



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO AGROINDUSTRIAL



CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TESIS DE GRADO

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

TEMA

**EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.)
COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA
CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis
mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*).**

AUTOR

CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA

DIRECTORA DE TESIS

Dra. SUNGEY NAYNEE SÁNCHEZ LLAGUNO

**QUEVEDO - ECUADOR
2015**



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA**, declaro 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.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS

Guayaquil: 10672

Quevedo: 73

CERTIFICADO

La suscrita, Dra. Sungey Naynee Sánchez Llaguno, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el Egresado **CESAR ROLANDO MERA MENDOZA**, realizó la tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial titulada **EFFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*)**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Sungey Naynee Sánchez Llaguno PhD.

DIRECTORA DE TESIS



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302
Fax: (593-05) 2753300 – 2753303
e-mail: info@uteq.edu.ec
Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

Yo, Geól. Ernestina Clemencia Coello León con CC N°.120172312-7, docente de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifico que he revisado la tesis de grado del Egresado **CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA** con CC N°. 092840433-4 previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, titulada "EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*)", habiendo cumplido con la redacción y corrección ortográfica que se ha indicado.

Geól. M.Sc. Ernestina Clemencia Coello León
DOCENTE DE LA F.C.I.



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302
Fax: (593-05) 2753300 – 2753303
e-mail: info@uteq.edu.ec
Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

Yo, Ing. Sonnia Esther Barzola Miranda docente de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifico que he revisado la tesis de grado del Egresado **CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA** con CC N°. **092840433-4** previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, titulada **"EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*)"**, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.



Ing. Ms.C Sonnia Barzola Miranda
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

Facultad de Ciencias de la Ingeniería
Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS

Guayaquil: 10672

Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN

Yo, Ing. Flor Marina Fon Fay Vásquez docente de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifico que he revisado la tesis de grado del Egresado **CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA** con CC N°. **092840433-4** previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, titulada **“EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*)”**, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.



Ing. MSc. Flor Marina Fon Fay Vásquez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Universidad Técnica Estatal de Quevedo Facultad de Ciencias de la Ingeniería.

Quevedo 07 de abril del 2015.

CERTIFICACION.

PROF. DR. JUAN ALEJANDRO NEIRA MOSQUERA, DOCENTE INVESTIGADOR
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERIA CERTIFICA:

Luego de revisado el trabajo de Tesis de grado "EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*).". Previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial de la autoría del Señor: César Rolando Mera Mendoza, informo que dicho trabajo de investigación cumple con los criterios mínimos exigidos, por lo que en calidad de PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS considero que puede ser presentado para la sustentación respectiva.

Atentamente,


Juan Alejandro Neira Mosquera. Ph.D
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TESIS.



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA PARA EL DESARROLLO
AGROINDUSTRIAL
CARRERA: INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Tesis de grado presenta al Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería Previo a la Obtención del Título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Título de tesis:

**“EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.)
COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE
DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y
ROJA (*Oreochromis niloticus*)”.**

Aprobado:

Dr. Juan Alejandro Neira Mosquera
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE TESIS

Ing. Msc. Sonnia Esther Barzola Miranda
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Msc. Flor Marina Fon Fay Vásquez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

QUEVEDO – ECUADOR

2015

AGRADECIMIENTO

Principalmente a Dios por permitir llenar mis días de sabiduría, salud y mantenerme firme con mis objetivos, también a mis padres que me brindaron todo su apoyo y son la base fundamental en mi vida, que han hecho de mí una persona íntegra por los hábitos, valores y principios que me inculcaron.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo por ser el Alma máter que me ha formado como futuro profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Ingeniería y a la carrera de Ingeniería Agroindustrial por impulsar la investigación y desarrollo agroindustrial del Ecuador. Además de las autoridades que hacen lo posible el progreso de esta noble institución.

Al Dr. Juan Neira por la asistencia y cooperación brindada en el proceso y ejecución de este trabajo de investigación.

