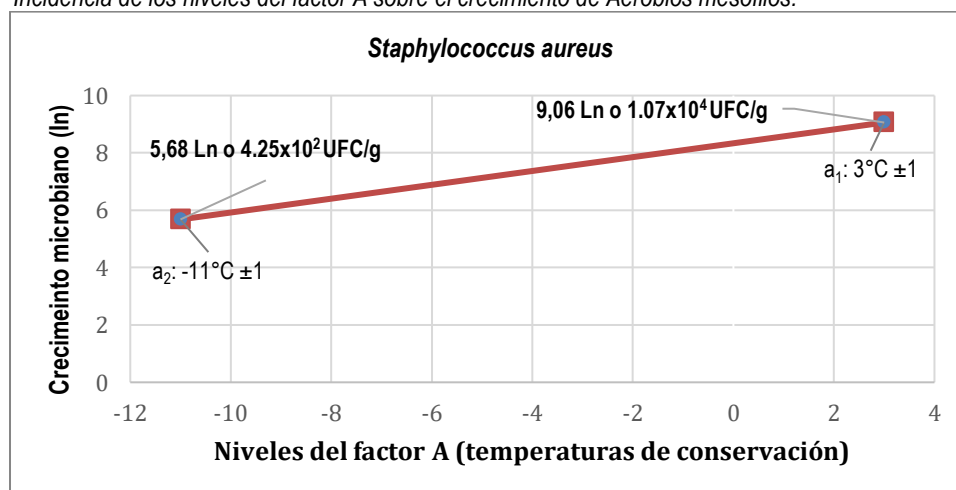
Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Staphylococcus aureus</i> es la misma entre las categorías de temperatura de almacenamiento (factor A)	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,00	Rechazar la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

Fuente: El investigador.

En aras de demostrar la incidencia de los niveles del factor A (temperaturas de almacenamiento) sobre la proliferación de *Staphylococcus aureus*, se aplicó un gráfico de medias (Gráfico 3.) donde se aprecia que el nivel a_1 : $3^{\circ}\text{C} \pm 1$, presentó la mayor media logarítmica de crecimiento ($9,06 \text{ Ln}$ o $1,7 \times 10^4 \text{ UFC/g}$), mientras que a $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$ (a_2) la proliferación de *S. aureus* fue menor ($5,68 \text{ Ln}$ o $4,25 \times 10^2 \text{ UFC/g}$), indicando que estas temperaturas de almacenamiento correspondientes a congelación, son más favorables para preservar la carne de chame.

Gráfico 3.

Incidencia de los niveles del factor A sobre el crecimiento de Aerobios mesófilos.



Fuente: El investigador

A pesar de que los métodos de almacenamiento en la preservación de la carne de chame no frenaron totalmente la actividad enzimática de los *S. aureus*, el análisis demostró que las temperaturas de refrigeración ($3^{\circ}\text{C} \pm 1$) no fueron tan eficientes como las de congelación ($-11^{\circ}\text{C} \pm 1$), debido a que estos patógenos se desarrollan a temperaturas comprendidas entre $30 - 37^{\circ}\text{C}$; sin embargo, pueden llegar a desarrollarse a temperaturas de entre $15 - 45^{\circ}\text{C}$ (Sánchez y Chiquillo, 2019; Cevallos, 2020).

La congelación es efectiva porque reduce la actividad del agua e inhibe el crecimiento bacteriano. La baja actividad de agua (a_w) en el pescado congelado, debido a los procesos de congelación y formación de hielo, inhibe la actividad microbiana y provoca la muerte de algunos microorganismos. En este sentido, el congelado preserva el pescado debido a una combinación de la reducción de temperatura y una disminución de la actividad del agua (Barbaran, 2019).

Por otra parte, la prueba no paramétrica de Kruskal – Wallis en contraste con los niveles del factor B (tiempo de almacenamiento), demostró que los tiempos de almacenamiento (24, 48 y 72 horas), no incidieron sobre la proliferación de *Staphylococcus aureus* en la carne de chame, lo cual se demuestra en la tabla 17 donde el análisis sugirió retener la hipótesis nula ($\text{sig.} \geq 0,05$).

Tabla 17.

Prueba de Kruskal – Wallis para el factor A en relación a la carga microbiana de Staphylococcus aureus.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de <i>Staphylococcus aureus</i> es la misma entre las categorías del factor B (tiempo de almacenamiento)	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,188	Retener la hipótesis nula.
Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.				

Fuente: El investigador.

Para demostrar las diferencias entre los tratamientos, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis, misma que indicó diferencias estadísticas significativas ($\text{sig.} \leq 0,05$) entre las medias de la población microbiana de *Staphylococcus aureus*, lo cual se puede apreciar en la tabla 18, donde se rechaza la hipótesis nula, aceptando la alternativa.

Tabla 18.

Prueba de Kruskal – Wallis para los tratamientos en relación a la carga microbiana de *Staphylococcus aureus*.

Resumen de prueba de hipótesis			
Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1 La distribución de <i>Staphylococcus aureus</i> es la misma entre las categorías de tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,006	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Fuente: El investigador.

Para demostrar las diferencias cuantitativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba de subconjuntos homogéneos, misma que categorizó a los tratamientos de acuerdo a las medias poblacionales (UFC/g) de *Staphylococcus aureus* presente en la carne de chame, lo cual se muestra en la tabla 19.

Tabla 19. Subconjuntos homogéneos para los tratamientos en relación a las medias de *Staphylococcus aureus*

Subconjuntos para <i>Staphylococcus aureus</i> (medias expresadas en UFC/g)					
	Subconjunto	Subconjunto			
		1	2	3	4
Muestra ¹	T6 (-11°C ± 1 / 72 horas)	1.17x10 ²			
	T5 (-11°C ± 1 / 48 horas)	1.42 x10 ³	1.42 x10 ³		
	T4 (-11°C ± 1 / 24 horas)	2.06x10 ³	2.06x10 ³		
	T3 (3°C ± 1 / 72 horas)		1.2x10 ⁴		
	T2 (3°C ± 1 / 48horas)			2.46x10 ⁴	
	T1 (°C ± 1 / 24 horas)				6x10 ⁴

Fuente: El investigador.

El análisis estadístico ubicó al T₆ (-11°C ± 1 / 72 horas), T₅ (-11°C ± 1 / 48 horas) y T₄ (-11°C ± 1 / 24 horas) en el subconjunto uno con las menores medias poblacionales de *Staphylococcus aureus* compartiendo categorías, indicando que la carga microbiana, estadísticamente, es la misma, mientras que el T₁ (3°C ± 1 / 24 horas) se ubicó en el subconjunto cuatro con la mayor media de proliferación para este patógeno (6x10⁴ UFC/g). En la interacción de factores se pudo apreciar que las temperaturas de almacenamiento (factor A) ejercieron mayor influencia sobre la carga microbiana.

La norma NTE INEN 1896 (2013), establece que los requisitos microbiológicos para pescado fresco, refrigerado y congelado, en cuanto al recuento de *Staphylococcus aureus* debe ser máximo de: 1000 UFC/g. En este sentido, y de acuerdo a los reportes de laboratorios (ver anexo 1-A), el T₆ preservado a temperatura de congelación presentó recuentos de 1.17x10² UFC/g, estando dentro de lo establecido por la norma antes mencionada; mientras que, los demás tratamientos,

presentaron cargas microbianas de *Staphylococcus aureus* fuera de los parámetros (tabla 19).

