



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

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y FORMACIÓN CONTINUA

INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN AGROINDUSTRIA

MODALIDAD:

INFORME DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**DETERMINACIÓN DE DOSIS DE ENZIMAS Y TIEMPOS
ÓPTIMOS DE HIDRÓLISIS PARA MEJORAR LA
DIGESTIBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS OBTENIDAS DE
RESIDUOS DE PESCADO**

AUTORA:

EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE

TUTOR:

Ing. Edmundo Matute Zeas, Mg.A.

COTUTOR:

Ing. Carlos Banchon PhD

CALCETA, AGOSTO 2019

DERECHOS DE AUTORÍA

EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

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 por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

ING. EDMUNDO MATUTE ZEAS, M.Sc, certifica haber tutelado trabajo de titulación: **DETERMINACIÓN DE DOSIS DE ENZIMAS Y TIEMPOS ÓPTIMOS DE HIDRÓLISIS PARA MEJORAR LA DIGESTIBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS OBTENIDAS DE RESIDUOS DE PESCADO**, que ha sido desarrollado por **EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustrias, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN DE LA UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. EDMUNDO MATUTE ZEAS, Mg. A.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **DETERMINACIÓN DE DOSIS DE ENZIMAS Y TIEMPOS ÓPTIMOS DE HIDRÓLISIS PARA MEJORAR LA DIGESTIBILIDAD DE LAS PROTEÍNAS OBTENIDAS DE RESIDUOS DE PESCADO**, que ha sido propuesto, desarrollado y sustentado por **EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE**, previa la obtención del título de Magister en Agroindustrias, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. BENITO VALAREZO VALDEZ, PhD
MIEMBRO

ING. SOFIA VELASQUEZ CEDEÑO, M.Sc
MIEMBRO

ING. ELY FERNANDO SACON VERA, PhD
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A Jehová Dios, Padre Eterno por sus innumerables bendiciones.

A mi tía, madre y amiga Leticia por sus consejos y apoyo incondicional.

A mi madre Consuelo y mis hermanas.

A mis compañeros de la maestría por hacer ameno todos estos meses de estudios, en especial a Cesar y Marlon.

A los Ingenieros Joe Jarrin, Carlos Banchon y Edmundo Matute por su guía durante el desarrollo de esta investigación.

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE

DEDICATORIA

Cuando tenía 10 años me pregunte qué sería de mi futuro y le prometí aquella niña temerosa con pocas posibilidades que seríamos grandes y destacaríamos, hoy te digo ¡He cumplido y no te he decepcionado!

Dedico este logro a mí esfuerzo, dedicación y perseverancia.

EVELYN CONSUELO LAVID NAVARRETE

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO GENERAL	vii
CONTENIDO DE CUADROS	ix
CONTENIDO DE FIGURA	ix
CONTENIDO DE ANEXOS	ix
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1 Planteamiento y formulación del problema	1
1.2 Justificación.....	2
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Hipótesis.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 La industria del procesamiento del pescado.....	5
2.1.1 Residuos de la industria pesquera	5
2.1.2 Valor nutricional de residuos pesqueros	6
2.1.3 Calidad de las proteínas obtenidas de residuos pesqueros	8
2.2 Hidrólisis	10
2.3 Caracterización de proteínas hidrolizadas de pescado	13
2.3.1 Propiedades funcionales de los hidrolizados de pescado	15
2.3.2 Propiedades nutricionales de los hidrolizados de pescado	15
2.4 Insumos a utilizar	16
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	18
3.1 Ubicación de la investigación.....	18
3.2 Duración de la investigación	18
3.3 Tipo de investigación	19

3.4	Métodos y técnicas	19
3.5	Factores en estudio	19
3.6	Niveles de los factores	20
3.7	Tratamientos	20
3.8	Diseño experimental	21
3.9	Unidad experimental	21
3.10	Variables de estudio	21
3.10.1	Variables independientes	21
3.10.2	Variables dependientes	21
3.11	Manejo del experimento	22
3.12	Análisis estadístico	27
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		28
4.1	Análisis de las propiedades físico-químicas de los hidrolizados de pescado	28
4.1.1.	Caracterización del hidrolizado	28
4.1.2.	Digestibilidad	29
4.1.3.	pH.....	30
4.1.4.	Sal.....	30
4.1.5.	Histaminas	31
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		34
5.1.	Conclusiones	34
5.2.	Recomendaciones	34
BIBLIOGRAFÍA.....		34
ANEXOS.....		40

CONTENIDO DE CUADROS

1. Uso final de la producción mundial de pescado (% del total mundial en peso vivo).	18
2. Aminoácidos esenciales (porcentaje) de varias proteínas.	19
3. Lista de laboratorios y análisis.	28
4. Análisis y métodos para ejecutarse.	29
5. Tratamientos a ejecutados.	30
6. Promedio de las características fisicoquímicas analizadas en el estudio.	42
7. Resultados prueba de comparación de medias, tratamientos vs testigo.	43

CONTENIDO DE FIGURA

1. Proceso de obtención de hidrolizados.	33
2. Resultado del análisis proximal de los hidrolizados de residuos de pescado.	38

CONTENIDO DE ANEXOS

1. Concentrado de proteínas hidrolizadas.	51
2. Resultado de análisis físicos químicos.	52
3. Análisis estadístico.	64

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la digestibilidad de los residuos de la pesca que han sido sometidos a procesos de hidrólisis enzimática. Se empleó una proteasa comercial obtenida por fermentación controlada de una cepa de *Bacillus* spp. Se utilizaron residuos crudos de valor comercial tales como vísceras, cabeza, cola, peces de descarte y el líquido del exudado de la cocción de pescados que es un residuo sin valor comercial no aprovechados en la industria pesquera, aplicando la relación 60/40 respectivamente. Se analizó mediante un diseño completamente al azar con arreglo factorial A x B+1 y se empleó Dunnett al 5 % de probabilidad de error para determinar la significancia, siendo el factor A dosis de enzima con los niveles 20, 35 y 50 ppm, tiempos de hidrólisis el factor B con 120 y 180 min. Se realizaron análisis de control de calidad a las materias primas y los productos terminados, la digestibilidad se determinó en porcentajes usando el método de digestibilidad in vitro con pepsina diluida A.O.A.C., Torry modificado dando como resultado para digestibilidad que todos los tratamientos mostraron $P < 0,05$ frente al testigo siendo el tratamiento T6 de 50 ppm enzima y 180 min con mayor grado de digestibilidad. Se evidenció significancia del factor A y la interacción de los factores sobre la histamina, siendo el tratamiento T1 de 20 ppm enzima y 120 min el de mejor comportamiento. Los factores ni su interacción mostraron significancia sobre el pH y la sal. Por lo tanto, para obtener una mayor digestibilidad se deben hidrolizar los residuos de pescado por un tiempo de 180 min con una dosis de enzima de 50 ppm.

Palabras clave: digestibilidad, hidrólisis, enzima, residuos de pescado.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the digestibility of fishery residues that have undergone enzymatic hydrolysis processes. A commercial protease obtained by controlled fermentation of a strain of *Bacillus* spp. Crude residues of commercial value were used such as: viscera, head, tail, discard fish and the liquid from the fish cooking exudate which is a waste with no commercial value not used in the fishing industry, applying the 60/40 ratio respectively. It was analyzed by a completely randomized design with factorial arrangement A x B + 1 and Dunnett was used to determine significance, with factor A being an enzyme dose at levels 20, 35 and 50 ppm, hydrolysis times factor B with 120 and 180 min. Quality control analyzes were performed on raw materials and finished products, digestibility was determined in percentages using the in vitro digestibility method with diluted pepsin A.O.A.C., modified Torry. Giving as a result for digestibility that all the treatments showed $P < 0.05$ against the control being the treatment T6 of 50 ppm enzyme and 180 min with greater degree of digestibility. Significance of factor A and the interaction of factors on histamine was evidenced, with the T1 treatment of 20 ppm enzyme and 120 min being the best behavior. The factors and their interaction showed significance on pH and salt. Therefore, to obtain greater digestibility, fish residues must be hydrolyzed for a period of 180 min with an enzyme dose of 50 ppm.

Keywords: digestibility, hydrolysis, enzyme, fish residues.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El sector de la pesca y acuicultura genera un gran impacto en la alimentación y empleo y es fuente importante de ingresos y divisas. La Food and Agriculture Organization (FAO) en el año 2018 ubica al Ecuador entre los 25 mayores productores de pesca de captura marina con 715 mil toneladas en el 2016, de las cuales un 58,37% corresponden al atún, uno de los principales recursos pesqueros procesados por la industria ecuatoriana.

La industria de procesamiento de pescado produce más del 60% de subproductos como residuos que incluyen cabeza, piel, adornos, aletas, marcos, vísceras y huevas, y solo 40% de productos de pescado para consumo humano. Estos subproductos presentan compuestos con importantes propiedades nutricionales, funcionales y bioactivos (Dekkers, Raghavan, Kristinsson, & Marshall, 2011).

Los residuos obtenidos del procesamiento de pescados son destinados en su totalidad a la elaboración de productos proteicos como la harina de pescado. Además se han identificado otros residuos de alto valor nutricional que no están siendo aprovechados como el líquido resultante del exudado del pescado durante los procesos de cocción, la sangre en los procesos de evisceración y el agua de lavado o descongelamiento de ciertos procesos que contiene gran cantidad de proteínas sarcoplasmáticas.

La harina representa una importante fuente de nutrición ya que aporta proteína de alta calidad con un balance de aminoácidos y de ácidos grasos adecuado para el rápido crecimiento de organismos. Sin embargo durante los procesos normales de elaboración los residuos se someten a temperaturas elevadas que generan reacciones químicas que reducen la digestibilidad de las proteínas, la biodisponibilidad de aminoácidos, ácidos grasos esenciales y además se pueden formar compuestos tóxicos que perjudican la calidad de los productos terminados (Chalamaiah, Hemalatha, & Jyothirmayi, 2012).

El mal manejo de los residuos de pescado da paso a la formación de aminas biogénicas que son compuestos nitrogenados no proteicos consecuentes de la degradación de los aminoácidos que constituyen las proteínas del músculo del pescado. Los productos proteicos que contienen alto contenido de aminas biogénicas afectan la digestibilidad del alimento que lo contiene y por ende el crecimiento del organismo que lo consume.

Actualmente es posible mejorar las características funcionales y nutricionales de los productos proteicos obtenidos de los residuos de pescados gracias a las tecnologías de elaboración tanto en maquinaria como en tratamientos de procesamiento. En las últimas décadas los investigadores han trabajado en técnicas para el aprovechamiento y la valorización de los residuos agroindustriales utilizando principalmente técnicas biotecnológicas. Una de las más prometedoras en este ámbito es el uso de enzimas para su procesamiento y extracción de productos de alto valor agregado.

Los hidrolizados enzimáticos de proteínas hasta péptidos o aminoácidos por acción de enzimas proteolíticas se utilizan ampliamente en la tecnología alimentaria por sus propiedades nutricionales o funcionales: solubilidad, poder emulsificante, capacidad espumante (Benítez, Ibarz, & Pagan, 2008).

Ante lo expuesto se plantea la siguiente pregunta: ¿La aplicación de hidrólisis enzimática mejora significativamente la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado?

1.2 JUSTIFICACIÓN

En el pasado los subproductos del pescado solían desecharse como desperdicios, utilizarse directamente como pienso para la acuicultura, la ganadería, las mascotas o los animales criados para la producción de pieles, o usarse en ensilado y fertilizantes. Sin embargo, en los últimos dos decenios se ha venido prestando cada vez más atención a otros usos de subproductos pesqueros, dado que pueden representar una importante fuente de nutrición y actualmente es posible usarlos de manera más eficiente gracias a la mejora de las tecnologías de elaboración (FAO, 2018).

Una de las alternativas altamente valoradas es la hidrólisis enzimática. Las enzimas son proteínas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y que han sido utilizadas a lo largo de la historia, principalmente en las industrias farmacéuticas y alimenticias. Su uso en la extracción de compuestos bioactivos es una alternativa ecológicamente amigable en comparación con los métodos de extracción tradicionales que utilizan solventes.

Las enzimas tienen ventajas sobre los tratamientos químicos ya que son catalizadores altamente específicos y trabajan en condiciones de reacción moderadas lo cual se traduce en una menor generación de residuos y subproductos así como en un menor consumo de energía. Por lo tanto, las enzimas pueden utilizarse en el pre tratamiento de los residuos, la extracción de compuestos e incluso en la modificación y síntesis de nuevas moléculas a partir de los compuestos bioactivos.

Los hidrolizados de proteína de pescado se utilizan como suplementos alimenticios y como ingredientes funcionales. Esta proteína es una fuente esencial de nutrientes en los países en desarrollo y sus hidrolizados son de interés debido a su contenido de aminoácidos y sus propiedades antioxidantes. También se les considera ingredientes funcionales, ya que son capaces de retener agua y absorber aceites, producen geles y tienen propiedades espumantes y emulsificante (Chalamaiah et al., 2012).