A la Dra. Sungey Sánchez por haber colaborado y dirigido acertadamente esta tesis.

A la Dra. Janne Rojas por su apoyo proporcionado para perseverar en el desarrollo de este trabajo.

Consciente de la trascendencia que significa toda la abnegación, sacrificio y dedicación que han consignado en mí, y sin más palabras “mil gracias a mis padres y a toda mi familia”.

César Rolando Mera Mendoza

DEDICATORIA

Primordialmente a Dios ya que sin Él no soy nada y con Él lo puedo todo, a mis padres Mariana y Gonzalo (+), que hicieron posible alcanzar esta meta, este trabajo es el resultado del esfuerzo, dedicación y entrega, mediante la superación de los momentos críticos acaecidos, también dedico este trabajo a mis hermanos y hermanas que son pieza fundamental por el apoyo moral brindado y a toda mi familia que depositaron en mí toda la confianza para seguir avanzando logrando mi superación personal y profesional.

A pesar de no ser fácil el logro de esta meta, deseo sea fuente de inspiración que motive a mis sobrinos continuar con sus estudios universitarios, con la esperanza de momentos mejores.

Este trabajo lo dedico absolutamente a todos ustedes, cada uno tiene un espacio en mi ser y dejan huellas en mi vida, y aunque no se los diga muy frecuentemente los amo.

Finalmente a mis maestros por consagrar los conocimientos apropiados desde que inicié mis estudios universitarios, a mis compañeros y amigos, que oportunamente lograron asistirme en momentos difíciles a lo largo de mi vida académica y personal.

César Rolando Mera Mendoza

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

Portada.....	i
...	
Declaración de Autoría y Cesión de Derecho.....	ii
Certificación del Director de Tesis.....	iii
Certificación de Docencia y Curriculum.....	iv
Certificaciones de los miembros del tribunal.....	v
Tribunal de Tesis.....	viii
Agradecimiento.....	ix
..	
Dedicatoria.....	x
.....	
Índice de Contenido.....	xi
Resumen.....	xvii
....	
Abstract.....	xvii
..	i

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
1. PRELIMINARES DE LA INVESTIGACIÓN	2
1.1. INTRODUCCIÓN	2

1.1.1. Antecedentes.....	2
1.1.2. PROBLEMATIZACIÓN	4
1.1.2.1. Diagnóstico	4
1.1.2.2. Formulación del problema.....	4
1.1.2.3. Sistematización del problema.	4
1.1.3. JUSTIFICACIÓN	5
1.2. OBJETIVOS.....	6
1.2.1. Objetivo general:	7
1.2.2. Objetivos específicos:	7
1.3. HIPÓTESIS.....	7
1.3.1. Hipótesis Nula:.....	8
1.3.2. Hipótesis Alternativa:	8
1.4. Variables de estudio	8
CAPÍTULO II.....	9
2. MARCO TEÓRICO	10
2.1. Tilapia (<i>Oreochromis sp.</i>).....	10
2.1.1. Clasificación Científica de la tilapia	10
2.1.2. Producción de la tilapia.....	11
2.2. Causas y efectos del deterioro en pescado fresco.	11
2.3. Composición química del pescado	12
2.4. Reducción de pH	13
2.4.1. Efecto del pH sobre los microorganismos	144
2.5. Orégano (<i>Oreganum vulgare L.</i>)	15
2.5.1. Clasificación Científica del Orégano (<i>Oreganum vulgare L.</i>).....	15
2.5.2. Composición química del orégano	16
2.5.3. Propiedades del orégano	18
2.6. Aceites esenciales	19
2.6.1. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales	19
2.6.2. Empleo en tecnología alimentaria	20
2.7. Conservantes naturales	21
2.8. Cloruro de Sodio (NaCl).....	22
CAPÍTULO III.....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS DE LA INVESTIGACIÓN	24