Esta contaminación de los tratamientos estuvo relacionada con la presencia de los *Staphylococcus aureus* en el ambiente, debido a que, según Cevallos, (2020), estos patógenos son organismos comunes y se pueden encontrar en el agua, el aire, el polvo, las aguas residuales, las aceras, otras superficies y en todos los objetos con los que los humanos entran en contacto y sobreviven muy bien en el medio ambiente. No obstante, su principal reservorio y hábitat es la nariz, garganta y piel del hombre, así como de animales, esto explica que la presencia de *S. aureus* en la carne de chame, se debió a un manejo inadecuado en el proceso y una incorrecta manipulación, generando contaminación cruzada.

Por lo antes manifestado, el T₆ (-11°C ±1 a 72 horas) fue el tratamiento que presentó mejor estabilidad microbiológica de acuerdo a la norma NTE INEN 1896 (2013), presentado medias de *Aerobios mesófilos* de 13 UFC/g, *E. coli* de 0 UFC/g, *Staphylococcus aureus* 1.17x10² UFC/g, indicando que el mejor método de conservación de la carne de chame fue a -11°C ±1 con tiempos de 72 horas, lo que además permite aceptar la hipótesis de investigación.

4.3. TRATAMIENTOS Y TESTIGO COMERCIAL

Para demostrar las diferencias entre los tratamientos y el testigo en relación con a la carga microbiana de *Aerobios mesófilos*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, se aplicó la prueba paramétrica de Dunnett; misma que permitió realizar comparaciones planeadas de cada tratamiento con el grupo control, donde se evidenciaron diferencias altamente significativas (*sig.*< 0,05), exceptuado la comparación del T₁ en relación de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus*, donde estadísticamente no hay diferencias al presentar una significancia mayor a 0,05 (ver anexo 2-A)

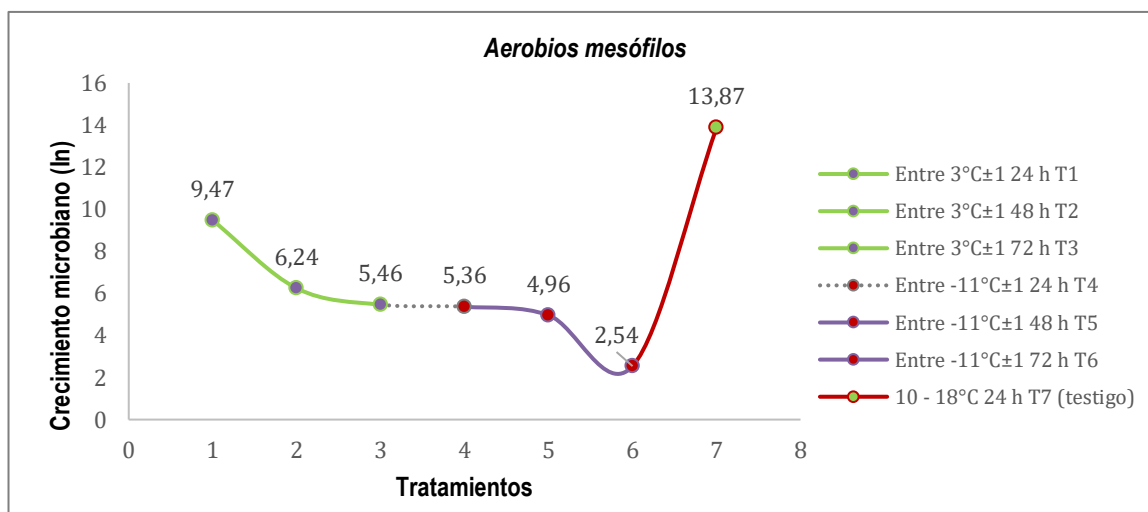
Para demostrar las diferencias entre los tratamientos y el testigo, se aplicaron gráficos de medias en relación de la carga microbiana, los cual se evidencia a continuación.

4.3.1. *Aerobios mesófilos*

El análisis indicó que la carga microbiana de aerobios mesófilos fue de 3.2×10^6 UFC/g (13,87 Ln) para el testigo, siendo superior a las medias de proliferaciones de los tratamientos bajos lo métodos de refrigeración y congelación, tal y como se lo demuestra en el gráfico 4, recalcando que de acuerdo a la norma NTE INEN 1896 (2013), el testigo superó los límites establecidos, lo cuales deben ser de: 1×10^5 UFC/g (11, 51 ln).

Gráfico 4.

Medias de recuento de *Aerobios mesófilos* (Ln) para tratamientos y testigo.



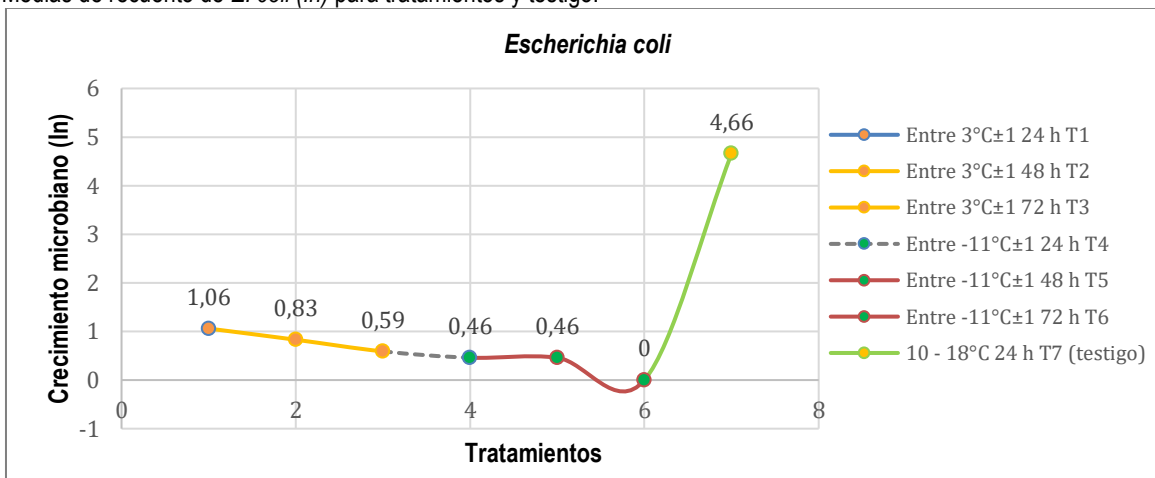
Fuente: El investigador

4.3.2. *E. coli*

En cuanto al recuento de *E. coli*, el testigo presentó una media de 2.2×10^2 UFC/g (4,66 Ln), la cual fue superior a las medias poblacionales de los tratamientos, mismas que se situaron entre 0 y 9 UFC/g (0 - 1,06 Ln), resaltando que el método de congelación, indistintamente de los tiempos de almacenamiento, fue más eficiente para la preservación de la carne de chame (Gráfico 5). El testigo ostentó una media poblacional de *E. coli* superior a lo establecido por la norma NTE INEN 1896 (2013), misma que indica un máximo de 10 UFC/g (2,30 ln).

Gráfico 5.

Medias de recuento de *E. coli* (Ln) para tratamientos y testigo.