Esta investigación tiene una justificación económica y ambiental ya que propone la revalorización de residuos como el exudado de la cocción y aguas de la limpieza que no se aprovechan y que son sustancias con impactos ambientales negativos dada la alta demanda bioquímica de oxígeno que generan. Además es una nueva fuente de generación de empleo que se anexará a la industria pesquera.

Su justificación técnica radica en el aprovechamiento de los residuos de la pesca para la elaboración de productos proteicos con la aplicación de procesos biotecnológicos como la hidrólisis enzimática para mejorar significativamente sus propiedades nutricionales y funcionales. Esta investigación propone

realizar un tratamiento de hidrólisis a los residuos obtenidos del procesamiento de pescado para mejorar la digestibilidad de los concentrados proteicos.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Mejorar la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado mediante hidrólisis enzimática.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la dosis óptima de enzima para mejorar la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado.
- Establecer el tiempo adecuado de hidrólisis para mejorar la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado.
- Medir la digestibilidad in vitro de los hidrolizados de residuos de pescado.

1.4 HIPÓTESIS

La hidrólisis enzimática mejora la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 LA INDUSTRIA DEL PROCESAMIENTO DEL PESCADO

El sector de la pesca y la acuicultura siguen siendo importantes fuentes de alimentos, nutrición, ingresos y medios de vida para cientos de millones de personas en todo el mundo. Este sector constituye una importante fuente de empleo e ingresos en la que se basan los medios de vida de entre el 10% y el 12% de la población mundial. Casi 60 millones de personas se dedican exclusivamente al sector primario y otros 140 millones están empleados a lo largo de la cadena de valor, de la captura a la distribución (FAO, 2018).

El sector pesquero ecuatoriano exportó entre enero y septiembre del 2017 un total de \$1.121 millones de dólares, un valor 17,6% mayor al registrado en igual periodo 2016, equivalente a un aumento de \$167,5 millones. Con estas cifras el sector pesquero mantiene su posicionamiento como el tercer rubro de exportaciones no petroleras del Ecuador, luego del camarón y el banano cuyas ventas también aumentaron 18 y 14% respectivamente (Cámara Nacional Pesquería [CNP], 2017).

En el cantón Manta de la provincia de Manabí se congrega al mayor número de empresas dedicadas a la pesca en extracción, procesamiento y comercialización, generando un número significativo de plazas de empleo. Sin embargo la gran cantidad de residuos originados en cada eslabón de la cadena de la industria pesquera está generando un gran impacto ambiental, por lo que su manejo es de gran interés.

2.1.1 RESIDUOS DE LA INDUSTRIA PESQUERA

Los residuos de pescado son considerados comercialmente la parte no comestible del pescado: cabeza, agallas, vísceras, espinazo y cola, piel, orejetas sangre y otros. Los residuos constituyen alrededor del 50% de la materia prima, los residuos producidos por la industria pesquera fluctúan entre 38 y 70%. Por otra parte, las características de los residuos dependen de la proporción de los componentes físicos y químicos. Estos residuos pueden estar

constituidos por los componentes de una o varias especies de pescado (Fernández, 2001).

Para las industrias tradicionales de conservas, curados y otras industrias de procesamiento de recursos hidrobiológicos, los residuos sólidos que se producen crean verdaderos problemas de eliminación. El uso adecuado de estos desechos puede constituir un aporte de alto valor biológico y un incentivo económico importante a las industrias que lo producen (Lleren & Rodríguez, 2017)

Además de la gran cantidad de residuos obtenidos en el procesamiento se ha estimado que las pérdidas post-cosecha (descartes en el mar y pérdidas debido al deterioro) continúan siendo altas, estimadas en el 25 por ciento de las capturas totales (FAO, 2018).

La pesca y la acuicultura son actividades económicas de gran importancia en el Ecuador. Su viabilidad a largo plazo depende en gran medida de contar con estrategias para mejorar su desempeño y competitividad. Una alternativa para alcanzar este objetivo es desarrollar proyectos donde se propone el uso de la biomasa residual de los procesos realizados en plantas procesadoras de productos pesqueros y acuícolas.

El alto contenido en proteína y lípidos de estos subproductos y su inadecuado vertimiento los convierte en sustancias con impactos ambientales negativos dada la alta demanda bioquímica de oxígeno que generan (García et al., 2009).

Los residuos pesqueros presentan una alta complejidad para su tratamiento debido a la alta carga orgánica que presentan la cantidad de proteínas que contiene y la elevada concentración de sal proveniente de los lavados que se realizan con agua de mar y los métodos de conservación. Los desechos orgánicos generados por la industria acuícola y pesquera son ricos en proteínas, aceites y grasas (Rodríguez, 2016).

2.1.2 VALOR NUTRICIONAL DE RESIDUOS PESQUEROS

Desde el punto de vista nutritivo el pescado es un alimento con una composición parecida a la de la carne aunque también con marcadas

diferencias. El agua, las proteínas y las grasas son los nutrientes más abundantes (cuadro 1) y los que determinan aspectos tan importantes como su valor calórico natural, sus propiedades organolépticas (olor, color, sabor), su textura y su capacidad de conservación. Respecto a su contenido en micronutrientes destacan las vitaminas del grupo B (B1, B2, B3, B12), las liposolubles A y D (sobre todo en los pescados grasos) y ciertos minerales (fósforo, potasio, sodio, calcio, magnesio, hierro y yodo), en cantidades variables según el pescado de que se trate (FAO, 2012).

Cuadro 1. Uso final de la producción mundial de pescado (% del total mundial en peso vivo)

Constituyente	Pescado (filete)			Carne vacuna (músculo aislado)
	Mínimo	Variación normal	Máximo	
Proteínas	6	16-21	28	20
Lípidos	0,1	0,2-25	67	3
Carbohidratos		<0,5		1
Cenizas	0,4	1,2 – 1,5	1,5	1
Agua	28	66 - 81	96	75

La caracterización de los residuos de pescado ha demostrado que estos son ricos en aceites que pueden ser utilizados para la producción de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, principalmente los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Los ácidos grasos omega-3 tienen propiedades antiinflamatorias y antitrombóticas, y son capaces de disminuir los factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes (Casas et al., 2014).

Además de encontrarse ácidos grasos de alto valor nutricional los residuos de pescado presentan un importante porcentaje de proteínas. Desde el punto de vista nutricional la característica más importante de las proteínas del pescado es que contienen todos los aminoácidos esenciales (Cuadro 2) para la vida y que de la misma manera que las proteínas de la leche, la carne y el huevo son de un elevadísimo valor biológico y tienen la característica particular de tener una buena digestibilidad (Traverso & Avdalov, 2014).

Cuadro .2. Aminoácidos esenciales (porcentaje) de varias proteínas

Aminoácido	Pescado %	Leche %	Carne vacuna %	Huevos %
Lisina	8,8	8,1	9,3	6,8
Triptófano	1,0	1,6	1,1	1,9
Histidina	2,0	2,6	3,8	2,2
Fenilalanina	3,9	5,3	4,5	5,4
Leucina	8,4	10,2	8,2	8,4
Isoleucina	6,0	7,2	5,2	7,1
Treonina	4,6	4,4	4,2	5,5
Metionina-cisteína	4,0	4,3	2,9	3,3
Valina	6,0	7,6	5,0	8,1

Fuente: FAO, 1998

2.1.3 CALIDAD DE LAS PROTEÍNAS OBTENIDAS DE RESIDUOS PESQUEROS

En la actualidad la mayor parte de los residuos sólidos pesqueros se destinan a la elaboración de productos proteicos como la harina de pescado y durante su procesamiento se extrae gran parte de los ácidos grasos presentes. La calidad de la harina varía de acuerdo con la especie de pescado que se utiliza, a la frescura de la materia prima, como las condiciones del proceso de elaboración que afectan la digestibilidad de las proteínas ya que cuando las proteínas son expuestas a temperaturas muy altas, la digestibilidad de las proteínas se reduce evitando que las moléculas proteicas sean desdobladas por las enzimas digestivas (Romero, Castro, Días, Revecó & Zaldivar, 1994).

Es bien conocido que la calidad de la proteína de un alimento está determinada fundamentalmente por el tipo y cantidad de aminoácidos que la forman y por su

digestibilidad. Los aminoácidos esenciales deben suministrarse necesariamente en la dieta, puesto que el organismo no puede sintetizarlos por sí mismo. El análisis de proteína cruda no nos da ningún indicio en cuanto a la digestibilidad de un suplemento de proteína. Por supuesto, si una fuente de proteína ha sido procesada inadecuadamente y no puede ser bien digerida por el animal contribuirá muy poco a su crecimiento y a la producción (FAO, 1994).

La digestibilidad es considerada como uno de los aspectos más importantes en la evaluación eficiente de los ingredientes y requisito para formulación de dietas biológica y económicamente óptimas. Los parámetros para determinar el valor nutricional de los insumos y de las dietas empleadas en la alimentación acuícola son entre otros la composición química del ingrediente, las necesidades de la especie y la digestibilidad.

El valor nutricional de un alimento se basa en su composición química y en la capacidad del organismo que lo consume para digerir y absorber los nutrientes y la energía en él contenida. Se considera que la combinación de conocimientos sobre composición química y digestibilidad de un ingrediente a utilizar en la formulación de una ración permite precisar los cálculos sobre su contribución en términos de nutrientes y de energía y de igual manera estimar la proporción no digerible que será eliminada con las heces; la formulación de dietas con base en estos dos criterios es la clave para lograr raciones nutricionalmente eficientes y de reducido impacto ambiental. Es de vital importancia conocer los coeficientes de digestibilidad ya que permite viabilizar la inclusión de una gran variedad de productos y subproductos de la agroindustria en raciones alimenticias dirigidas para peses (Pezzato, Miranda, Barros, Quinteros & Furuya, 2002).

La digestibilidad es afectada por dos de los principales factores de calidad que deben ser considerados en las harinas de pescado utilizadas en alimentos para acuicultura: el tipo de materia prima, en particular pescado entero o subproductos; y la temperatura y el tiempo de exposición al calor durante el procesamiento de secado (Pike & Hardy, 1997).

La digestibilidad de la proteína tiende a disminuir cuando el contenido de ceniza se incrementa en las harinas de pescado. El contenido de ceniza a su vez va a variar dependiendo de la especie de pescado y si se está usando pescado entero o subproductos. Las harinas obtenidas de pescado entero generalmente tienen un contenido de ceniza en el rango de 10 a 20%. Las harinas obtenidas de subproductos de pescado que contienen huesos generalmente van a tener un contenido de cenizas por arriba del 17%. Si el contenido de ceniza es superior del 23%, la calidad de aminoácidos de la proteína es probablemente disminuida (Romero et al., 1994). Sin embargo, el principal problema con la calidad de la proteína se presenta con la aplicación de calor de manera excesiva durante el secado dado que la calidad de la proteína puede disminuir por efectos combinados de temperatura y del tiempo de exposición (Pike & Hardy, 1997).

2.2 HIDRÓLISIS

El grado de hidrólisis es la propiedad fundamental de un hidrolizado y va a determinar en gran medida las restantes características del mismo y por tanto su posible uso. Se define como el porcentaje de enlaces peptídicos rotos en relación a la proteína original (Benítez et al., 2008).

Siguen manifestando que el grado de hidrólisis final está determinado por las condiciones utilizadas, siendo éstas la concentración de sustrato, la relación enzima/sustrato, el tiempo de incubación y las condiciones fisicoquímicas tales como el pH y la temperatura. Otro factor que también va a determinar el grado de hidrólisis es la naturaleza de la enzima, caracterizada por su actividad específica y tipo de actividad. Así, la naturaleza de la enzima usada no sólo va a influir en el grado de hidrólisis, sino también en el tipo de péptidos producidos.

Finalmente señalan que los hidrolizados que se producen para su uso en alimentación se pueden agrupar en: hidrolizados con bajo grado de hidrólisis entre el 1% y el 10%, para la mejora de las propiedades funcionales; hidrolizados con grados de hidrólisis variable para su uso como saborizantes y

por último hidrolizados extensivos con grado de hidrólisis superior al 10%, para su uso en alimentación especializada.

➤ **Tipos de hidrólisis**

La hidrólisis puede ser efectuada ya sea químicamente (mediante ácido o álcali) o biológicamente (utilizando enzimas). Sin embargo, los dos primeros tratamientos afectan la calidad nutricional de los elementos resultantes, siendo la vía enzimática la más ventajosa debido a que en el proceso hay mayor control y selectividad, además éste es menos drástico y genera un producto de mayor valor nutricional. La hidrólisis alcalina destruye los aminoácidos arginina y cisteína y la hidrólisis ácida elimina el triptófano y desamina los aminoácidos serina y treonina (Guadix, Guadix, Páez, Gonzales, & Camacho, 2000).