3.1. Materiales y Equipos.....	24
Acidez	24
pH	24
Proteína bruta	25
Grasa Total	26
Humedad	26
Cenizas	27
Microbiológicos	27
3.2. METODOLOGÍA	27
3.3. UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA INVESTIGACIÓN:.....	29
3.4. FACTORES DE ESTUDIO.....	30
3.4.1. Diseño Experimental.....	30
3.4.2. Cuadro de tratamientos	31
3.4.3. Características del experimento del efecto del aceite esencial de orégano en la conservación de la carne de tilapia	32
3.4.4. Análisis Estadístico	32
CAPÍTULO IV	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1. RESULTADOS.....	34
4.1.1. Resultados con Respecto a los Factores de Estudio.....	34
4.1.1.1. Análisis de Porcentaje Acidez.....	34
4.1.1.2. Análisis de pH.....	35
4.1.1.3. Análisis de Proteína	36
4.1.1.4. Análisis de Grasa	37
4.1.1.5. Análisis de Humedad.....	38
4.1.1.6. Análisis de Cenizas.....	39
4.1.2. Resultados con Respecto a los Análisis Microbiológicos.....	40
4.1.2.1. Análisis de Aerobios	40
4.1.2. Resultados con respecto a los Factores de Estudio (prueba de significación de Tukey).	41
4.1.2.1. Resultados con respecto al Factor A (Especies de Tilapia)	41
4.1.2.2. Resultados con respecto al Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano).....	43

4.1.2.3. Resultados con respecto al Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio).....	45
4.1.2.4. Resultados con respecto a las Réplicas.....	47
4.1.2.4. Resultados con respecto a la Interacción ABC.....	48
4.2. DISCUSIÓN.....	51
4.2.1. Discusión de Resultados de los Filetes de Tilapia tratados con Aceite Esencial de Orégano y ClNa.....	51
4.2.1.1. Discusión de Resultados de los Análisis físico – químico.....	51
4.2.1.1.1. Con Respecto a Especies de Tilapia (Factor A).....	51
4.2.1.1.2. Con Respecto a las Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano utilizado (Factor B).....	52
4.2.1.1.3. Con Respecto a las Concentraciones de Cloruro de Sodio utilizado (Factor C).....	52
4.2.1.1.4. Con Respecto a las Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio (Factor ABC)	53
4.2.1.1.5. Con Respecto a la Caracterización química del Aceite Esencial de Orégano.....	54
CAPÍTULO V	55
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	56
5.1. CONCLUSIONES	56
5.1.1. De las especies de tilapia (Factor A).....	56
5.1.2. De las concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (Factor B)	57
5.1.3. De las concentraciones de Cloruro de Sodio (Factor C).....	58
5.1.4. De la Interacción ABC (Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio)	59
5.1.5. De la caracterización química del Aceite Esencial de Orégano	60
5.2. RECOMENDACIONES.....	61
5.2.1. De las especies de tilapia (Factor A).....	61
5.2.2. De las concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (Factor B)	61
5.2.3. De las concentraciones de Cloruro de Sodio	61
5.2.4. De la Interacción ABC (Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio)	62
5.2.5. De la caracterización química del Aceite Esencial de Orégano	62
CAPÍTULO VI	63
6. BIBLIOGRAFÍA	64

CAPÍTULO VII	67
7. ANEXOS.....	67
ANEXO 1. VALORES PROMEDIOS DEL ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICO	68
ANEXO 2. VALORES PROMEDIOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	69
ANEXO 3. FOTOS DE LA FASE EXPERIMENTAL.....	70
ANEXO 4. CERTIFICACIONES DE LABORATORIOS.....	75
ANEXO 5. PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN TUKEY EN STATGRAPHICS.....	77
ANEXO 6. NORMAS INEN.....	91
ANEXO 7. TÉCNICAS DE LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA.....	99
ANEXO 8. CERTIFICACIÓN DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND.....	113