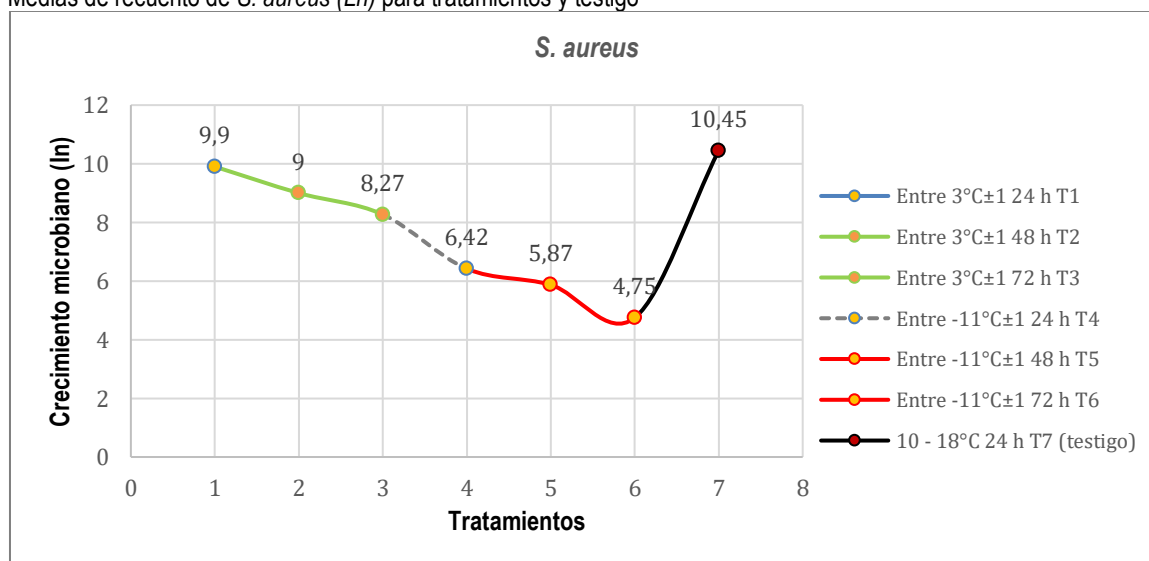
Fuente: El investigador

4.3.3. *S. aureus*

La actividad de los *S. aureus*, tuvo mayor incidencia entre los tratamientos, especialmente en aquellos preservados bajo refrigeración (3°C ±1); estando incluso fuera del límite máximo establecido por la norma NTE INEN 1896 (2013), el cual corresponde a 1000 UFC/g (6,90 Ln); siendo el testigo quien presentó la mayor media poblacional 1.04x10⁵ UFC/g (10,45 Ln), estando muy por encima de los límites establecidos, evidenciando malas prácticas de higiene y manipulación (Gráfico 6).

Gráfico 6.

Medias de recuento de *S. aureus* (Ln) para tratamientos y testigo



Fuente: El investigador

Lo antes mencionado deja en evidencia que los pequeños centros de ventas y mercados donde se expende el chame y otros peces, son un foco significativo de contaminación microbiana debido a una mala manipulación desde que el pez es capturado hasta su venta; sin embargo, existen otros aspectos a considerar como la procedencia del producto, debido a que según Sánchez y Chiquillo, (2019) la calidad microbiológica del pescado también está relacionada con los estanques piscícolas, ya que estos requieren condiciones específicas para la producción de su carne. Asimismo, se ha considerado la cadena productora de pescado como un vehículo de transmisión de microorganismos, principalmente bacterias.

En este sentido, se puede afirmar que la procedencia de los chames en esta investigación fue determinante, debido a que estos fueron adquiridos de un sistema de crianza integrado por geomembrana en el cantón Chone – Manabí, donde los peces no estuvieron en contacto directo con el suelo y aguas naturales durante su crianza, lo que indica que su flora patógena inherente no fue excesiva (tratamientos) como la de los testigos, los cuales fueron capturados en estuarios naturales donde la contaminación es evidente, comprometiendo la higiene del producto desde la captura, sumado a esto la mala manipulación que recibe por parte de los expendedores.

Por su parte Sánchez y Chiquillo, (2019) mencionan que la carga microbiológica en la carne de pescado, es producto de la contaminación del alimento que se origina desde el sacrificio del animal hasta el procesamiento para ser distribuido. Si bien, el tejido muscular del pescado es en sí un medio estéril y altamente nutritivo que favorece la colonización bacteriana, existen otras características como una elevada actividad de agua (a_w) y un pH cercano a 7. Siendo así, esto explica la alta actividad microbiológica patógena que se dio en los chames que sirvieron de testigos en esta investigación, los cuales se adquirieron en un mercado popular (Calceta – Manabí) donde la mala manipulación fue evidente debido a su contaminación microbiana (ver anexo 1-A).

Romero y Negrete, (2011) realizaron análisis bacteriológicos en peces, evidenciando que las muestras de pescado recién capturado presentaron una flora bacteriana significativa. Lo anterior demuestra que los peces desde que están en el medio ambiente natural se encuentran contaminados por bacterias patógenas de

origen humano y animal y su mal manejo en mercados incrementa significativamente su contaminación.

Lo antes mencionado se ve respaldado por el hecho de que, en el pescado fresco, las bacterias normalmente se encuentran en el moco externo, las branquias y los intestinos. Este deterioro se debe a la oxidación química de los lípidos, al crecimiento microbiano y al metabolismo; si el pescado no se eviscera rápidamente, algunas bacterias pueden atravesar los intestinos y llegar al tejido muscular. En este sentido, la ventaja del chame es que al ser un pez pulmonado que puede sobrevivir entre 3 y 5 días fuera del agua, su calidad puede ser asegurada con una correcta manipulación al momento de su sacrificio (Cevallos, 2020).

4.4. CARACTERÍSTICAS BROMATOLÓGICAS DE LOS TRATAMIENTOS

La prueba de Dunnett indicó que no existieron diferencias estadísticas (sig. > 0.05) entre los tratamientos y el testigo para la variable humedad, mientras que en cenizas (%), existen diferencias altamente significativas (sig. < 0.05), donde el testigo presentó la media más alta (tabla 20). En cuanto al porcentaje de proteína, las diferencias de medias son significativas (sig. < 0.05), a excepción del T1, el cual, estadísticamente presentó el mismo promedio que el testigo, posicionándose con los promedios mas altos. Para el porcentaje de grasa, el análisis estadístico demostró que, las únicas diferencias (sig. < 0.05) se dieron entre el T1 y testigo, mientras que en los demás tratamientos las medias fueron estadísticamente iguales (ver anexo 6-A).

Para ejemplificar de mejor manera las diferencias, en la tabla 20 se presentan las características bromatológicas de los tratamientos posterior a los procesos de almacenamiento, haciendo énfasis en que los chames que estuvieron en congelación ($-11^{\circ}\text{C} \pm 1$), presentaron porcentajes de proteína más bajos, de hecho, se puede apreciar que, entre más tiempo de almacenamiento se dio, indistintamente de la temperatura, la proteína bruta de la carne de chame disminuyó.

Tabla 20. Características bromatológicas de los tratamientos.