➤ **Hidrólisis enzimática**

El proceso de hidrólisis enzimática ha surgido recientemente como el proceso de elección debido a sus suaves condiciones de reacción, a la calidad superior del producto y a su funcionalidad, estos procesos enzimáticos se han demostrado a escala de laboratorio y a pequeñas escalas, pero no en pleno funcionamiento a escala industrial, debido probablemente a los altos costos de las enzimas (He, Franco & Zhang, 2013).

Las enzimas más utilizadas son por lo general proteasas, tales como la alcalasa, pepsina, tripsina, papaína, bromelina y pancreatina. Por ejemplo la hidrólisis enzimática de residuos con alcalasas permite extraer el 74% de las proteínas solubles en fase acuosa, la cual se puede separar con facilidad del contenido lipídico de los residuos (Chalamaiah et al., 2012).

En los casos de hidrólisis enzimática el pH debe ser mantenido en el óptimo de la enzima mediante la adición de base diluida. Para finalizar la hidrólisis proteica la enzima puede ser inactivada con calor mediante una disminución del pH o con una combinación de ambos. O también puede ser retirada del medio mediante filtración y la proteína finalmente precipitada.

Se ha comprobado que a altos grados de hidrólisis los productos obtenidos con mezclas de proteasas presentaban la mejor composición en cuanto a mayor

porcentaje de fracción de bajo peso molecular (Guadix et al., 2000), lo que permite una alta digestibilidad ya que los conocimientos del mecanismo de la absorción intestinal indican que los di- o tripéptidos se absorben con mayor facilidad (Grimble, Keohane, Higgins, Kaminski & Silk, 1986).

En la hidrólisis enzimática de proteínas es necesario separar o desnaturalizar la enzima y trabajar en condiciones asépticas ya que por ser un proceso relativamente lento, puede producirse contaminación microbiana de la mezcla reaccionante. Las condiciones moderadas de temperatura y pH. La hidrólisis enzimática transcurre generalmente en el intervalo de 40 a 60°C y pH comprendido entre 4-8 (Guadix et al., 2000).

En la hidrólisis enzimática de vísceras de Tilapia roja (*Oreochromis spp*) mediante alcalasa los resultados mostraron que el grado de hidrólisis fue maximizado bajo las siguientes condiciones: pH= 9,5 y T=53,45°C manteniendo constante la concentración inicial de sustrato, concentración de enzima y tiempo de reacción (Báez, Ospina & Zapata, 2016).

➤ Tipos de enzimas

Las enzimas son proteínas que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza y que han sido utilizadas a lo largo de la historia, principalmente en las industrias farmacéuticas y alimenticias. Su uso en la extracción de compuestos bioactivos es una alternativa ecológicamente amigable en comparación con los métodos de extracción tradicionales que utilizan solventes.

Las enzimas tienen ventajas sobre los tratamientos químicos ya que son catalizadores altamente específicos y trabajan en condiciones de reacción moderadas lo cual se traduce en una menor generación de residuos y subproductos, así como en un menor consumo de energía. Por lo tanto, las enzimas pueden utilizarse en el pre tratamiento de los residuos, la extracción de compuestos e incluso en la modificación y síntesis de nuevas moléculas a partir de los compuestos bioactivos (Puri, Sharma, Barrow, & Tiwary, 2012).

Las aplicaciones de las enzimas para la extracción de moléculas bioactivas a partir de residuos agroindustriales representa una metodología viable para su valorización. Debido a lo complejo de los residuos generados en el procesamiento de frutas y verduras, en general se deben utilizar mezclas enzimáticas que permitan degradar las membranas y paredes celulares facilitando la recuperación de compuestos de alto valor agregado. Las enzimas hidrolíticas más utilizadas para degradar cáscaras y fibras son celulasas, pectinasas y hemicelulasas (Godoy & Fabián, 2014).

Los desechos de mariscos también se pueden utilizar para la extracción de quitina y quitosano que son polímeros con múltiples aplicaciones en las industrias cosméticas, biomédicas y farmacéuticas. Otra alternativa para este tipo de residuos es su aplicación como sustrato para la producción de las enzimas que se utilizarán en la hidrólisis. Además es posible obtener moléculas de alto valor agregado y combinarlas con otras con el fin de obtener nutracéuticos (Casas & Coral, 2014).

Actualmente se encuentran disponibles comercialmente muchas proteasas grado-alimenticio. Estas proteasas pueden ser clasificadas por su origen (animal, vegetal, bacteriano o fúngico), por su modo de acción catalítica (endo- o exo-actividad) o con base en su sitio catalítico. Las endoproteasas hidrolizan enlaces amídicos dentro de la cadena de la proteína. Las exoproteasas, por el contrario, eliminan aminoácidos terminales de las proteínas o péptidos (Benítez et al., 2008).

2.3 CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS HIDROLIZADAS DE PESCADO

Una alternativa de uso de estos desechos es utilizarlos para producir hidrolizados, ya que son una importante fuente de nutrientes. Al ser hidrolizados estos desechos ocurre una disminución en el tamaño de péptidos modificando las características funcionales de la proteína, por lo que se consideran proteínas de alta calidad (Kristinsson & Rasco, 2000).

Los hidrolizados de pescado se definen como proteínas de pescado que se descomponen en péptidos de diferentes tamaños hasta aminoácidos (He et al., 2013).

Una hidrólisis proteica es un proceso químico o enzimático que busca generar a partir de una proteína, una serie de péptidos de menor tamaño. Un proceso de hidrólisis es más efectivo cuando se logra romper la mayor cantidad de enlaces peptídicos posibles, a esta propiedad se le conoce como grado de hidrólisis (GH). Enzimas proteolíticas pueden ser utilizadas como catalizadoras del proceso de hidrólisis generando además de la ruptura de los enlaces peptídicos, otros beneficios al producto final que bien pueden ser a la salud, a la alimentación o a la tecnología de alimentos (Zapata & Castañeda, 2017).

Es importante que el hidrolizado tenga buenas propiedades funcionales con el fin de utilizarlo de una forma exitosa en alimentos. El tamaño y las propiedades químicas de las proteínas hidrolizadas tienen un impacto en su funcionalidad, por lo tanto si se quiere producir un hidrolizado con propiedades mejoradas es necesario controlar la especificidad de la enzima y el grado de hidrólisis de la reacción.

Muchas de las propiedades funcionales de las proteínas se ven afectadas de forma positiva con un aumento en la solubilidad. La solubilidad de las proteínas miofibrilares se incrementa con la hidrólisis enzimática ya que conduce a péptidos más pequeños y grupos aminos y carboxilos expuestos permitiendo una mayor interacción con el agua, estos incrementos en solubilidad y su aplicación en un rango de pH, entre 4-8 permite la aplicación de los hidrolizados en una mayor variedad de alimentos (Suarez, 2010).

Existe una relación entre el grado de hidrólisis, los péptidos generados y el desarrollo de la amargura, donde la formación de péptidos hidrofóbicos juega un papel importante en el desarrollo de la sensación de amargura en estos. Una medida para controlar el desarrollo del sabor amargo es un equilibrio adecuado entre la actividad exopeptidasa y endoproteasa. La hidrólisis de las proteínas de pescado también puede llevar a potenciar el sabor a pescado, haciendo de ésta otra aplicación importante.

2.3.1 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS HIDROLIZADOS DE PESCADO

En los hidrolizados de proteína se potencian diversas características funcionales tales como viscosidad baja, mayor capacidad de agitación, dispersión y alta solubilidad, que les conceden ventajas para el uso en muchos productos alimenticios, respecto a las proteínas originales (Yin et al., 2008).

El tamaño y las propiedades químicas de las proteínas hidrolizadas tienen un impacto en su funcionalidad, por lo tanto si se quiere producir un hidrolizado con propiedades mejoradas es necesario controlar la especificidad de la enzima y el grado de hidrólisis de la reacción.

Los cambios de las características moleculares que ocurren durante la hidrólisis de la proteína pueden dar lugar al comportamiento tecno-funcional modificado del hidrolizado cuando se lo compara con la proteína intacta por ejemplo solubilidad alterada, viscosidad, características sensoriales, emulsión y características de la espuma (Kim, Shin, & Lim, 2004).

2.3.2 PROPIEDADES NUTRICIONALES DE LOS HIDROLIZADOS DE PESCADO

En la evaluación de la calidad de una proteína alimenticia se deben considerar dos factores: su contenido en aminoácidos indispensables y su digestibilidad conocido su perfil de aminoácidos es posible predecir dentro de ciertas limitaciones su comportamiento en el organismo. Las propiedades nutricionales de la hidrólisis reflejan por ejemplo su digestibilidad aumentada y alergenicidad disminuida cuando se las compara con las proteínas parentales (Benítez et al., 2008).

El valor nutricional de una proteína depende de la composición de aminoácidos y de las proporciones entre ellos y de cuanto estas proporciones son las necesarias para satisfacer las demandas de nitrógeno para el crecimiento, la síntesis, y reparación tisular. El otro factor que condiciona la utilización de las proteínas alimenticias, modificándolas en forma variable es la digestibilidad. La

digestibilidad será igual a 100 cuando el nitrógeno ingerido sea totalmente absorbido (FAO, 1994).

2.4 INSUMOS A UTILIZAR

ENZIMA

Gelzyme L 500, es una proteasa obtenida por fermentación controlada de una cepa de *Bacillus* spp, que posee actividad endo y exo peptidasa capaz de hidrolizar los enlaces pépticos de las moléculas de proteínas.

Gelzyme L 500 hidroliza en forma efectiva la mayoría de las proteínas, tanto de origen animal como de origen vegetal. La Gelzyme L 500 es útil sobre proteínas tales como: hemoglobina, caseína, albúmina, gelatina, proteína de soya, pescado y otras.

➤ Dosis

Las dosis de Gelzyme L 500 están en función de las condiciones de proceso, de la materia prima, del pH, la temperatura y grado de transformación deseado. Se sugiere los siguientes niveles de uso en proceso de pescado

10 – 20 ppm para agua de cola.

20 – 30 ppm para uso en la primera fase del proceso o en el recurso.

➤ Propiedades

Color: Ámbar oscuro brillante a café.

Olor: Típico de la enzima.

Solubilidad: Fácilmente soluble

Actividad: 833 KMDU/ g +/- 5% Fuente: *Bacillus* spp

➤ Almacenamiento y Empaque

En recipiente cerrado y almacenamiento a temperatura y humedad bajas, Gelzyme L 500 puede perder cerca del 5% en 9 meses. La vida útil del producto puede extenderse si se refrigera a 5-8°C.

La unidad de empaque estándar para la enzima es de 20 kilogramos.

➤ **Actividad**

Gelzyme L 500 es inactivada cuando la temperatura se eleva a 80-85°C durante 5 a 10 minutos, también la enzima puede inactivarse ajustando el pH abajo de 4.0 durante 30 minutos a una temperatura de 50°C o ajustándolo arriba de pH 11.0 a 60°C durante 60 minutos.

Valores	pH	Temperatura
Óptimos	9.0 a 10.0	60°C
Efectivos	4.0 a 10.0	65°C
Estabilidad	4.0 a 10.0	70°C

➤ **Vida de anaquel**

La vida de anaquel es de un (1) año a partir de la fecha de manufactura.

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Parte de esta investigación se la efectuó en las instalaciones de la empresa **ProteicoCorp S.A.**, industria dedicada a la producción y comercialización de conservas de pescado y a la producción de proteína líquida hidrolizada, ubicada en el cantón Manta donde se ejecutó los procesos productivos que permitieron obtener los hidrolizados de residuos de pescado.

Los análisis fisicoquímicos se realizaron en laboratorios internos y externos especificados en el cuadro 3:

Cuadro 3. Lista de laboratorios y análisis.

LABORATORIO	ANÁLISIS
PUERTOMAR S.A	Humedad %
	Histaminas mg/100 g
	Sal %
	pH
Externo: CESECCA	Proteína %
	Grasa %
	Cenizas %
Externo: UBA	Digestibilidad in vitro %

3.2 DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Se elaboraron 21 unidades experimentales que fueron procesadas en un lapso de 45 días laborables durante este tiempo se contó con el aporte del personal operativo del área, 2 personas por cada turno, durante este lapso se realizaron pruebas de control de calidad a la materia prima de pH, histaminas y pruebas al producto terminado de sal, humedad e histaminas y pH.

Posterior a la elaboración de las 21 unidades experimentales en un lapso de tiempo de 2 meses se enviaron hacer los análisis a los laboratorios externos: digestibilidad, proteína, grasas y cenizas. Este tiempo se justifica debido a los trámites de asignación de recursos y el tiempo que toma el laboratorio en entregar los resultados.