	ÍNDICE DE CUADROS	Pág.
CUADRO N° 1:	Factores de Estudio que intervienen en el efecto del aceite esencial de orégano en la conservación de la carne de tilapia.....	30
CUADRO N° 2:	Combinación de los tratamientos para el diseño experimental del efecto del aceite esencial de orégano en la conservación de la carne de tilapia.....	31
CUADRO N° 3:	Esquema del Análisis de Varianza.....	32
CUADRO N° 4:	Análisis de Varianza para Acidez.....	34
CUADRO N° 5:	Análisis de Varianza para pH.....	35
CUADRO N° 6:	Análisis de Varianza para Proteína.....	36
CUADRO N° 7:	Análisis de Varianza para Grasa.....	37
CUADRO N° 8:	Análisis de Varianza para Humedad.....	38
CUADRO N° 9:	Análisis de Varianza para Cenizas.....	39
CUADRO N° 10:	Análisis de Varianza para Aerobios.....	40

CUADRO N° 11:	Prueba de Tukey por Interacción ABC (Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio).....	48
CUADRO N° 12:	Caracterización del Aceite Esencial de Orégano.....	50

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE TABLAS		Pág.
TABLA N° 1:	Composición química del pescado (filete).....	12
TABLA N° 2:	Contenido de humedad, proteína, cenizas y grasa de filete de tilapia (<i>Oreochromis sp.</i>) en (g/100g).....	13
TABLA N° 3:	Plan de muestreo y límites microbiológicos recomendados para productos pesqueros.....	15

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE GRÁFICOS		Pág.
GRÁFICO N° 1:	Estructura química de los principales componentes en orégano.....	17
GRÁFICO N° 2:	Estructura química de los principales flavonoides en orégano....	17
GRÁFICO N° 3:	Diferencias de medias del Factor A (Especies de tilapia) mediante la prueba de tukey.....	41
GRÁFICO N° 4:	Diferencias de medias del Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano) mediante la prueba de tukey.....	43
GRÁFICO N° 5:	Diferencias de medias del Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio) mediante la prueba de tukey.....	45
GRÁFICO N° 6:	Diferencias de medias de las Réplicas mediante la prueba de tukey.....	47

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del aceite esencial de orégano como agente antimicrobiano en la conservación de la carne de dos especies de tilapia, con la finalidad de potenciar la adición de conservantes naturales en las carnes. Se emplearon 24 filetes de tilapia, se tomaron muestras de 50 y 150 gramos para 12 tratamientos y 2 repeticiones. A su vez se realizaron análisis fisicoquímicos como: acidez, pH, proteína bruta, grasa total, humedad, ceniza, y análisis microbiológicos: conteo de aerobios para determinar si hay o no diferencia entre los niveles de los tratamientos estudiados. En el análisis estadístico se utilizó un arreglo factorial de bloques AxBxC con 2 repeticiones considerando como factor A: especies de tilapia (*Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis niloticus*), factor B: concentraciones de aceite esencial de orégano (1%, 3% y 5%), factor C: concentraciones de Cloruro de Sodio (10% y 20%); también se caracterizó los componentes químicos del aceite esencial de orégano por cromatografía de gases. Para el análisis de datos se empleó el paquete estadístico StatGraphics, además para la separación de medias de los niveles de los tratamientos se acudió a la prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$).

En la evaluación de los tratamientos se concluyó que existió diferencia significativa entre los niveles de los tratamientos. Como consecuencia se determinó que el mejor tratamiento fue el **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20%

CINa); ya que presentó los mejores valores (3×10^5) en el contenido de microorganismos aerobios.