Parámetros (%)	3°C ± 1			-11°C ±1			10 – 18°C
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	Testigo
Humedad	83,78	83,73	83,54	84,02	81,88	81,09	80,12
Ceniza	0,66	0,66	0,86	0,94	0,77	0,84	1,09
Proteína	13,71	13,03	12,87	12,38	11,42	11,14	13,81
Grasa	0,49	0,43	0,48	0,46	0,4	0,39	0,42

Fuente: El investigador

Dentro de las características bromatológicas se resaltó el porcentaje de proteína debido a que, dentro de los procesos de almacenamiento a bajas temperaturas, (refrigeración y congelación), este es el parámetro más afectado. Así lo destaca Zaritzky, (2012), quien indica que los cambios químicos más significativos que ocurren durante el almacenamiento en congelación son: reacciones enzimáticas, desnaturalización y oxidación de proteínas, oxidación de lípidos y degradación de proteínas. De los diferentes tipos de reacciones las que tienen mayor efecto en la degradación de los alimentos congelados son la desnaturalización de proteínas y la oxidación de lípidos.

Esto explica los porcentajes de proteína obtenidos en los tratamientos 4, 5 y 6, mismos que estuvieron preservados a temperaturas de congelación y que resultaron ser más bajos que los conservados en refrigeración. Por su parte, el testigo, que se mantuvo a temperaturas más elevadas (10 -18°C) ostento los promedios más altos de proteína (13,81%) corroborando que, a menor temperatura de conservación, mayor desnaturalización de proteínas existe, mismos que se puede corroborar en la tabla 20.

En la misma línea, es conocido que la baja remoción de calor da como resultado un congelado lento (velocidad de congelación alrededor de 0,2 cm /h), produciéndose cristales de hielo comparativamente grandes en tamaño y baja cantidad, los cuales pueden causar la ruptura de las membranas celulares, una pérdida de fluidos y cambios en la textura del producto descongelado (Zaritzky, 2012), corroborando aún más los procesos de desnaturalización dados en aquellos tratamientos preservados a temperatura de congelación (-11°C ±1).

Durante la descongelación, se pierde líquido de la estructura muscular, lo que puede explicarse por la desnaturalización de las proteínas durante la congelación,

lo que da como resultado la pérdida de la capacidad de retención de agua. La desnaturalización de las proteínas depende de la concentración y temperatura (Barbaran, 2019)

El aumento de la concentración de enzima aumenta el grado de desnaturalización y la disminución de la temperatura disminuye el grado de desnaturalización. De hecho, a medida que la temperatura disminuye, la mayor parte del agua se convierte en hielo y la concentración de enzimas en la solución aumenta, por lo que, por debajo del punto de congelación del agua, la concentración de enzimas y la temperatura están estrechamente relacionadas. (Hurtado, 2014).

De acuerdo con Barbaran (2019) el rango óptimo de temperatura para la desnaturalización es de -1°C a -2°C , entonces, el tiempo para atravesar esa zona de temperatura durante el congelado debe ser tan corto como sea posible, a fin de reducir al mínimo el goteo en el descongelado. De esta manera, se puede explicar los demás análisis bromatológicos como humedad, cenizas y grasa, los cuales también se vieron afectados, sobre todo, para aquellos tratamientos que estuvieron en congelación (T4, T5 y T6), donde las medias para estos parámetros bromatológicos, fueron más bajos, tal y como se lo aprecia en la tabla 20.

Esta es la principal diferencia desde el punto de vista de la calidad entre congelado lento y rápido del pescado. Esto explica, las pérdidas de proteína en la carne de chame en almacenamiento a $-11^{\circ}\text{C} \pm 1$, debido a las pequeñas fluctuaciones de temperatura y a que el congelamiento fue lento, produciendo una desnaturalización proteica, donde los cristales de hielo crecieron extrayendo agua ligada a las proteínas, de manera que esta agua al perderse durante el descongelamiento también arrastró nutrientes hidrosolubles (Alvarez, 2021).

A temperatura ambiente el pescado se deteriora alcanzando niveles de putrefacción a partir de los 2 días, explicando que esto se debe a la descarboxilación de aminoácidos por acción microbiana y hasta de autólisis; entonces, si el chame faenado obtenido en el mercado de Calceta – Bolívar que sirvió de testigo en esta investigación hubiera sido objeto de estudio a las 48 horas, los resultados hubieran revelado características de putrefacción (Hurtado, 2014).

4.5. PERFIL DE TEXTURA AL MEJOR TRATAMIENTO

El T₆ fue el mejor de los tratamientos en relación a sus características microbiológicas de acuerdo a la norma NTE INEN 1896 (2013), por lo cual, este fue sometido a un perfil de textura (TPA), resultados que se presentan en la tabla 22.

Tabla 22. Perfil de textura del mejor tratamiento microbiológicamente estable.

Dureza (N)	Elasticidad (mm)	Cohesividad
12,41 ± 1,37	14,44 ± 0,29	0,75 ± 0,16

Fuente: El investigador

A pesar de que los análisis microbiológicos demostraron que el tratamiento 6 (-11°C ±1 a 72 horas) fue el más estable, el perfil de textura demostró que las características de dureza (N), elasticidad (mm) y cohesividad, no fueron inherentes de la carne de chame, debido a que, durante el proceso de congelación, la desnaturalización proteica provocada por los cristales de hielo (congelación lenta), extrajo agua ligada arrastrando proteínas durante el descongelamiento, de manera que esta agua al perderse también arrastró otros nutrientes hidrosolubles, proceso que cambió la textura del pescado, disminuyendo la solubilidad y valor nutritivo (Barbaran, 2019).

La textura es una propiedad muy importante del músculo del pescado, ya sea crudo o cocido. El músculo del pescado puede tornarse duro como resultado del almacenamiento en congelación, o suave y blando debido a la degradación autolítica (Alvarez, 2021). Esto explica la media de dureza obtenida de la carne de chame (12,41 ± 1,37), la cual es relativamente baja debido a los procesos de desnaturalización y degradación autolítica sufrida durante el descongelamiento del chame.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- El T₆ (-11°C ±1 a 72 horas) presentó las mejores características microbiológicas, mostrando recuentos de *Aerobios mesófilos* de 13 UFC/g (2,54 Ln), *E. coli* como ausencia y *Staphylococcus aureus* de 1,17x10² UFC/g (4,75 Ln), medias que de acuerdo a la norma NTE INEN 1896 (2013) estuvieron dentro de lo establecido, indicando que la congelación y el almacenamiento a 72 horas fue el mejor método de preservación para la carne de chame.
- El porcentaje de proteína en la carne de chame demostró que la congelación no fue un método eficiente en la preservación de las características bromatológicas debido a que, al haber sido la congelación lenta, está produjo cristales de hielo de diversos tamaños en la estructura muscular del pez que al momento de la descongelación provocaron una desnaturalización proteica lo cual se comprobó contrastando los tratamientos que estuvieron en refrigeración, en los cuales no se dio este problema presentando porcentajes de proteína más alto.
- El perfil de textura realizado al T₆ (-11°C ±1 a 72 horas) al ser el tratamiento más establece microbiológicamente demostró medias de dureza de 12,41 ± 1,37 (N), elasticidad de 14,44 ± 0,29 (mm) y cohesividad de 0,75 ± 0,16, características no deseables en la carne de chame, las cuales se dieron por procesos de desnaturalización y degradación autolítica sufrida durante la congelación y descongelación del chame.