3.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación aplicada fue de tipo experimental.

3.4 MÉTODOS Y TÉCNICAS

Los análisis y métodos que se realizaron en esta investigación se detallan en el siguiente cuadro:

Cuadro 4. Análisis y métodos a ejecutarse.

ANÁLISIS	MÉTODO
Humedad %	AOAC 981.12
Histaminas mg/100 g	NTE INEN 458
Sal %	NTE INEN 468:1981
Proteína %	A.O.A.C. 2001.11
Grasa %	A.O.A.C. 954.02
Cenizas %	A.O.A.C. 938.08
pH	NTE INEN 181:1991
Digestibilidad in vitro %	Torry Modificado

3.5 FACTORES EN ESTUDIO

Los factores estudiados fueron:

Factor A: Dosis de enzima proteasa líquida.

Factor B: Tiempo de hidrólisis.

3.6 NIVELES DE LOS FACTORES

Factor A:

A1: 20 ppm

A2: 35 ppm

A3: 50 ppm

Factor B:

B1: 120 min

B2: 180 min

3.7 TRATAMIENTOS

La investigación constó de 6 tratamientos dados por la combinación de los factores en estudio, dosis de enzima proteasa y tiempo de hidrólisis, más un blanco o control, con 3 réplicas cada tratamiento generando 21 unidades experimentales expresadas en el siguiente cuadro:

Cuadro 5. Tratamientos ejecutados.

TRATAMIENTOS		DOSIS ppm	TIEMPO min
T1	a1b1	20	120
T2	a1b2	20	180
T3	a2b1	35	120
T4	a2b2	35	180
T5	a3b1	50	120
T6	a3b2	50	180
T7	CONTROL	-	-

3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial $axb+1$, con 6 tratamientos y un control y 3 réplicas por cada tratamiento, dando un total de 21 unidades experimentales.

3.9 UNIDAD EXPERIMENTAL

La capacidad mínima instalada para el procesamiento de hidrolizados enzimáticos de pescado es de 1 Tm, compuesta de 600 kg de residuos más 400 kg de agua de exudado de la cocción o lavado de pescado, los bach de proceso tomaron un tiempo entre 13 a 14 horas de proceso. De cada bach de proceso se obtuvo un rendimiento del 80–85% de hidrolizado con un rango de 10 a 15% de materia seca o un rendimiento concentrado de 25 al 30% con 34% de materia seca.

Se tomaron muestras del producto terminado en botellas Pet transparentes de 500 g por cada tratamiento y fueron enviadas a los laboratorios enlistados en el cuadro 4, para sus respectivos análisis.

3.10 VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables de estudio para la determinación de la dosis de enzimas y tiempos óptimos de hidrólisis para la mejora de la digestibilidad de las proteínas obtenidas de residuos de pescado fueron:

3.10.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

- Dosis de enzima.
- Tiempos de hidrólisis

3.10.2 VARIABLES DEPENDIENTES

- Digestibilidad
- Histaminas
- Sal
- pH
- Humedad

- Proteínas
- Grasas
- Cenizas

3.11 MANEJO DEL EXPERIMENTO

El proceso de hidrólisis por acción de la enzima proteasa obedeció a las etapas expresadas en la figura 1 y detalladas posterior a la figura, las variables independientes dosis de enzima y tiempo de hidrólisis se controlaron en la tercera etapa del flujo mediante instrumentos de medición: vaso de medida y termómetros digitales.

Las muestras de cada tratamiento se enviaron en cantidades necesarias a los laboratorios para determinar su digestibilidad mediante análisis in vitro. Y a cada tratamiento se determinó su perfil proximal (proteínas, grasas, cenizas y humedad) y como parte de los controles de calidad se realizó análisis de pH, histamina y sal a las materias primas y productos terminados.

DIAGRAMA DE PROCESOS

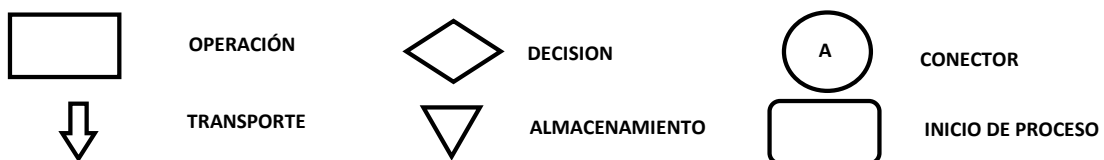
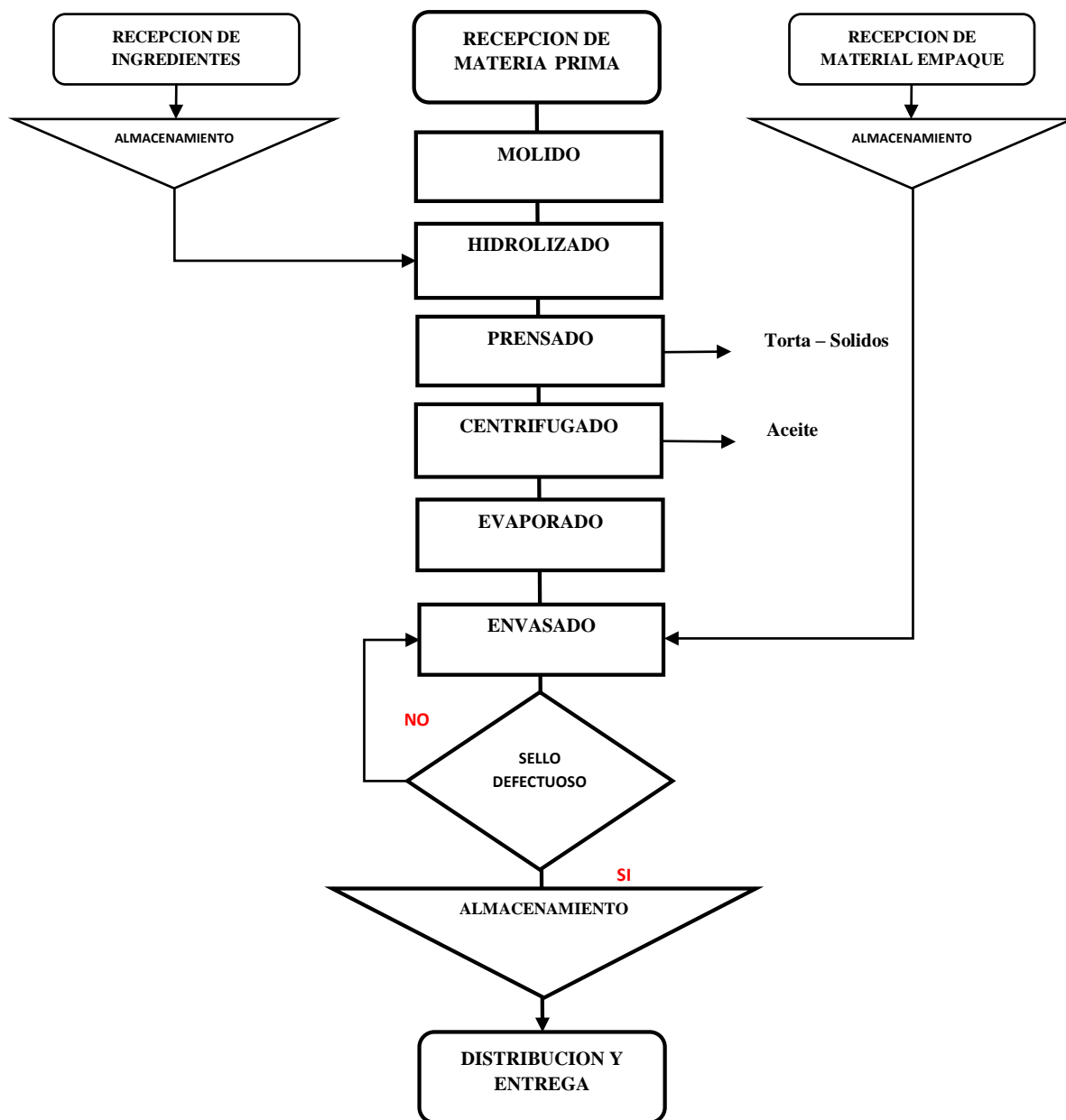


Figura 1. Proceso de obtención de hidrolizados.

DESCRIPCION DEL PROCESO

RECEPTADO DE MATERIA PRIMA:

Materia prima sólida: corresponde a residuos sólidos de pescado procedentes de las salas de proceso conserveras, se compone de: vísceras, cabezas, peces enteros descartados y otros residuos. Se almacenan en cámaras de frío para evitar la descomposición hasta su uso en los procesos productivos.

Control: No se utiliza residuos sólidos en descomposición ya que su cantidad de aminos biogénicos es alta y afecta directamente la calidad del producto terminado.

Materia prima líquida: corresponde al agua obtenida del proceso de cocción de la sardina y atún en la planta de conservas, se colecta y bombea hacia un tanque de almacenamiento en planta.

Control: Las aguas de cocina y los residuos sólidos no deben presentar mal olor característico de un proceso de descomposición. En caso afirmativo se desecha.

MOLIDO:

Los residuos sólidos son molidos y mezclados con agua de cocina formando una mezcla densa que posteriormente es bombeada hacia los tanques de hidrolizado. En esta operación se hace uso de un molino de cuchillas.

HIDROLIZADO:

El producto obtenido del molido se calienta hasta una temperatura de 50°C y se adiciona la enzima para favorecer la hidrólisis de la proteína del pescado, en las dosis propuestas por las formulas. El proceso se efectúa con agitación constante durante el tiempo determinado para cada tratamiento a una temperatura constante entre 50 a 60°C.

Control: Se registrara la cantidad de enzima aplicada y su tiempo de acción. Se controla el rango de temperatura entre 50 a 60°C.

PRENSADO:

El producto ya hidrolizado se pasa a la prensa para separar los sólidos y líquidos (agua cola). El agua cola contiene las proteínas hidrolizadas de bajo peso molecular y se pasara a la centrifuga, los residuos sólidos colectados se enviaran a las plantas procesadoras de harina de pescado

CENTRIFUGADO:

El agua de cola se alimenta continuamente a la centrifuga, un equipo que mediante fuerza mecánica separa el aceite y los sólidos gruesos contenidos en el agua cola obtenido de la prensa. El aceite es almacenado para su posterior venta y los sólidos se juntan con los sólidos que salen de la prensa para su venta posterior a las harineras de pescado.

EVAPORADO:

El agua cola de los hidrolizados se pasa a la marmita para su concentración, para aquello se somete a temperaturas de 80 a 90°C. Al término de esta etapa del proceso se adiciona ácido fosfórico hasta obtener un pH menor a 4, así se evita su descomposición.

ENVASADO:

El producto se envasa en canecas, IBC, tachos plásticos etc. debidamente lavados y sanitizados para evitar la proliferación de microorganismos. El peso de cada contenedor depende de la presentación requerida por el cliente

ALMACENAMIENTO:

El producto previamente envasado se almacena sobre pallet en la bodega de producto terminado a temperatura ambiente.

DISTRIBUCION Y ENTREGA:

Las canecas, IBC, tachos plásticos se cargan en camiones limpios a temperatura ambiente. No es necesario el almacenamiento en frío ya que es un producto estable a condiciones ambientales normales.

METODO TORRY MODIFICADO

Método de predicción de digestibilidad in vitro:

Se preparan muestras entre 0,5 y 1 g del alimento a ser evaluado deben estar finamente molidas con partículas de un diámetro menor a 1 mm, se depositan en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, en cada serie de muestras se incluye un blanco (Hervera, Baucells, Blanch, & Castrillo 2007).

Primera etapa: simulación de la digestión gástrica:

Se adicionan 25 ml de fosfato buffer (0,1 M, pH 6) a cada matraz que contiene la muestra, se mezcla mediante agitación magnética suave con el fin de facilitar la dilución de las proteínas (Hervera et al., 2007); se adicionan 10 ml de ácido clorhídrico (HCL, 0,2 M), y se ajusta hasta un pH de 2 por medio de soluciones de ácido clorhídrico (1 M) y de hidróxido de sodio (NaOH, 1 M); posteriormente se adiciona 1 ml de solución de pepsina preparada recientemente, que contiene 10 mg de pepsina (3651 U/mg) y 1 ml de solución de cloranfenicol (0,5 g en 100 ml de etanol), con el fin de evitar crecimiento bacteriano durante la incubación; los matraces son cerrados con un tapón de caucho y las muestras se incuban en una cámara de temperatura controlada termostáticamente a 39°C durante dos horas con agitación magnética suave y constante (Boisen & Fernández, 1995).