Palabras clave: tilapia, aceite esencial, orégano, cloruro de sodio.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the effect of the essential oil of oregano as an antimicrobial agent in the conservation of the meat of two species of tilapia, with the aim to enhance the addition of natural preservatives in the meat. We used 24 tilapia fillet, samples were taken from 50 and 150 grams for 12 treatments and 2 repetitions. In the statistical analysis used a factorial arrangement of blocks with 2 repetitions AxBxC recital as factor A: species of tilapia (*Oreochromis mossambicus* and *Oreochromis niloticus*), factor B: concentrations of essential oil of oregano (1 %, 3% and 5 %), factor C: concentrations of sodium chloride (10% and 20 %); was also characterized the chemical components of essential oil of oregano by gas chromatography. For the analysis of data was performed using statistical package Statgraphics, in addition to the separation of half of the levels of the treatments she went to the test of significance of Tukey ($p < 0.05$). In the evaluation of therapies it was concluded that there was a significant difference between the levels of the treatments. As a result it was determined that the best treatment was the $a_1b_2c_1$ (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% CINa); since it introduced the best values (3×10^5) in the content of aerobic microorganisms.

Key words: tilapia, essential oil, oregano, sodium chloride.

CAPÍTULO I

1. MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Introducción

1.1.1. Antecedentes

Los bioconservadores son una parte esencial en los productos alimenticios (Ray, 2001) ya que extienden la vida de anaquel del producto, controlan las propiedades organolépticas de los alimentos y garantizan la salud del consumidor inhibiendo el crecimiento o aniquilando a microorganismos indeseables como saprofitos alterantes, mesófilos, psicrotrofos, *Pseudomonas*, *Entobacterias*, *Mohos*, *Levaduras*, *Coliformes*, *E. coli*, *Salmonella* y *Campylobacter spp.*, (Robinson et al, 2000).

Las hierbas y las especias han sido empleadas durante siglos para aumentar la vida útil de los alimentos. Diversos han sido los estudios para demostrar la actividad antimicrobiana de este tipo de sustancias. El aceite esencial de orégano presenta potencial in vitro como antimicrobiano contra *Fusarium* micotoxigénicos (Soriano, 2007).

Hoy en día ha disminuido el consumo de los productos que contienen aditivos sintéticos, ya que la mercadotecnia ha generado una tendencia favorable hacia el consumo de productos con conservadores naturales o bioconservadores. El orégano que se utiliza en la industria alimenticia como sazónador y bioconservador culinario contiene aceite esencial que se considera de actividad inhibitoria fuerte. El reconocido principio aromático y de sabor de extractos vegetales de diferentes tipos de plantas ha motivado el uso de varios de ellos, principalmente como agentes saborizantes o sazónadores de alimentos y bebidas.

En Ecuador actualmente no utilizan bioconservadores en las industrias alimenticias solamente se ha registrado estudios para empleo de estos, como es el caso de varias investigaciones de la Universidad Central del Ecuador en las que se han aplicado bioconservadores en carnes envasadas, embutidos y en productos lácteos. En otros países ya se utiliza bioconservadores para la conservación de carnes y alargamiento de su vida de anaquel, además se

sugiere la aplicación de bioconservadores en alimentos, plantas y medicamentos. Los aceites esenciales son la alternativa de conservadores naturales que prometen competir con el amplio mercado de los agentes químicos o sintéticos que actualmente ofrecen productos económicos, de aplicación sencilla y amplio espectro, pero que están destinados a desaparecer porque son altamente tóxicos para el hombre y los animales, son bioacumulables, y después de un largo tiempo de aplicación son inactivos para muchos microorganismos patógenos.

La presión pública para la disminución del uso de conservantes químicos en la industria alimentaria ha llevado a la búsqueda de antimicrobianos alternativos de origen natural, tales como extractos de plantas (Soriano, 2007).

En consecuencia esta investigación plantea evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare* L.) y como un sistema sustituto de: conservadores químicos, empaque al vacío y atmósferas modificadas utilizadas por la tecnología para la conservación de alimentos.