4.2. RECOMENDACIONES

- Se deben continuar las investigaciones para determinar la utilidad de los sistemas de refrigeración y congelación y establecer la incidencia de otros microorganismos como *Salmonella*, *Vibrio Cholerael* y *Vibrio parahaemolyticus* que se dan en pescado fresco, refrigerado y congelado.
- Para establecer una curva de crecimiento microbiana y observar su comportamiento en función del tiempo se deben estudiar tiempos de almacenamiento más prolongado que superen mínimo una semana.
- Estudiar los tejidos del pescado a nivel microscópico posterior a los procesos de congelamiento y descongelamiento permitiría establecer que tan agresivo son los procesos de congelación lente sobre la carne de peces.
- Se recomienda trabajar en especies acuícolas poco estudiadas o autóctonas para ampliar la información científica sobre estos peces y poder llevar a cabo nuevas investigaciones que permitan obtener otras ópticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuacultura, C. E. (2017). Evaluación del potencial acuícola de *Dormitator maculatus* (Bloch, 1792) de la laguna de Alvarado, Veracruz (TESIS DOCTORAL) recuperado de Repositorio Digital Instituto Tecnológico de Boca del Río).
- Acuña, L., (2018). Efecto de compuestos fenólicos de cáscara y pulpa de mango (*Mangífera indica* L.) en la conservación de filetes de pescado albacora, manta 2018 Repositorio Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí Recuperado de: <https://repositorio.ulead.edu.ec/handle/123456789/1660>
- Aiman, L, y Elizabeth, E. (2018). Impacto de los factores ecológicos en los ecosistemas del chame (*Dormitator latifrons*) en la seña de canuto cantón Chone Repositorio Digital UNESUM Recuperado de: <http://repositorio.unesum.edu.ec/handle/53000/1075>.
- Almeida, C. (2013). Incidencia *Staphylococcus aureus* en la carne de pollo faenado que se expende en el mercado municipal del cantón Quevedo Repositorio Universidad de Guayaquil. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia). Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/2390>
- Alonso, L, X., y Poveda, J. (2008). Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas Petrifilm™ 3MTM para el análisis de alimentos. Repositorio Pontificia Universidad Javeriana de Colombia. Recuperado de <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8238>
- Avdalov, N. (2015). Manual de calidad y procesamiento para venta minorista de pescado. Proyecto: “Mejoramiento de los mercados internos de productos pesqueros en América Latina y el Caribe. Recuperado de <https://www.infopesca.org/sites/>
- Alvarez, T. (2021). Tesis de pregrado. Efectos de la congelación y ultracongelación en la estructura y textura de frutas y vegetales: Una revisión bibliográfica de datos publicados. Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Tungurahua, Ecuador. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream>
- Arias, S., Ceballos, A., & Gutiérrez, L. (2019). Evaluación de los parámetros del proceso de congelación para la pulpa de Acai. *Revista Tecnológicas*, 22(46), 25 - 38. doi:<https://doi.org/10.22430/22565337.1117>
- Barbaran, R. (2019). Tesis de pregrado. Conservación de pescado bajo congelamiento y producción de hielo en bloques”. Universidad Nacional de Ucayali, Pucallpa, Perú.
- Barragán, M., & Ayaviri, D. (2018). tica del Consumo en la Gestión de la Seguridad Alimentaria en el Cantón Santo Domingo de los Colorados Ecuador. *Información tecnológica*, 9(16), 143 - 156. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000500143>

- Bdillo, D., Zaragoza, F., Vega, F., López, J., Herrera, S., Cueto, L., & Guerrero, S. (2018). Requerimiento de proteína y lípidos para el crecimiento de juveniles del pez nativo *Dormitator latifrons* (Richardson, 1844). *Revista Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 5(14), 345 - 351. doi:DOI: 10.19136/era.a5n14.1554
- Castañeda, D. (2016). Análisis de la pérdida de textura de la carne de Yamú (*Brycon amazonicus*) por efecto de la congelación. Recuperado del Repositorio Universidad Nacional de Colombia institucional Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA). (Tesis Maestría) <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/56028>
- Cáceres, M. (2018). Tesis de pregrado. Determinación de la calidad microbiológica de cosméticos capilares elaborados a base de compuestos naturales comercializados en Lima Metropolitana. Universidad Ricardo Palma - Escuela Profesional de Biología, Lima, Perú. Obtenido de https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/URP/1750/Caceres_mp.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Campuzano, S., Mejía, D., Madero, C., & Pabón, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá. *Revista D.C. NOVA*, 13(23), 81 - 92.
- Campuzano, S., Mejía, D., Madero, C., & Pabón, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. *Revista NOVA*, 13(23), 81 - 92.
- Castillo, A., Montalvo, C., Ramírez, C., & Bolívar, G. (2017). Control del deterioro microbiológico de filetes de tilapia mediante la aplicación de bacterias lácticas. *Revista ORINOQUIA*, 21(2). doi:<https://doi.org/10.22579/20112629.415>
- Castillo, Angélica, Montalvo, C., Ramírez, C., & Bolívar, G. (2017). Control del deterioro microbiológico de filetes de tilapia mediante la aplicación de bacterias lácticas. *ORINOQUIA - Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta.*, 21(2), 1 - 8.
- Cedeño, A., Vargas, P., Talledo, M., & Cuenca, G. (2021). Evaluación Microbiológica de Pescado Fresco Albacora (*Thunnus alalunga*) en el Mercado Central del Cantón Chone. *La Técnica: Revista de las Agrociencias*, 69 - 77. Obtenido de <https://revistas.utm.edu.ec/index>
- Cevallos, E. (2020). Tesis de pregrado. "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE FILETE DE CHAME (*Dormitator latifrons*) PROVENIENTE DEL MERCADO MUNICIPAL DE CALCETA". Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Mocache, Los Ríos. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec>
- Contreras, O., & Cardiles, C. (2013). Evaluación de la calidad físico-química, microbiológica y sensorial de filetes de tilapia (*Oreochromis niloticus*) marinados en frío (4°C). UNIVERSIDAD DE CARTAGENA FACULTAD DE

INGENIERÍAS: PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
CARTAGENA DE INDIAS, Cartagena.

- Concha, OP, Fonseca, S, Flery, S, Rodrigo, S, y Parodi, J. (2017). Aditivos Mucogénicos para el Control de *Caligus rogercresseyi* en Salmón del Atlántico (*Salmo salar*). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 28(3), 477-489. Recuperado de <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i3.13371>
- Checmarev, G. (2015). Estabilidad y vida útil de caballa (*Scomber japonicus*) preservada mediante combinación de barreras. Recuperado del Repositorio Universidad Nacional de La Plata. (Tesis Doctoral) <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/45260>
- Delgado, C. (2016). Tesis de Preparación. Estado del conocimiento del “chame” (*Dormitator latifrons*) y su relación con la investigación y producción acuícola en el Ecuador. ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL, Guayaquil, Guayas, Ecuador . Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu>.
- Díaz, M.P. (2009). Calidad y deterioro de platos “sous vide” preparados a base de carne y pescado almacenados en refrigeración. Proyecto de investigación. Recuperado del Repositorio digital de la Universidad de Murcia (Tesis Doctoral) <http://hdl.handle.net/10201/4413>
- Domínguez, P., Saibene, A. (2011). Determinación de la vida útil de filetes de sábalo (*Prochilodus lineatus*) refrigerados con hielo en escama y filetes envasados al vacío refrigerados. (Tesis Doctoral Universidad de la Republica Uruguay Facultad de Veterinaria: <https://hdl.handle.net/20.500.12008/19940>
- Fonseca, R, y Chavarría, S. (2017). Composición proximal en algunas especies de pescado y mariscos disponibles en el pacífico costarricense. Revista Uniciencia, 31(1), 23-28. Disponible en: <https://www.revistas.una.ac.cr>
- Enríquez, M. (2018). Atmósfera modificada en la conservación de carne de trucha arcoíris (*oncorhynchus mykiss*). Revista digital de ciencia, ingeniería y tecnología: NOVA SINERGIA, 1(1), 67 - 71. doi:<https://doi.org/10.37135/unach.ns.001.01.08>
- Espinoza, H. (7 de enero de 2022). Ingeniero en Agroindustria. Chame (*Dormitator latifrons*). (J. Moreira, Entrevistador) Tosagua, Manabí, Ecuador.
- Espinoza, M. V. G, Monge; C. D. J, y Cusme, R. K. L. (2012). Optimización de combinación carne de chame (*Dormitator latifrons*) y carne de res en procesamiento de salchicha. Revista ESPAMCIENCIA ISSN 1390-8103, 3(2), 147-154.
- Gómez, B., C, H., Díaz, B., P, H., Sala, A., & Cintas, L. (2016). Strategies to increase the hygienic and economic value of fresh fish: Biopreservation using lactic acid bacteria of marine origin. . International Journal of Food Microbiology, 2023, 41 - 49.