Segunda etapa: simulación de la digestión postgástrica:

Después de la incubación los matraces son enfriados a temperatura ambiente, se adicionan 10 ml de fosfato buffer (0,2 M, pH 6,8) y 5 ml de hidróxido de sodio (NaOH, 0,6 M); se ajusta el pH a 6,8 por medio de soluciones 1 M de ácido clorhídrico y 1 M de NaOH, se adiciona 1 ml de solución de pancreatina recientemente preparada que contiene 100 mg de pancreatina en polvo, se

cierra el matraz y se incuba de nuevo a 39°C durante cuatro horas con agitación constante.

Filtración:

Terminada la segunda etapa de incubación, los matraces se enfrían y se adicionan 5 ml de ácido sulfosalicílico al 20%; las proteínas solubilizadas, pero no digeridas, se dejan precipitar durante treinta minutos a temperatura ambiente. El residuo que queda de este proceso, se recolecta en una unidad filtradora usando crisoles de filtro de vidrio (3 cm de diámetro y poro No. 2) y se transfiere a un crisol con agua; después se realizan dos lavados consecutivos de tres minutos de duración cada uno con 10 ml de etanol al 96% y dos veces con 10 ml de acetona al 99% durante tres minutos, con el fin de remover la grasa de la fibra, por último al residuo indigerido se le determinan los nutrientes que se desean evaluar (Hervera et al., 2007).

3.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos generados en la investigación se utilizó el programa SPSS versión 21 (libre) y se realizaron las siguientes pruebas

Pruebas de homogeneidad y normalidad para las variables digestibilidad, pH, sal e histaminas.

Pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis para las variables que no cumplieron los supuestos de ADEVA: pH y sal.

Se aplicó un análisis de Varianza para las variables digestibilidad e histaminas que cumplieron con los supuestos del ADEVA.

Y se aplicó Dunnett al 5% de probabilidad de error para determinar si existe diferencia significativa de los tratamientos frente al testigo para las variables digestibilidad e histaminas.

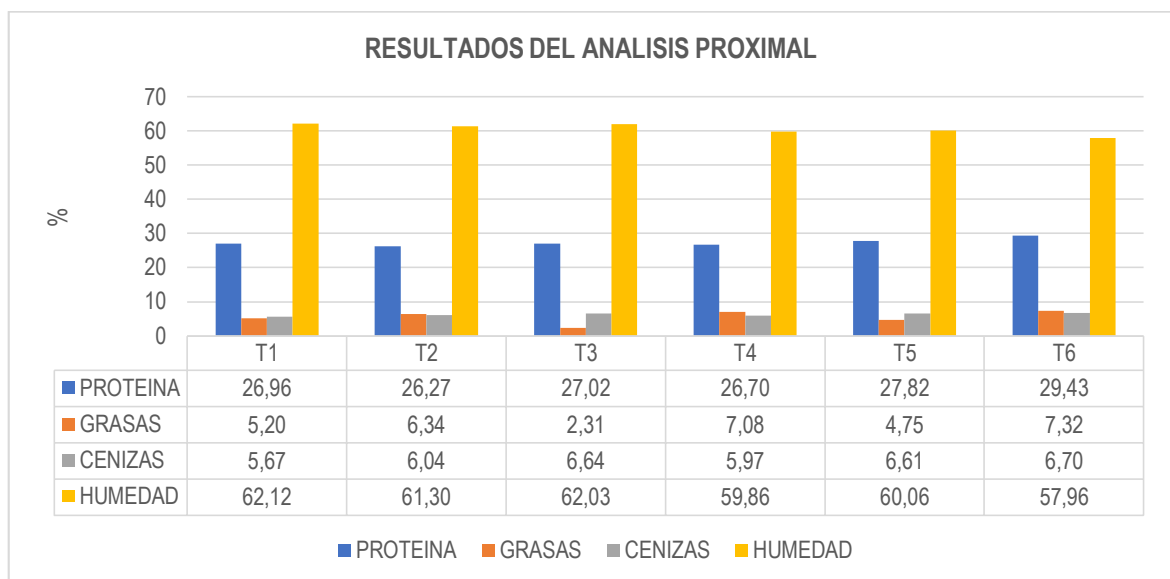
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE LOS HIDROLIZADOS DE PESCADO

4.1.1. CARACTERIZACIÓN DEL HIDROLIZADO

Se realizó el análisis proximal a los hidrolizados de pescado, cuyo objetivo fue tener un conocimiento general de su valor alimenticio, los resultados obtenidos se expresan en la figura 2.

Figura 2. Resultado del análisis proximal en relación con dosis y tiempos de hidrolizado de los residuos de pescado.



Debido a la hidrólisis las propiedades moleculares de las proteínas cambian produciéndose la disminución del peso molecular, el aumento de la carga y la liberación de grupos hidrofóbicos, entre otros fenómenos. Estos cambios moleculares pueden ser detectados con varios métodos analíticos, los cuales reflejan una o varias propiedades fisicoquímicas de las moléculas.

Como resultado de los cambios moleculares, las propiedades funcionales de las proteínas se ven afectadas Aunque el término propiedad funcional con frecuencia se aplica solamente para indicar propiedades tecno-funcionales de los hidrolizados, esto debería también abarcar propiedades bio funcionales, las cuales pueden ser subdivididas en nutricionales y fisiológicas o funcionalidad

biológica. Las propiedades nutricionales de la hidrólisis se reflejan por su digestibilidad aumentada.

4.1.2. DIGESTIBILIDAD

El efecto de la aplicación de las diferentes dosis de enzima (20, 35 y 50 ppm) y los tiempos de hidrólisis (120 y 180 min) se midió por el porcentaje de digestibilidad obtenida de cada tratamiento planteado, de esta manera se dio respuesta a los dos primeros objetivos planteados en esta investigación. Los resultados obtenidos son:

En la variable digestibilidad se obtuvo una significancia $p < 0,05$ para los factores dosis de enzima y tiempo de hidrólisis sobre la digestibilidad, la interacción de ambos factores no es significativo sobre la digestibilidad siendo el factor dosis de enzima 50 ppm que presentó un mejor comportamiento. En el factor tiempo de hidrólisis se determinó que se obtienen mejores resultados a mayor tiempo de 180 min (Cuadro 6). La prueba de Dunnett comparó el testigo frente a cada tratamiento evidenciando significancia en todas las comparaciones (Cuadro 7), los tratamientos con mayor dosis y tiempo presentan un mejor comportamiento con respecto al testigo.

Un estudio realizado por Baez et al. (2016) evidenció en la hidrólisis enzimática de vísceras de tilapia roja que a mayor tiempo de reacción se obtiene mayor grado de hidrólisis y que la mayor velocidad de reacción se alcanza durante las tres primeras horas. Asimismo Lleren y Rodríguez (2017) encontraron un óptimo grado de hidrólisis de 12,59% para un tiempo de dos horas con la aplicación de la dosis más alta de una proteasa. Lo que resulta consecuente con los datos obtenidos ya que los tratamientos T4 (enzima 35 ppm y 180 min) y T6 (enzima 50 ppm y 180 min) con mayor tiempo de hidrólisis y mayor dosis de enzima presentan un mayor grado de digestibilidad.

Villareal et al. (2008) reportó para harinas de pescado un promedio de digestibilidad in vitro del 74% datos que concuerda con el reportado por Nieto (2003) a pesar de que las harinas de pescado eran diferentes, la harina de menhaden registró una digestibilidad in vitro del 81,7% siendo superior a la reportada por Nieto (2003). En esta investigación se obtuvo un promedio de

digestibilidad de 89,49% para el testigo y un promedio de 96,79% para los tratamientos, siendo T4 (enzima 35 ppm y 180 min) con 97,24% y T6 (enzima 50 ppm y 180 min) con 96,92% los tratamientos con mayor digestibilidad, es evidente que la hidrólisis enzimática tiene un efecto significativo sobre el factor digestibilidad.

El conocimiento de los coeficientes de digestibilidad viabiliza la inclusión de una gran variedad de productos y subproductos de la agroindustria en raciones para peces (Pezzato et al., 2002).

4.1.3. pH

El factor dosis de enzima, el factor tiempos de hidrólisis y la interacción de ambos factores sobre el pH no mostraron diferencia significativa (Cuadro 6). La prueba de comparación de los tratamientos frente al testigo demostró que no hay diferencia significativa (Cuadro 7). Guadix et al. (2000) indicaron que las condiciones moderadas de temperatura y pH para la hidrólisis enzimática transcurre generalmente en el intervalo de 40 a 60°C y pH comprendido entre 4-8, en la ejecución del experimento la temperatura de hidrólisis se mantuvo en un rango de 50 a 60°C y un pH comprendido entre 5,6 a 5,9.

Sin embargo a todos los tratamientos se les aplicó 4% de ácido fosfórico para bajar a un pH < 4 y así detener la hidrólisis. En la mezcla de reacción se debe ajustar a un nivel de pH donde la enzima se inactive, para la mayoría de las proteasas, esto significa un ajuste de pH 4-5 ya que la actividad generalmente está fuera de este rango de pH (He et al., 2013).

4.1.4. SAL

El factor dosis de enzima, el factor tiempos de hidrólisis y la interacción de ambos factores sobre la sal no mostraron diferencia significativa (Cuadro 6). La prueba de comparación de los tratamientos frente al testigo demostró que no hay diferencia significativa (Cuadro 7). Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas orgánicas a veces una enzima requiere para su función la presencia de sustancias no proteicas que colaboran en la catálisis: los cofactores. Los cofactores pueden ser iones inorgánicos como la sal, aunque

en este estudio se determinó que no hay significancia de los factores ni la interacción sobre la sal por diferencia de medias se observa que los tratamientos con menor porcentaje de sal tienen mayor digestibilidad por lo que se sugiere estudiar diferentes concentraciones de sal sobre la velocidad de la reacción de hidrólisis, más aun al hidrolizar residuos de pesca conservada en salmuera.

El Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización (INEN 472 1988-04) establece un máximo de 2% de sal en la harina de pescado destinada a consumo animal y normas internacionales como COVENIN (1979) 1482-79 estipula que la cantidad máxima de sal de la harina de pescado es de 3%. Los tratamientos tienen un promedio de 2,83% de sal, excediendo lo estipulado en la normativa nacional ecuatoriana, pero frente a normativas internacionales como la ya citada estaría dentro de parámetro.

4.1.5. HISTAMINAS

Se determinó significancia para el factor dosis de enzima y para la interacción de los factores sobre la variable histaminas, el factor tiempo de hidrólisis no fue significativo. Los factores dosis de enzima 35 y 50 ppm comparten la misma categoría, el factor con mejor comportamiento es 25 ppm de enzima. El análisis de la interacción de los factores concluye que el tratamiento T1 (enzima 20 ppm y 120 min) mostro un mejor comportamiento sobre la histamina ya que sus valores son menores (Cuadro 6). La prueba de Dunnett comparó el testigo frente a cada tratamiento y no se encontró significancia en las comparaciones (Cuadro 7).

Investigaciones realizadas en pollo (Huisman, Van Kempen, Bos, Verstraten, & Fentener, 1992) así como en trucha arcoiris (Cowey & Cho, 1992) o en salmón (Anderson, Higgs, Beames, & Rowshandeli, 1997) demuestran que el consumo de alimento y el crecimiento pueden ser afectados por el nivel de inclusión de harinas de pescado conteniendo altos niveles de aminas biogénicas y harinas de pescado elaboradas con materia prima deteriorada. Las aminas biogénicas de interés en la harina de pescado son: histaminas, cadaverina, putrecina y

tiramina siendo la histamina la amina de mayor interés y la que comúnmente se monitorea indicando la calidad de la materia prima.

Ricque et al. (1998) demostraron que la frescura de la materia prima indicada en términos de TVN en la materia prima (menos de 30 mg/100 g) o por la suma del contenido de las aminas en el producto final (menos de 2000 mg/kg) es un parámetro de calidad que debe ser considerado cuando se seleccionan harinas de pescado para alimentos de camarón. En esta investigación se obtuvo 14,09 mg/100 g (140,9 mg/Kg) promedio de histaminas para los tratamientos y 13,43 mg/100 g (134,3 mg/Kg) para el testigo encontrándose muy por debajo de los límites permisibles, ya que para este tipo de concentrados proteicos hidrolizados se utiliza materias primas en óptimas condiciones.

Cuadro 6. Promedio de las características fisicoquímicas de hidrolizados de residuos de pescado analizadas en el estudio.

	DIGESTIBILIDAD %	pH	SAL %	HISTAMINAS mg/100 g
Dosis de enzima (ppm)				
20	96,64 b	3,65	2,98	11,87 a
35	96,69 ab	3,67	2,83	15,15 b
50	97,04 a	3,68	2,67	15,27 b
p-valor	0,025	0,401	0,394	0,006
Tiempo hidrólisis (min)				
120	96,61 b	3,67	2,92	13,82
180	96,96 a	3,66	2,73	14,37
p-valor	0,008	0,605	0,077	0,496
Tratamientos				
20 ppm y 120 min	96,55	3,59	2,86	11,21 a
20 ppm y 180 min	96,73	3,71	3,10	12,53 ab
35 ppm y 120 min	96,83	3,74	3,02	13,36 ab
35 ppm y 180 min	97,24	3,60	2,63	16,93 b
50 ppm y 120 min	96,45	3,68	2,88	16,89 b

50 ppm y 180 min	96,92	3,68	2,47	13,66 ab
p-valor	0,532	0,118	0,137	0,012

Cuadro 7. Resultados prueba de comparación de medias, tratamientos vs testigo.