1.1.2. Problematización

1.1.2.1. Diagnóstico.

Existe una importante producción piscícola en el país, prevaleciendo la cría de tilapia, donde las técnicas de manipulación y conservación consisten en refrigeración o congelación a gran escala resultando muy eficaces por lo que permiten conservar por algún tiempo la carne; sin embargo, el expendio directo al consumidor comúnmente se lo realiza en mercados populares y en muchas ocasiones se encuentran en condiciones precarias y expuestas a la contaminación microbiana alterando las propiedades organolépticas de la misma, en ningún caso se ha observado métodos que permita prolongar la vida de anaquel de la carne de tilapia y sin variar las características propias de esta especie.

El pescado es, junto con el marisco, el alimento más inestable, pues sus tejidos se descomponen muy rápidamente. Algunos procesos que tienen lugar durante la pesca, incluso antes de extraer el pez del agua, favorecen su descomposición; la cual continúa con la muerte y los procesos bioquímicos del musculo que podría ser alterado por condiciones biofísicas.

Existen pocas investigaciones técnicas sobre la aplicación de agentes antimicrobianos en la conservación de productos perecederos, y sobre todo de aceites esenciales aplicados en la conservación de pescado.

1.1.2.2. Formulación del problema.

¿El desconocimiento del poder conservante de aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare* L.) como agente antimicrobiano, limita su utilización comercial en la conservación de la carne de tilapia (*Oreochromis sp.*)?

1.1.2.3. Sistematización del problema.

Los pescados y mariscos al ser muy perecederos tienen un período de conservación muy corto que depende, como siempre, del manejo en captura y transporte y la conservación que tengan en el momento de su adquisición, por

otro lado es indispensable mantenerlos en refrigeración y aplicarles una película o film para poder contrarrestar la proliferación bacteriana.

El pescado es el alimento que menos tiempo dura ya que posee microorganismos y enzimas adaptados a bajas temperaturas. Ello explica que la refrigeración no consiga aumentar de manera significativa su vida útil.

El deterioro microbiológico del pescado está relacionado con dos parámetros claves: la manipulación desde que se captura y la temperatura de conservación.

Se trata de un alimento que tiene una conservación limitada y, si no los tomamos dentro de ese límite, pueden empezar a estropearse.

El principal de estos problemas de conservación es la falta de algún agente antimicrobiano que evite la propagación de bacterias en la carne de tilapia.

Además de aplicar el aceite esencial de orégano se debe de determinar las concentraciones adecuadas para así evitar una posible toxicidad en el consumo de la misma.

1.1.3. Justificación

El reconocido principio aromático y de sabor de extractos vegetales de diferentes tipos de plantas ha motivado el uso de varios de ellos como agentes saborizantes

o sazonzadores de alimentos y bebidas. Sin embargo, son pocos los alimentos que a nivel comercial contienen aceites esenciales como bioconservadores.

El aceite de orégano es uno de los más potentes y efectivos antimicrobianos naturales. Elimina bacterias, hongos, parásitos y virus con tan solo unas pocas gotas. Además, no ocasiona efectos secundarios ni potencia mutaciones que dan lugar a cepas patológicas resistentes, como ocurre con los conservantes sintéticos.

El principio activo que le confiere estas propiedades es el carvacrol, un fenol que se encuentra en la planta en concentraciones que oscilan del 30 al 87 por ciento. Un alto porcentaje de carvacrol obtenido por destilación no implica mayor efectividad terapéutica, pues esta procede de la delicada sinergia creada por la naturaleza y en la que intervienen otros componentes del orégano. El carvacrol puro es la mitad de efectivo que el aceite de orégano natural no adulterado.

La conservación de productos alimenticios es favorable ya que prolonga la vida útil del producto y disminuye las grandes pérdidas por su deterioro. La Universidad Técnica Estatal de Quevedo ayudará a contribuir el desarrollo social, tecnológico e industrial en la alimentación humana en lo que es aplicar un bioconservador que actúe como agente antimicrobiano para la conservación de la carne de la tilapia.