- Gómez, A. I, Cerón; T. G, Rodríguez, V., y Aguilar, M. M. (2007). Aspectos tecnológicos de la congelación en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*.1,80-96. Recuperado del Repositorio Universidad de las Américas Puebla, Cholula, Pue México. <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/>
- Greenfield, H, Southgate, D. A. T. (2003). Datos de composición de alimentos: obtención, gestión y utilización (No. V334). FAO. Recuperado del Repositorio Universidad Zamorano Biblioteca Wilson Popenoe. <http://www.sidalc.net/cgibin/wxis.exe/>
- Guzmán, D. (2019). *Pescados: El arte de la técnica profesional*. (págs.21) Universidad de La Sabana. <https://books.google.es/books?id=g7LnDwAAQBAJ&printsec>.
- Haz, M. y Arias, H. 2011. Proyecto de producción y exportación del chame como nueva alternativa comercial del ecuador. (En línea). EC. Consultado 23 De May. Formato (PDF). Disponible en [http:// www.dspace.espol.edu.ec](http://www.dspace.espol.edu.ec)
- Hurtado, C. (2014). Tesis de pregrado. “optimización del proceso de congelación de tilapia (*Oreochromis aureus*) en bloques e IQF para lograr una máxima calidad. Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa, Perú.
- IBM. (2021). IBM SPSS software. Obtenido de <https://www.ibm.com/analytics/spss-statistics-software>
- Izquierdo Córser, Pedro, Torres Ferrari, Gabriel, Barboza de Martínez, Yasmina, Márquez Salas, Enrique, y Allara Cagnasso, María. (2000). Análisis proximal, perfil de ácidos grasos, aminoácidos esenciales y contenido de minerales en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(2), 187-194. Accedido el 16 de mayo de 2021.
- Iriarte, R, María, M. (2012). Manipulación del pescado fresco a bordo de embarcaciones de media altura de la isla de Margarita, estado Nueva Esparta (Venezuela). *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 43(2), 59-65.
- Iriarte, M. M, y Romero; G. D. V. (2006). Efecto del tiempo de almacenamiento a -18°C sobre las características bacteriológicas y físico-químicas de filetes de pez volador (*Dactylopterus volitans*). *Revista Científica*, 16(2), 195-201.
- Mena, S., Rodríguez, L., & Marinela, B. (2010). El glaseado incorporando hidrocoloides como alternativa en el empaque de lomo de atún (*Thunnus thynnus*) congelado y almacenado a -10°C. *Revista Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(3).
- Monsalve, J. (2016). Evaluación físico-química y microbiológica de la carne del pescado caribe colorado (*Pygocentrus cariba HUMBOLT*, 1821) para su aprovechamiento. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 26(5), 271 - 277.

- Montoya, N., Márquez, E., Castillo, J., Ruíz, S., Cárdenas, L., Arvizu, A. y Ocaño, M. (2020). Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre el rigor mortis del músculo de tilapia (*Oreochromis niloticus*) rigor mortis. *Biotecnia*, 22(2), 88-93.
- Montes O., Gustavo, A., y Medina, A., Velázquez, J., López, V., Román, R., José, C., Dabrowski, K., Haws, C. (2012). Producción de larvas de Chame (*Dormitator latifrons*, Pisces: Eleotridae) usando GnRH α y LHRH α . *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25 (3), 422-429. [Fecha de Consulta 17 de mayo de 2021]. ISSN: 0120-0690. Accesible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295024923010>
- Montesdeoca, María. (2020). Tesis de pregrado. Evaluación del lactosuero dulce y pulpa liofilizada de mango (*Mangifera indica* L.) en una bebida láctea fermentada funcional. Universidad Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Calceta - Bolívar - Manabí.
- Ninahuaman, E. (2019). Tesis de pregrado. "evaluación de la calidad bacteriológica de *Trachurus picturatus murphyi* "Jurel" expendido en los diferentes mercados de la plataforma comercial andrés avelino CÁCERES en la ciudad de arequipa, 2019". UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN DE AREQUIPA, Arequipa, Perú.
- Noef, E., Aviles, M., Oliveira, D., Abalos, R., Gómez, M., Lound, & Liliana. (2021). Caracterización microbiológica y fisicoquímica de carne de boga (*Leporinus obtusidens*) impregnada con jugo de limón. *Revista Acta Agronómica*, 70(1), 57 - 65.
- Osejos, M., Merino, M., & Merino, M. (2017). Incidencia de la pesca artesanal en la contaminación de la Playa del Cantón Puerto López, de la Provincia de Manabí-Ecuador. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 20(40), 18 - 27. Obtenido de <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu>.
- Ortega, A. (2016). Análisis del comercio internacional del chame (*Dormitator Latifrons*, Richardson, 1844) y su impacto sobre sus poblaciones silvestres en el Ecuador: Propuesta de inclusión en cites Recuperado del Repositorio de la Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Naturales. (Tesis Magister) <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug>
- Palma, D. (2021). Tesis de pregrado. Elaboración de filetes de tilapia (*Oreochromis sp.*) Ahumada aplicando apio (*Apium graveolens*) y laurel (*Laurus nobilis*) deshidratado como conservante antimicrobiano empacado al vacío tecnológicamente. Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil, Guayas, Ecuador.
- Padilla Martín, A. D. (2016). Efecto de diferentes tipos de cocción sobre el contenido en humedad, lípidos, proteínas y sales minerales de la caballa (*Scomber colias*). <https://riull.ull.es/xmlui/bitstream/handle/915/3187>