COMPARACIONES	DIGESTIBILIDAD	pH	SAL	HISTAMINAS
Tratamientos vs Testigo	p<0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
p-valor				

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. Las dosis de enzimas aplicadas de 20, 35 y 50 ppm demostraron influencia significativa sobre la digestibilidad obteniendo como resultado que la dosis de 50 ppm se obtiene una mayor digestibilidad.
2. Los tiempos de hidrolisis 120 y 180 min mostraron significancia sobre la digestibilidad siendo el tiempo de 180 min el de mejor comportamiento en la hidrolisis de la proteína.
3. Todos los tratamientos mostraron diferencia significativa frente al testigo evidenciando la sustentabilidad de procesos biotecnológicos en la mejora de las propiedades nutricionales de los concentrados proteicos. Siendo el tratamiento de 50 ppm enzima y 180 min de digestibilidad el más sobresaliente.
4. La dosis 20 ppm de enzima y la interacción con el tiempo de hidrólisis de 120 min influye significativamente sobre la histamina. Sin embargo al mantenerse muy por debajo de los límites permisibles la aplicación de enzimas no representa un peligro.

5.2. RECOMENDACIONES

1. Los residuos de pescado deben ser hidrolizados con dosis de 50 ppm de enzima por un tiempo de 180 min para obtener altos porcentajes de digestibilidad.
2. Usar residuos de pescado frescos o mantenidos en congelación para que el contenido de aminas biogénicas no afecte la calidad del producto terminado.
3. Los métodos in vitro son muy prácticos cuando se requiere realizar una evaluación rápida de una materia prima; sin embargo, es solo una aproximación a lo que realmente sucede en el animal, además de presentar variabilidad en los resultados según la metodología utilizada en

cada laboratorio, lo cual dificulta establecer un modelo de predicción preciso, y requiere de comparaciones con resultados obtenidos in vivo, para establecer un factor de correlación.

BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, J. S., Higgs, D. A., Beames, R. M., & Rowshandeli, M. (1997). Fish meal quality assessment for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in sea water. *Aquaculture Nutrition*, 3(1), 25-38. doi:10.1046/j.1365-2095.1997.00067.x
- Baez-Suarez, A. J., Ospina-de-Barreneche, N., & Zapata-Montoya, J. E. (2016). Efecto de Temperatura, pH, Concentración de Sustrato y Tipo de Enzima en la Hidrólisis Enzimática de Vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis* spp.). doi:10.4067/S0718-07642016000600007
- Benítez, R., Ibarz, A., & Pagan, J. (2008). Hidrolizados de proteína: procesos y aplicaciones. Popayan, Colombia: Chemical Abstract Service. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53542208>> ISSN 0325-2957
- Boisen, S., & Fernańdez, J. A. (1995). Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by in vitro analyses. *Animal Feed Science and Technology*, 51(1-2), 29-43. doi:10.1016/0377-8401(94)00686-4
- Cámara Nacional Pesquería. CNP (2017). Análisis de Pesquerías y Condiciones Oceanográficas. Ecuador. Recuperado el 21 de enero del 2019 de: <https://camaradepesqueria.com/exportaciones-pesqueras-enero-septiembre-2017>
- Casas-Godoy, L., Meunchan, M., Cot, M., Duquesne, S., Bordes, F., & Marty, A. (2014). *Yarrowia lipolytica* lipase Lip2: an efficient enzyme for the production of concentrates of docosahexaenoic acid ethyl ester. *Journal of biotechnology*, 180, 30-36. doi:10.1016/j.jbiotec.2014.03.018
- Casas, L., & Coral, G. (2014). Enzimas en la valorización de residuos agroindustriales. Jalisco: Recuperado en RDU Revista digital universitaria: <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art95>
- COVENIN (Comisión Venezolana de Normas Industriales). 1979. Alimentos para animales. Harina de pescado 1482-79. Caracas, Venezuela. Recuperado en: <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/1482-79.pdf>
- Cowey, C. B., & Cho, C. Y. (1992). Failure of dietary putrescine to enhance the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49(12), 2469-2473. doi:10.1139/f92-272
- Chalamaiah, M., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. India: Elsevier. doi:10.1016/j.foodchem.2012.06.100
- Dekkers, E., Raghavan, S., Kristinsson, H. G., & Marshall, M. R. (2011). Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein

hydrolysates. Unites States: Elsevier.
doi:10.1016/j.foodchem.2010.06.088

- Fernández Jerí, A. B. (2001). Elaboración de un hidrolizado de residuos de pescado por fermentación de sustrato sólido con hongos filamentosos (No. Q52 F4-T). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima (Peru). Escuela de Post-Grado. Especialidad en Tecnología de los Alimentos. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/10>
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, 50(1), 289-297. doi:10.1016/j.foodres.2012.10.031
- Food and Agriculture Organization. (2018). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Roma.
- Food and Agriculture Organization. (1998). El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. Documento Técnico de Pesca. No. 348. Roma.
- Food and Agriculture Organization. (1994). El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de su Calidad. Roma.
- García-Sifuentes, C. O., Pacheco-Aguilar, R., Valdez-Hurtado, S., Márquez-Ríos, E., Lugo-Sánchez, M. E., & Ezquerro-Brauer, J. M. (2009). Impact of stickwater produced by the fishery industry: treatment and uses. *CyTA-Journal of Food*, 7(1), 67-77. doi:10.1080/11358120902850412
- Grimble, G. K., Keohane, P. P., Higgins, B. E., Kaminski, M. V., & Silk, D. B. A. (1986). Effect of peptide chain length on amino acid and nitrogen absorption from two lactalbumin hydrolysates in the normal human jejunum. *Clinical Science*, 71(1), 65-69. doi: 10.1042/cs0710065
- Godoy, L. C., & Fabián, G. C. S. (2014). Enzimas en la valorización de residuos agroindustriales. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.15/num12/art95/>
- Guadix, A., Guadix, E. M., Páez, M. P., Gonzales, P., & Camacho, F. (2000). Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. *Ars Pharmaceutica*, 41(1), 79-89. Recuperado de: https://www.ugr.es/~fcamacho/Originales/Trabajos%20Publicados/ARS_2000.pdf
- He, S., Franco, C., & Zhang, W. (2013). Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, 50(1), 289-297. doi:10.1016/j.foodres.2012.10.031
- Hervera, M., Baucells, M. D., Blanch, F., & Castrillo, C. (2007). Prediction of digestible energy content of extruded dog food by in vitro analyses. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 91(5-6), 205-209. doi:10.1111/j.1439-0396.2007.00693.x
- Huisman, J., Van Kempen, G. J. M., Bos, K. D., Verstraten, A. J. M. A., & Fentener van Vlissingen, J. M. (1992). Effect of fish meal quality and

biogenic amines on performance of piglets and chicken. *Nutrition & Food Research Annual Report*, TNO Biotechnology and Chemistry Institute, Zeist, the Netherlands, 12-13. Recuperado de: <https://www.eprints.uanl.mx/5507/1/1080124481>

Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización INEN (1988-472). *HARINA DE PESCADO PARA CONSUMO ANIMAL REQUISITOS*. Quito, Ecuador

Kim, S. B., Shin, H. S., & Lim, J. W. (2004). Separation of calcium-binding protein derived from enzymatic hydrolysates of cheese whey protein. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 17(5), 712-718. doi:10.5713/ajas.2004.712

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 43-81. doi:10.5713/ajas.2004.712

Lleren, T., & Rodríguez, W. (2017). Obtención y caracterización de un hidrolizado de colágeno purificado producido mediante el uso de la enzima delvolase. Lima: *Anales Científicos*. Pike, I. H., & Hardy, R. W. (1997). Standards for assessing quality of feed ingredients. *Crustacean Nutrition*, 473-491. doi:10.21704/ac.v78i2.1067

Nieto López, M. G. (2003). Desarrollo de una técnica de digestibilidad in vitro para el control de calidad de harinas de pescado y alimentos para camarón (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León). Recuperado de: <http://eprints.uanl.mx/5503/1/1080124477.PDF>

Pezzato, L. E., Miranda, E. C., Barros, M., Quintero, L., & Furuya, W. M. (2002). Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). Brasil: *Revista Brasileira de Zootecnia*. Pike, I.H. 1998. Fishmeal outlook. *Aquafeed*, January/February 1998, 5-8. Recuperada de: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbz/v31n4/13720.pdf>

Pike, I.H. and Hardy, R.W., (1997). Standards for assaying quality of feed ingredients. In: D'Abraham, L.R., Conklin, D.E., Akiyama, D.M, (Eds), *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture*, vol.6, The World Aquaculture Society, Louisiana State University, Baton Rouge, USA, 473-492. doi: 10.1002/fsn3.659

Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J., & Tiwary, A. K. (2012). Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from *Stevia rebaudiana* leaves. *Food Chemistry*, 132(3), 1113-1120. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.063

Ricque-Marie, D., Abdo-de La Parra, M. I., Cruz-Suárez, L. E., Cuzon, G., Cousin, M., & Pike, I. H. (1998). Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture*, 165(1-2), 95-109. doi:10.1016/S0044-8486(98)00229-4

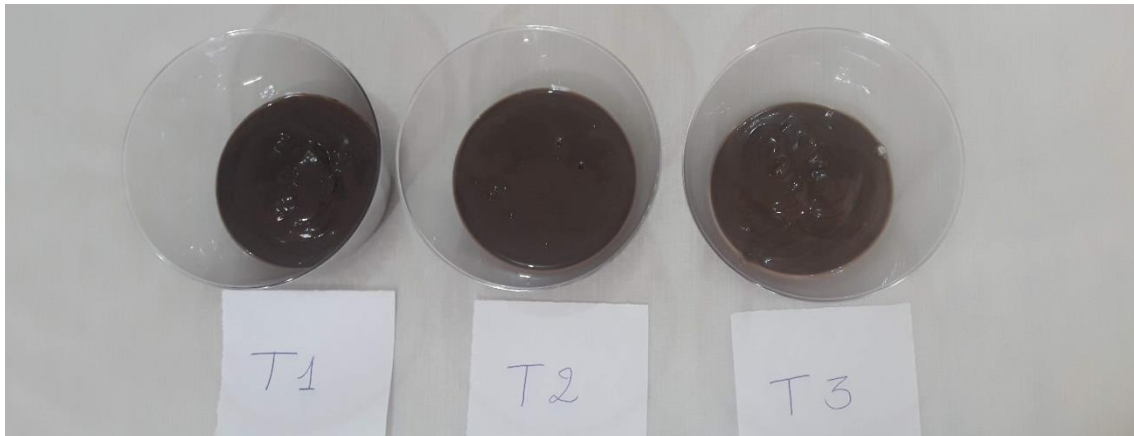
Rodríguez, A. (01 de 10 de 2016). Ecoeficiencia y rentabilidad de los desechos pesqueros. Recuperado de <https://centrosconacyt.mx/directorio/>
<https://centrosconacyt.mx/directorio/>

- Romero, J. J., Castro, E., Diaz, A. M., Reveco, M., & Zaldivar, J. (1994). Evaluation of methods to certify the "premium" quality of Chilean fish meals. *Aquaculture*, 124(1-4), 351-358. doi:10.1016/0044-8486(94)90408-1
- Romero, J. J., Castro, E., Diaz, A. M., Reveco, M., & Zaldivar, J. (1994). Evaluation of methods to certify the "premium" quality of Chilean fish meals. *Aquaculture*, 124(1-4), 351-358. doi:10.1016/0044-8486(94)90408-1
- Siccardi III, A. J., Lawrence, A. L., & Gatlin III, D. M. (2006). Apparent dry matter and energy digestibility of ingredients for pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* diets. In Annual Meeting of the World Aquaculture Society, America (pp. 13-16). doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02307.x
- Suarez, D. (2010). Obtención de hidrolizado de proteína de pescado a partir de tilapia roja (*Oreochromis* sp). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Food and Agriculture Organization (02 de Junio de 2012). (Tesis de maestría). Recuperado de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/2786/1/107411.2010.pdf>
- Traverso, J., & Avdalov, N. (2014). Beneficios del consumo de pescado. Uruguay: Dirección Nacional de Recursos Acuáticos. Recuperado de: http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/beneficios_del_consumo.pdf
- Villarreal Cavazos, D. A., Ricque Marie, D., Tapia Salazar, M., Nieto López, M. G., Guajardo Barbosa, C., Lemme, A., & Cruz Suárez, L. E. (2008). Digestibilidad aparente de aminoácidos de 10 harinas de pescado utilizadas en alimentos comerciales para camarón blanco (*L. vannamei*) en México. doi:10.7773/cm.v40i3.2427
- Yin, S. W., Tang, C. H., Cao, J. S., Hu, E. K., Wen, Q. B., & Yang, X. Q. (2008). Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate. *Food chemistry*, 106(3), 1004-1013. doi:10.1016/j.foodchem.2007.07.030
- Zapata, J. I. H., & Castañeda, C. A. G. (2017). Hidrolizados de pescado—producción, beneficios y nuevos avances en la industria.—Una revisión. *Acta Agronómica*, 66(3), 311-322. doi:10.15446/acag.v66n3.52595

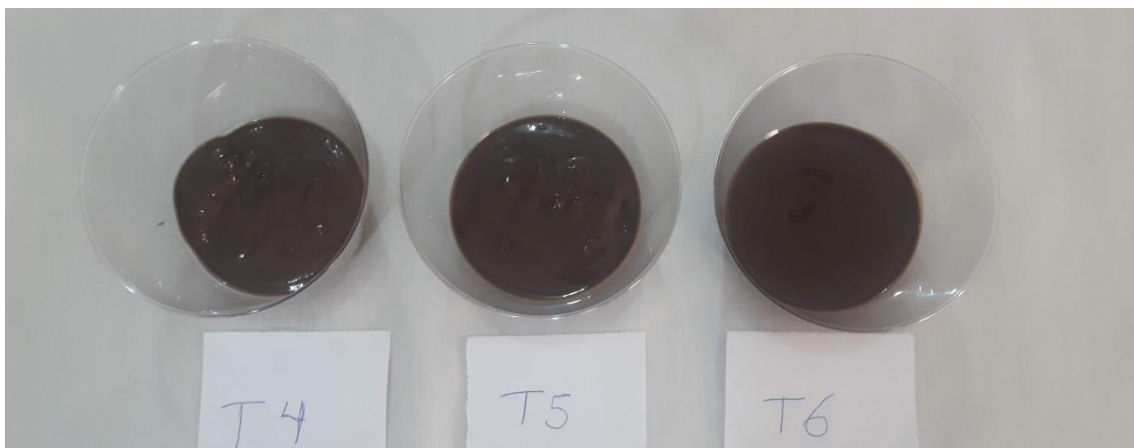
ANEXOS

ANEXO 1**CONCENTRADO DE PROTEINAS HIDROLIZADAS**

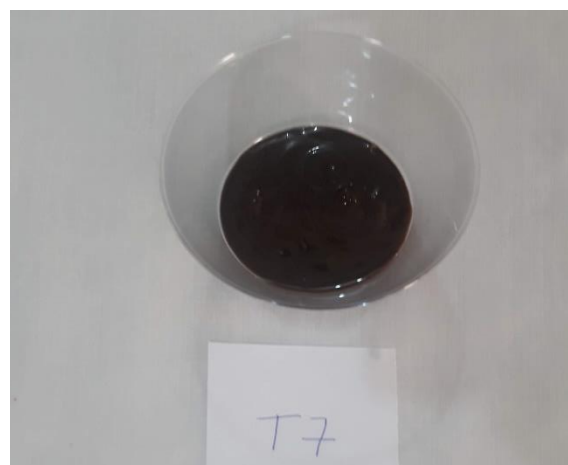
1-A. Proteínas hidrolizadas concentradas tratamiento 1, tratamiento 2 y tratamiento 3.



1-B. Proteínas hidrolizadas concentradas tratamiento 4, tratamiento 5 y tratamiento 6.




1-C. Proteínas concentradas Testigo o control.



ANEXO 2

RESULTADO DE ANÁLISIS FÍSICOS QUÍMICOS

2-A. Resultado de análisis físicos químicos de materia prima residuos de corte de botella.

	DEPARTAMENTO CONTROL DE CALIDAD PUERTOMAR S.A					
	REGISTRO DE ANALISIS FISICOS QUIMICOS					
FECHA	LOTE	PROVEEDOR	HISTAMINAS	SAL	PROTEINA	pH
14/04/2019	001-12C-19	HERNANDES	4,56	0,98	7,34	
14/04/2019	001-12C-19	HERNANDES	5,32	0,87	7,28	
14/04/2019	001-12C-19	HERNANDES	5,21	0,67	7,31	

OBSERVACIONES: Residuos de corte de morenillo.



REALIZADO POR :
Ing. Ramon Parrales



REVISADO POR:
Ing. Evelyn Lavid

2-B. Resultado de análisis físicos químicos de los concentrados de proteínas obtenidos.

	DEPARTAMENTO CONTROL DE CALIDAD PUERTOMAR S.A					
	REGISTRO DE ANALISIS FISICOS QUIMICOS					
FECHA	LOTE	PROVEEDOR	HISTAMINAS	SAL	HUMEDAD	pH
09/04/2019	79 T1 R1	HARINERA	12,02	2,68	60,40	3,57
09/04/2019	79 T1 R2	HARINERA	10,24	3,01	62,12	3,63
09/04/2019	79 T1 R3	HARINERA	11,38	2,89	60,05	3,58
10/04/2019	81 T2 R1	HARINERA	13,04	3,21	64,94	3,62
10/04/2019	81 T2 R2	HARINERA	10,75	3,7	62,30	3,64
10/04/2019	81 T2 R2	HARINERA	13,8	2,39	59,50	3,87
11/04/2019	84 T3 R1	HARINERA	15,54	3,05	63,03	3,76
12/04/2019	84 T3 R2	HARINERA	13,23	2,98	62,00	3,69
12/04/2019	84 T3 R3	HARINERA	11,32	3,03	61,78	3,78
15/04/2019	85 T4 R1	HARINERA	14,32	2,6	59,86	3,54
15/04/2019	85 T4 R2	HARINERA	19,45	2,57	60,80	3,69
15/04/2019	85 T4 R3	HARINERA	17,03	2,72	62,00	3,56
16/04/2019	87 T5 R1	HARINERA	16,37	3,15	58,24	3,67
16/04/2019	87 T5 R2	HARINERA	16,37	2,68	64,04	3,7
16/04/2019	87 T5 R2	HARINERA	17,93	2,8	63,57	3,66
16/04/2019	88 T6 R1	HARINERA	13,04	2,4	62,00	3,65
21/04/2019	88 T6 R2	HARINERA	15,04	2,37	62,45	3,68
21/04/2019	88 T6 R3	HARINERA	12,89	2,64	59,70	3,71
21/04/2019	89 T7 R1	HARINERA	15,46	3,65	61,80	3,72
24/04/2019	89 T7 R2	HARINERA	13,23	3,56	62,67	3,66
24/04/2019	89 T7 R3	HARINERA	11,78	2,87	62,45	3,67



REALIZADO POR :
Ing. Ramon Parrales



REVISADO POR:
Ing. Evelyn Lavid

2-C. Resultado de análisis de digestibilidad in vitro de los concentrados de proteínas obtenidos.



INFORME DE RESULTADOS IDR 24807-2019

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 400 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	79 T1 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 1 Lote: 79 T1 R1 F Elab.: 20/03/2019 F Cad.: 20/03/2021	UBA-24807-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetria)	96.59	%	-



INFORME DE RESULTADOS IDR 24808-2019

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 400 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	79 T1 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 1 Lote: 79 T1 R2 F Elab.: 20/03/2019 F Cad.: 20/03/2021	UBA-24808-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetria)	96.51	%	-



INFORME DE RESULTADOS IDR 24809-2019

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 450 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	79 T1 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 1 Lote: 79 T1 R3 F Elab.: 20/03/2019 F Cad.: 20/03/2021	UBA-24809-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetria)	96.55	%	-



INFORME DE RESULTADOS IDR 24809-2019

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 450 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	81 T2 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis			22 de Abril del 2019			
Fecha de Finalización del análisis			23 de Abril del 2019			
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 3 Lote: 81 T2 R1 F Elab.: 22/03/2019 F Cad.: 22/03/2021	UBA-24809-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.02	%	-



INFORME DE RESULTADOS IDR 24810-2019

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 457 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	81 T2 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis			22 de Abril del 2019			
Fecha de Finalización del análisis			23 de Abril del 2019			
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 3 Lote: 81 T2 R2 F Elab.: 22/03/2019 F Cad.: 22/03/2021	UBA-24810-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.49	%	-



INFORME DE RESULTADOS IDR 24810-2019

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 450 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	81 T2 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis			22 de Abril del 2019			
Fecha de Finalización del análisis			23 de Abril del 2019			
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 3 Lote: 81 T2 R3 F Elab.: 22/03/2019 F Cad.: 22/03/2021	UBA-24810-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.67	%	-

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24811-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 473 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	84 T3 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 5 Lote: 84 T3 R1 F Elab.: 25/03/2019	UBA-24811-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.36	%	-

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24812-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 464 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	84 T3 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 6 Lote: 84 T3 R2 F Elab.: 25/03/2019 F Cad.: 25/03/2021	UBA-24812-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.34	%	-

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24812-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 450 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	84 T3 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 6 Lote: 84 T3 R3 F Elab.: 25/03/2019 F Cad.: 25/03/2021	UBA-24812-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.80	%	-

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24813-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 526 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	85 T4 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 7 Lote: 85 T4 R1 F Elab.: 26/03/2019 F Cad.: 26/03/2021	UBA-24813-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.13	%	-

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24814-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 385 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	85 T4 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 8 Lote: 85 T4 R2 F Elab.: 26/03/2019 F Cad.: 26/03/2021	UBA-24814-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.29	%	-

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24814-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 430 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	85 T4 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 8 Lote: 85 T4 R3 F Elab.: 26/03/2019 F Cad.: 26/03/2021	UBA-24814-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.30	%	-


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24815-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 433 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	87 T5 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 9 Lote: 87 T5 R1 F Elab.: 28/03/2019 F Cad.: 28/03/2021	UBA-24815-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.39	%	-


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24816-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 403 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	87 T5 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 10 Lote: 87 T5 R2 F Elab.: 28/03/2019 F Cad.: 28/03/2021	UBA-24816-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.50	%	-


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24816-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 430 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	87 T5 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 10 Lote: 87 T5 R3 F Elab.: 28/03/2019 F Cad.: 28/03/2021	UBA-24816-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.46	%	-

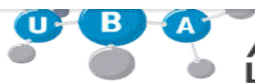


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24817-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 501 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	88 T6 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 11 Lote: 88 T6 R1 F Elab.: 29/03/2019 F Cad.: 29/03/2021	UBA-24817-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.01	%	-

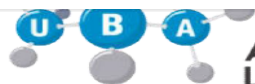


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24818-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 479 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	88 T6 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 12 Lote: 88 T6 R2 F Elab.: 29/03/2019 F Cad.: 29/03/2021	UBA-24818-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.87	%	-

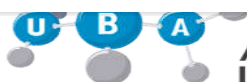


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24818-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 450 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	88 T6 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 12 Lote: 88 T6 R3 F Elab.: 29/03/2019 F Cad.: 29/03/2021	UBA-24818-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	96.90	%	-



**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24819-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 400 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	89 T7 R1			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 13 Lote: 88 T7 R1 F Elab.: 30/03/2019 F Cad.: 30/03/2021	UBA-24819-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.26	%	-

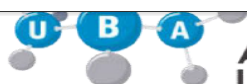


**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24820-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 400 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	89 T7 R2			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 14 Lote: 89 T7 R2 F Elab.: 30/03/2019 F Cad.: 30/03/2021	UBA-24820-1	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	97.30	%	-



**ANALYTICAL
LABORATORIES**
TESTING & CONSULTING

**INFORME DE RESULTADOS
IDR 24820-2019**

Fecha: 25 de Abril del 2019

DATOS DEL CLIENTE						
Nombre	LAVID NAVARRETE EVELYN CONSUELO					
Dirección	Manta avenida 106 calle 117 y 118					
Teléfono	0986325283					
Contacto	Srta. Evelyn Lavid					
DATOS DE LA MUESTRA						
Tipo de muestra	Proteína Hidrolizada	Cantidad	Aprox. 450 mL			
No. de muestras	1 (n=1)	Lote	89 T7 R3			
Presentación	Frasco plástico	Fecha de recepción	18 de Abril del 2019			
Colecta de muestra	Realizado por el Cliente	Fecha de colecta de muestra	N/A			
CONDICIONES DEL ANALISIS						
Temperatura (°C)	24.5	Humedad (%)	52.5			
Fecha de Inicio de Análisis	22 de Abril del 2019					
Fecha de Finalización del análisis	23 de Abril del 2019					
RESULTADOS						
CODIGO CLIENTE	CODIGO UBA	PARAMETROS	METODO	RESULTADOS	Unidades	Límite de Cuantificación
Proteína de Pescado # 14 Lote: 89 T7 R3 F Elab.: 30/03/2019 F Cad.: 30/03/2021	UBA-24820-2	Digestibilidad	Torry Modificado (Volumetría)	88.81	%	-

2-D. Resultado de análisis proximal de los concentrados de proteínas obtenidos.