- Perea, Aide, Gómez, Elieth, Mayorga, Yamile, Y Triana, C.Y. (2008). Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 58(1), 91-97. Accedido en 16 de mayo de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222008000100013&lng=es&tlng=es.
- Ponce, F. O. O., y Amado, D. S. (2014). Variación de las propiedades termofísicas de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) durante el rigor mortis. In Anales Científicos (Vol. 75, No. 1, pp. 169-175). Universidad Nacional Agraria La Molina. Revista Dialnet Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7003394>
- Príncipe, F. (2009). Efecto de la radiación gamma sobre algunos parámetros de calidad de la porción H y G de merluza negra. Recuperado del Repositorio digital Institucional de la Universidad Nacional del Sur. (Tesis Magister) <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/1945>
- Rodríguez, N. (2017). Tesis de pregrado. Análisis proximal de pescados continentales de mayor consumo humano en Ecuador. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR, Quito.
- Rodríguez, Diana; Barrero; Marinela; y Kodaira, Makie. (2009). Evaluación física y química de filetes de bagre (*Pseudoplatystoma sp.*) salados en salmuera empacados al vacío y almacenados en refrigeración. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 59(2), 206-213. Accedido el 09 de mayo de 2021, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid.
- Rodríguez, M, de. O, Gustavo, A, Medina, H., Eva A; Velázquez; S, Jeniffer; L. L., Vanesa, V, Román, R; José, C; Dabrowski,K. y Haws, M. C. (2012). Producción de larvas de " Chame " (*Dormitator latifrons*, Piscis: Eleotridae) utilizando GnRHa y LHRHa. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias.25(3), 422-429.
- Romero, J., & Negrete, M. (2011). Presencia de bacterias Gram positivas en músculo de pescado con importancia comercial en la zona del Caribe mexicano. Revista Mexicana de Biodiversidad, 599-606. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmbiodiv/v82n2/v82n2a19.pdf>
- Rungsinee, S., & Natcharee, P. (2007). Oxigen permeability and mechanical properties of banana films. Department of food Engineering, Fd Res Int, 40, 365 - 370.
- Salvatierra, I. (2019). Manual de conservación de alimentos. Académica Inacap, escuela hotelería, turismo y gastronomía, Arica.
- Salvadori, V. O. (2014). Transferencia de calor durante la congelación, el almacenamiento y la descongelación de alimentos Recuperado del Repositorio de la Universidad Nacional de La Plata. (Tesis Doctoral) http://sedici.unlp.edu.ar/discover?filtertype=type&filter_relational_operator=equals&filter=Tesis%20de%20doctorado

- Sánchez, A. (2018). Tesis de posgrado. Caracterización molecular de factores de virulencia y genotipos. de *Escherichia coli* aislada en langostino (*Litopenaeus vannamei*) y camarones de río (*Cryphiops caementarius*) en terminales pesqueros de Lima metropolitana. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima.
- Sánchez, G., & Chiquillo, J. (2019). Análisis microbiológico de dos muestras de pescado comercializadas en Tunja, Boyacá. ESTUDIO DE CASO. Laboratorio Clínico (GRIBAC), Boyacá.
- Seminario, J. (2019). Tesis de pregrado. "Evaluación de la calidad organoléptica del filete de camotillo, *Diplectrum conceptione*, que se expende en la asociación de comerciantes minoristas poseionarios del mercado Antonio Lehigh rodríguez de Piura". UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA: FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA, Piura, Perú.
- Suarez, L. (2016). Tesis de pregrado. Calidad fisicoquímica y microbiológica de dos especies de pescados dulceacuícolas comercializados en el municipio de Sincelejo – Colombia. Universidad De Sucre Programa De Biología, Sincelejo - Sucre, Colombia.
- Suárez, H. A., Beirão, L. H., Carrasco, S. P, y Rodríguez, M. C. (2007). Pérdida de textura post mortem de la carne de pescado durante el almacenamiento en frío. Acta Biológica Colombiana, 12(1), 3-18. Recuperada en octubre, 24. de 2020.desde <http://www.scielo.org.co/scielo>.
- Suarez, K. J. (2019). Análisis organoléptico del filete de" *Dormitator latifrons*"(chame) alimentado con harina de maíz hidropónica al 8% Repositorio Universidad de Guayaquil-Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Recuperado de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/39243>
- Tomás. L. D. F. (2015). Comparación de métodos de siembra en el análisis microbiológico de pescado. Revista UPNA.Repositorio institucional de la Universidad Pública de Navarra. <https://hdl.handle.net/2454/19847>
- Tomás. L. D. F. (2015). Comparación de métodos de siembra en el análisis microbiológico de pescado. Revista UPNA.Repositorio institucional de la Universidad Pública de Navarra. <https://hdl.handle.net/2454/19847>
- Urrutia, G. W. (2010). Determinación de parámetros óptimos de extracción alcalina para la obtención de aislado proteico a partir de tarwi (*Lupinus mutabilis*). Revista Alicia Recuperado de <https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/>
- Vásquez, J., W, T., Chuquiyauri., M., & Apac, S. (2018). Microbiological evaluation of fish and seafood available in Huánuco's markets. Revista de Investigación Valdizana, 12(2), 75 - 82.
- Zapata, D., Zaragosa, F., Vega, F., López, J., Herrera, S., Cueto, L., & Guerrero, S. (2018). Requerimiento de proteína y lípidos para el crecimiento de juveniles del pez nativo *Dormitator latifrons* (Richardson, 1844). Revista Ecosistemas y recursos agropecuarios, 5(14).

Zaritzky, N. (2012). Physical-chemical principles in freezing Handbook of frozen food processing and packaging (Segunda edición ed.). Florida: Sun D. (ed).

Anexos

Anexo 1. Recuentos microbiológicos de los tratamientos

1-A. Análisis microbiológicos efectuados a los tratamientos y testigo.

República del Ecuador



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE
MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 1 de 1	
CLIENTE:	Jaime Javier Moreira López	Nº DE ANÁLISIS:	63
DIRECCIÓN DEL ESTUDIO:	Calceta		
TELEFONO:	0983412464	Fecha de recibido:	09/03/2022
NOMBRE DE LA MUESTRA:	"Muestras de chame <i>Dormitator latifrons</i> "	Fecha de análisis:	09/03/2022
CANTIDAD RECIBIDA:	21	Fecha de reporte:	11/03/2022
TIPO DE ENVASE:	Fundas plásticas de 500 g de capacidad	Fecha de muestreo:	09/03/2022
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	Responsables del muestreo:	Investigadoras

Factores en estudio	Tratamientos	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aerobios mesófilos</i>
		UFC/g	UFC/g	UFC/g
Entre 3°C±1 / 24 horas	T1R1	3	1,8 x10 ⁴	1,3 x 10 ⁴
	T1R2	4	2,0 x10 ⁴	1,2 x 10 ⁴
	T1R3	2	2,2 x10 ⁴	1,4 x 10 ⁴
Entre 3°C±1 / 48 horas	T2R1	2	8,1 x10 ³	5,0 x 10 ²
	T2R2	2	9,3 x10 ³	5,2 x 10 ²
	T2R3	3	7,2 x10 ³	5,2 x 10 ²
Entre 3°C±1 / 72 horas	T3R1	2	5,0 x10 ³	2,4 x 10 ²
	T3R2	3	4,0 x10 ³	2,2 x 10 ²
	T3R3	1	3,0 x10 ³	2,5 x 10 ²
Entre -11±1 / 24 horas	T4R1	2	7,5 x10 ²	2,1 x 10 ²
	T4R2	2	1,0 x10 ³	2,0 x 10 ²
	T4R3	1	3,1 x10 ²	2,3 x 10 ²
Entre -11±1 / 48 horas	T5R1	2	1,0 x10 ³	1,1 x 10 ²
	T5R2	2	2,0 x10 ²	2,0 x 10 ²
	T5R3	1	2,2 x10 ²	1,3 x 10 ²
Entre -11±1 / 72 horas	T6R1	0	1,0 x10 ²	1,0 x 10 ¹
	T6R2	0	1,3 x10 ²	1,2 x 10 ¹
	T6R3	0	1,2 x10 ²	1,7 x 10 ¹
Testigo (10 - 18°C)		1,0x10 ²	3,7x10 ⁴	12,0x10 ⁵
		1,2x10 ²	3,2x10 ⁴	10,0x10 ⁵
		1,0x10 ²	3,5x10 ⁴	10,0 x10 ⁵


ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Carrera de **AGROINDUSTRIA**
TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIAL
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA
 Oficinas: **ÁREA AGROINDUSTRIAL** Técnico
 Calle 10 de agosto y Grande Centeno Sitio el Limón, Calceta
 Telfs.: (05) 2685 134/156 Telfs.: (05) 3028904/3028838
 rectorado@espam.edu.ec www.espam.edu.ec

Anexo 2. Prueba de Dunnett

2-A. Comparación de los grupos en estudio con el grupo control.