Razon social: ProteicoCorp S.A.
 RUC: 0992948442001
 Direccion: Via Duran – Boliche Km 27

16 de junio del 2019

A quien corresponda
 Manta.-

Adjunto los resultados de los concentrados proteicos hidrolizados:

FECHA	LOTE	PROTEINA	GRASAS	CENIZA S	HUMEDAD
09/04/2019	T1	26,96	5,20	5,67	62,12
10/04/2019	T2	26,27	6,34	6,04	61,30

INFORME DE LABORATORIO

IE/CESECCA/53606

CLIENTE:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA MUESTREO:	N/A
ATENCION:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA DE INGRESO:	17/06/2019
DIRECCION:	VIA DURAN - BOLICHE KM 27	FECHA INICIO DE ENSAYO:	18/06/2019
ESPECIE:	N/A	FECHA FINALIZACION ENSAYO:	20/06/2019
TIPO DE ENVASE:	BOTELLA DE PLASTICO	FECHA EMISION RESULTADOS:	20/06/2019
No. CAJAS:	N/A	FACTURA:	026-002-2510
UNIDADES/PESO:	1/500g	ORDEN:	53606
MARCA:	N/A	PAIS DE DESTINO:	N/A
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA :	CONCENTRADO LIQUIDO DE PROTEINA DE PESCADO	TIPO DE PRODUCTO:	PRODUCTO DEL MAR

ENSAYO	LOTE	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE Expandida (k=2)	LIMITES	MÉTODO
Cenizas	84 T3 FECHA ELAB.: 25/03/2019 FECHA CADUCIDAD: 25/03/2021	%	6,64	+/- 0,71	-	PEE/CESECCA/QC/09 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016 938.08; 900.02 NTE INEN 467:1980; AACCC 08-12, Ed. 1999
Proteína		%	27,02**	-	-	PEE/CESECCA/QC/15 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016; 2001.11 NTE INEN 465: 1980
Materia Grasa		%	2,31	+/- 0,53	-	PEE/CESECCA/QC/04 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016; 2003.06 NTE INEN 466: 1980

INFORME DE LABORATORIO

IE/CESECCA/53607

CLIENTE:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA MUESTREO:	N/A
ATENCION:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA DE INGRESO:	17/06/2019
DIRECCIÓN:	VIA DURAN - BOLICHE KM 27	FECHA INICIO DE ENSAYO:	18/06/2019
ESPECIE:	N/A	FECHA FINALIZACION ENSAYO:	20/06/2019
TIPO DE ENVASE:	BOTELLA DE PLASTICO	FECHA EMISION RESULTADOS:	20/06/2019
No. CAJAS:	N/A	FACTURA:	026-002-2510
UNIDADES/PESO:	1/500g	ORDEN:	53607
MARCA:	N/A	PAIS DE DESTINO:	N/A
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA :	CONCENTRADO LIQUIDO DE PROTEINA DE PESCADO	TIPO DE PRODUCTO:	PRODUCTO DEL MAR

ENSAYO	LOTE	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE Expandida (k=2)	LIMITES	MÉTODO
Cenizas	85 T4 FECHA ELAB.: 26/03/2019 FECHA CADUCIDAD: 26/03/2021	%	7,08	+/- 0,75	-	PEE/CESECCA/QC/09 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016 938.08; 900.02 NTE INEN 467.1980 ; AACCC 08-12, Ed. 1999
Proteína		%	26,70**	-	-	PEE/CESECCA/QC/15 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016; 2001.11 NTE INEN 465.1980
Materia Grasa		%	5,97**	-	-	PEE/CESECCA/QC/04 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016; 2003.06 NTE INEN 466.1980

INFORME DE LABORATORIO

IE/CESECCA/53608

CLIENTE:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA MUESTREO:	N/A
ATENCION:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA DE INGRESO:	17/06/2019
DIRECCIÓN:	VIA DURAN - BOLICHE KM 27	FECHA INICIO DE ENSAYO:	18/06/2019
ESPECIE:	N/A	FECHA FINALIZACION ENSAYO:	20/06/2019
TIPO DE ENVASE:	BOTELLA DE PLASTICO	FECHA EMISION RESULTADOS:	20/06/2019
No. CAJAS:	N/A	FACTURA:	026-002-2510
UNIDADES/PESO:	1/500g	ORDEN:	53608
MARCA:	N/A	PAIS DE DESTINO:	N/A
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA :	CONCENTRADO LIQUIDO DE PROTEINA DE PESCADO	TIPO DE PRODUCTO:	PRODUCTO DEL MAR

ENSAYO	LOTE	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE Expandida (k=2)	LIMITES	MÉTODO
Cenizas	87 T5 FECHA ELAB.: 28/03/2019 FECHA CADUCIDAD: 28/03/2021	%	6,61	+/- 0,70	-	PEE/CESECCA/QC/09 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016 938.08; 900.02 NTE INEN 467.1980 ; AACCC 08-12, Ed. 1999
Proteína		%	27,82**	-	-	PEE/CESECCA/QC/15 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016; 2001.11 NTE INEN 465.1980
Materia Grasa		%	4,75	+/- 1,09	-	PEE/CESECCA/QC/04 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016; 2003.06 NTE INEN 466.1980

INFORME DE LABORATORIO

IE/CESECCA/53609

CLIENTE:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA MUESTREO:	N/A
ATENCION:	PROTEICOCORP S.A.	FECHA DE INGRESO:	17/06/2019
DIRECCIÓN:	VIA DURAN - BOLICHE KM 27	FECHA INICIO DE ENSAYO:	18/06/2019
ESPECIE:	N/A	FECHA FINALIZACION ENSAYO:	20/06/2019
TIPO DE ENVASE:	BOTELLA DE PLASTICO	FECHA EMISION RESULTADOS:	20/06/2019
No. CAJAS:	N/A	FACTURA:	026-002-2510
UNIDADES/PESO:	1/500g	ORDEN:	53609
MARCA:	N/A	PAIS DE DESTINO:	N/A
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA :	CONCENTRADO LIQUIDO DE PROTEINA DE PESCADO	TIPO DE PRODUCTO:	PRODUCTO DEL MAR

ENSAYO	LOTE	UNIDADES	RESULTADOS	INCERTIDUMBRE Expandida (k=2)	LIMITES	MÉTODO
Cenizas	88 T6 FECHA ELAB.: 29/03/2019 FECHA CADUCIDAD: 29/03/2021	%	6,70	+/- 0,71	-	PEE/CESECCA/QC/09 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016 938.08; 900.02 NTE INEN 467:1980; AACC 08- 12, Ed. 1999
Proteína		%	29,43**	-	-	PEE/CESECCA/QC/15 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016, 2001.11 NTE INEN 465:1980
Materia Grasa		%	7,32**	-	-	PEE/CESECCA/QC/04 Método de Referencia AOAC Ed. 20, 2016, 2003.06 NTE INEN 466:1980

ANEXO 3

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3-A. Resultados de la prueba de normalidad Shapiro-Wilk.

PRUEBAS DE NORMALIDAD			
	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
DIGESTIBILIDAD	0,911	18	0,09
pH	0,958	18	0,561
SAL	0,939	18	0,274
HISTAMINAS	0,966	18	0,711

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

3-B. Resultados de la prueba de homogeneidad Levene.

CONTRASTE DE LEVENE SOBRE LA IGUALDAD DE LAS VARIANZAS ERROR ^A				
	F	gl1	gl2	Sig.
DIGESTIBILIDAD	3,046	5	12	,053
pH	5,624	5	12	,007
SAL	3,844	5	12	,026
HISTAMINAS	,812	5	12	,564

Contrasta la hipótesis nula de que la varianza error de la variable dependiente es igual a lo largo de todos los grupos.

a. Diseño: FACTOR_A + FACTOR_B + FACTOR_A * FACTOR_B

3-C. ADEVA para la variable digestibilidad.

VARIABLE DEPENDIENTE: DIGESTIBILIDAD					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	168622,931 ^a	6	28103,822	506679,481	,000
FACTOR_A	,565	2	,283	5,093	,025
FACTOR_B	,562	1	,562	10,129	,008
FACTOR_A *	,074	2	,037	,666	,532
FACTOR_B					
Error	,666	12	,055		
Total	168623,597	18			

a. R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = 1,000)

3-D. Prueba de Tukey para factor A sobre la variable digestibilidad.

DIGESTIBILIDAD			
DHS de Tukey ^{a,b}			
FACTOR_A	N	Subconjunto	
		1	2
a1	6	96,6383	
a3	6	96,6883	96,6883
a2	6		97,0367
Sig.		,929	,060

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.
 Basadas en las medias observadas.
 El término de error es la media cuadrática (Error) = ,055.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000
 b. Alfa = 0.05.

3-E. ADEVA para la variable histamina.

VARIABLE DEPENDIENTE: HISTAMINAS					
Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	3659,499 ^a	6	609,916	219,957	,000
FACTOR_A	44,647	2	22,324	8,051	,006
FACTOR_B	1,367	1	1,367	,493	,496
FACTOR_A * FACTOR_B	36,033	2	18,016	6,497	,012
Error	33,275	12	2,773		
Total	3692,773	18			

a. R cuadrado = ,991 (R cuadrado corregida = ,986)

3-F. Prueba de Tukey para factor A sobre la variable histaminas.

HISTAMINA			
DHS de Tukey ^{a,b}			
FACTOR_A	N	Subconjunto	
		1	2
a1	6	11,8717	
a2	6		15,1483
a3	6		15,2733
Sig.		1,000	,991

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.
 Basadas en las medias observadas.
 El término de error es la media cuadrática(Error) = 2,773.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6,000
 b. Alfa = 0.05.

3-G. Prueba de Tukey para la combinación de factores AXB sobre la variable histaminas.

HISTAMINAS			
HSD de Tukey ^a			
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
a1*b1	3	11,2133	
a1*b2	3	12,5300	12,5300
a2*b1	3	13,3633	13,3633
a3*b2	3	13,6567	13,6567
a3*b1	3		16,8900
a2*b2	3		16,9333
Sig.		,502	,061

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

3-H. ADEVA de Kruskal Wallis para variable pH

RESUMEN DE PRUEBA DE HIPÓTESIS				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de FACTOR_A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,401	Retener la hipótesis nula.

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

RESUMEN DE PRUEBA DE HIPÓTESIS				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de FACTOR_B.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	,605 ¹	Retener la hipótesis nula.

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

¹Se muestra la significancia exacta para esta prueba.

RESUMEN DE PRUEBA DE HIPÓTESIS				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de INTERACCIÓN.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,118	Retener la hipótesis nula.

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

3-I. ADEVA de Kruskal Wallis para variable sal.

RESUMEN DE PRUEBA DE HIPÓTESIS				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de SAL es la misma	Prueba Kruskal-Wallis de	,394	Retener la

entre las categorías de FACTOR_A. muestras independientes hipótesis nula.

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

RESUMEN DE PRUEBA DE HIPÓTESIS

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de SAL es la misma entre las categorías de FACTOR_B.	Prueba U de Mann-Whitney de muestras independientes	,077 ¹	Retener la hipótesis nula.

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

¹Se muestra la significancia exacta para esta prueba.

RESUMEN DE PRUEBA DE HIPÓTESIS

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de SAL es la misma entre las categorías de INTERACCIÓN.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,137	Retener la hipótesis nula.

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

3-J. Prueba de comparación tratamientos vs testigos para la variable digestibilidad.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: DIGESTIBILIDAD

t de Dunnett (>control)^a

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95% Límite inferior
T1	TESTIGO	7,06000*	,25448	,000	6,4156
T2	TESTIGO	7,23667*	,25448	,000	6,5923
T3	TESTIGO	7,34333*	,25448	,000	6,6989
T4	TESTIGO	7,75000*	,25448	,000	7,1056
T5	TESTIGO	6,96000*	,25448	,000	6,3156
T6	TESTIGO	7,43667*	,25448	,000	6,7923

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

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

3-K. Prueba de comparación tratamientos vs testigos para la variable histaminas.

VARIABLE DEPENDIENTE: HISTAMINAS

t de Dunnett (<control)^a

(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%
					Límite superior
T1	TESTIGO	-2,27667	1,38267	,209	1,2246
T2	TESTIGO	-,96000	1,38267	,596	2,5412
T3	TESTIGO	-,12667	1,38267	,831	3,3746
T4	TESTIGO	3,44333	1,38267	1,000	6,9446
T5	TESTIGO	3,40000	1,38267	1,000	6,9012
T6	TESTIGO	,16667	1,38267	,887	3,6679

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