Variable dependiente		Comparaciones múltiples					
		T de Dunnett (bilateral) ^a				Intervalo de confianza al 95%	
		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Límite inferior	Límite superior	
<i>Aerobios mesófilos</i>	T1	CONTROL	-4.4003*	0.13580	0.000	-4.7959	-4.0048
	T2	CONTROL	-7.6303*	0.13580	0.000	-8.0259	-7.2348
	T3	CONTROL	-8.4057*	0.13580	0.000	-8.8012	-8.0101
	T4	CONTROL	-8.5093*	0.13580	0.000	-8.9049	-8.1138
	T5	CONTROL	-8.9153*	0.13580	0.000	-9.3109	-8.5198
	T6	CONTROL	-11.3317*	0.13580	0.000	-11.7272	-10.9361
<i>E. coli</i>	T1	CONTROL	-3.6040*	0.27744	0.000	-4.4120	-2.7960
	T2	CONTROL	-3.8347*	0.27744	0.000	-4.6427	-3.0266
	T3	CONTROL	-4.0660*	0.27744	0.000	-4.8740	-3.2580
	T4	CONTROL	-4.1980*	0.27744	0.000	-5.0060	-3.3900
	T5	CONTROL	-4.1980*	0.27744	0.000	-5.0060	-3.3900
	T6	CONTROL	-4.6600*	0.27744	0.000	-5.4680	-3.8520
<i>Staphylococcus aureus</i>	T1	CONTROL	-0.5470	0.35224	0.464	-1.5729	0.4789
	T2	CONTROL	-1.4450*	0.35224	0.005	-2.4709	-0.4191
	T3	CONTROL	-2.1743*	0.35224	0.000	-3.2002	-1.1485
	T4	CONTROL	-4.0257*	0.35224	0.000	-5.0515	-2.9998
	T5	CONTROL	-4.5807*	0.35224	0.000	-5.6065	-3.5548
	T6	CONTROL	-5.6937*	0.35224	0.000	-6.7195	-4.6678

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = .186.

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

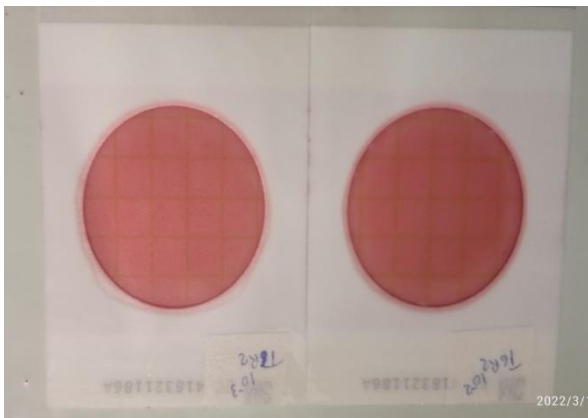
Anexo 3. Análisis de laboratorio

3-A. Análisis bromatológicos – proteína

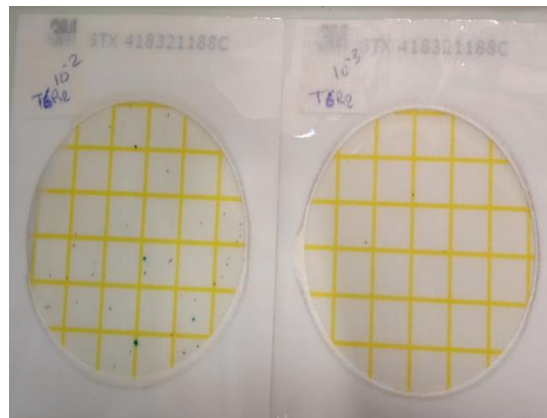


Anexo 4. Análisis microbiológicos

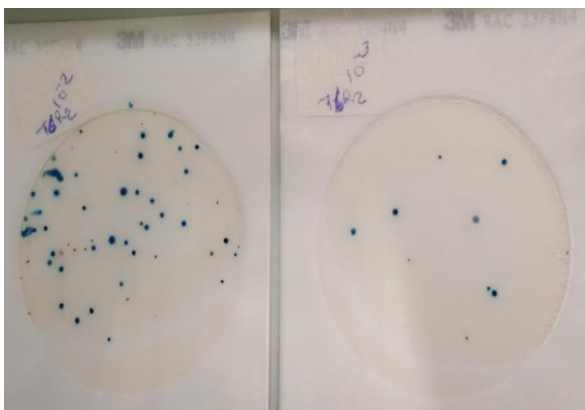
4-A. Análisis de *E. coli*



4-B. Análisis de *S. aureus*



4-C. Análisis de *Aerobios mesófilos*



Anexo 5. Perfil de textura

5-A. Perfil de dureza (N), elasticidad (mm) y Cohesividad



Anexo 6. Prueba de Dunnett

6-A. Prueba de Dunnett para los tratamientos y testigo en relación de las variables bromatológicas

Comparaciones múltiples					
T de Dunnett (bilateral) ^a					
	Variable dependiente		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.
Humedad	T1 (3°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	1.67667	0.69374	0.122
	T2 (3°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.36333	0.69374	0.987
	T3 (3°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	1.08333	0.69374	0.459
	T4 (-11°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-1.28333	0.69374	0.307
	T5 (-11°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.21333	0.69374	0.999
	T6 (-11°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	0.96667	0.69374	0.564
Ceniza	T1 (3°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.43000*	0.01272	0.000
	T2 (3°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.43000*	0.01272	0.000
	T3 (3°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.23333*	0.01272	0.000
	T4 (-11°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.15333*	0.01272	0.000
	T5 (-11°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.32333*	0.01272	0.000
	T6 (-11°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.25333*	0.01272	0.000
Proteína	T1 (3°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.09667	0.09997	0.836
	T2 (3°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.78000*	0.09997	0.000
	T3 (3°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.93000*	0.09997	0.000
	T4 (-11°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-1.43000*	0.09997	0.000
	T5 (-11°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-2.39000*	0.09997	0.000
	T6 (-11°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-2.67000*	0.09997	0.000
Grasa	T1 (3°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	31.74333*	8.46714	0.010
	T2 (3°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	0.00333	8.46714	1.000
	T3 (3°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	0.05333	8.46714	1.000
	T4 (-11°C ± 1 por 24h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	0.03333	8.46714	1.000
	T5 (-11°C ± 1 por 48h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.02667	8.46714	1.000
	T6 (-11°C ± 1 por 72h)	T7 (Testigo 10/18°C por 24h)	-0.03333	8.46714	1.000

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.