Con esto se encuentra una oportunidad necesaria de plantear alternativas comerciales que contribuyan de alguna manera a mejorar su conservación proporcionándole además un valor agregado a una planta silvestre como lo es el orégano.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general:

Evaluar el efecto del aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare L.*) como agente antimicrobiano en la conservación de la carne de dos especies de tilapia: negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*).

1.2.2. Objetivos específicos:

- Evaluar la diferencia entre la carne de tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*) en la conservación con aceite esencial de orégano.
- Determinar las concentraciones adecuadas de aceite esencial de orégano en la adición de dos tipos de tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*).
- Evaluar dos concentraciones de sal (Cloruro de sodio) al 10% - 20% en la tilapia.
- Determinar la caracterización química del aceite esencial de orégano por cromatografía de gases.

1.3. Hipótesis

1.3.1. Hipótesis Nula:

- **Ho.-** Las especies de tilapia con la adición de aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare L.*) no influyen en la conservación.
- **Ho.-** Las concentraciones de aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare L.*) no influyen en la conservación de la carne de tilapia.
- **Ho.-** Las concentraciones de cloruro de sodio no influyen a inhibir el crecimiento microbiano.

1.3.2. Hipótesis Alternativa:

- **Ha.-** Las especies de tilapia con la adición de aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare L.*) influyen en la conservación.
- **Ha.-** Las concentraciones de aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare L.*) influyen en la conservación de la carne de tilapia.
- **Ha.-** Las concentraciones de cloruro de sodio influyen a inhibir el crecimiento microbiano.

1.4. Variables de estudio

- Acidez titulable
- pH
- Proteína bruta
- Grasa total
- Humedad
- Ceniza
- Análisis microbiológicos: Conteo de Placas de Aerobios Mesófilos y mohos y levaduras

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fundamentación teórica

2.1.1. Tilapia (*Oreochromis sp.*)

La tilapia es la variedad más representativa de los cultivos acuícolas de agua dulce del Ecuador. Pertenece a la familia de las Cichlidae, que está muy extendida en las aguas de África intertropical. (Huet, 1983)

2.1.1.1. Clasificación Científica de la tilapia.

Reino: Animalia
Filo: Chordata
Clase: Actinopterygij
Orden: Perciformes
Familia: Cichlidae
Subfamilia: Pseudocrenilabrinae
Género: Tilapia

La tilapia roja es un tetra-híbrido, resultante del cruce de cuatro representantes del género *Oreochromis*: *O. mossambicus* (Mozambica), *O. niloticus* (Nilótica), *O. Hornorum* y *O. aureus* (Aurea) (Corpei, 2001).

Oreochromis mossambicus, comúnmente conocida como la tilapia de Mozambique, negra o Kurper besugo, y por muchos otros nombres comunes, es un nativo de peces cíclidos del sur de África. Debido a su éxito como alimento criado a través de la acuicultura, *O. mossambicus* se ha extendido a los países tropicales y subtropicales de todo el mundo. Este pez resistente tolera temperaturas de agua de ancho, tiene una dieta amplia, omnívoro, asoma con facilidad y su firme textura y sabor suave que sea muy popular para comer (Nico & Neilson, 2012).

La tilapia del Nilo, *Oreochromis niloticus*, es una especie de tilapia, un cíclido pez nativo de África, desde Egipto al sur de África oriental y central, y por el oeste hasta Gambia (Nico & Neilson, 2012).

De agua dulce y habitantes de aguas salobres. Vive en las cálidas piscinas, maleza de corriente lenta, canales y estanques (Froese & Pauly, 2003).

2.1.1.2. Producción de la tilapia.

El Ecuador ha alcanzado una posición muy importante como uno de los principales productores y exportadores de tilapia roja en el mundo, ocupando el primer lugar en Latinoamérica. El principal comprador es Estados Unidos, pero las demandas se están expandiendo en los países europeos. Según estudio de la (Corpei, 2001) más de 18 millones de toneladas métricas son producidas anualmente, esto equivale al 20% de los requerimientos mundiales de pescado.

2.1.2. Causas y efectos del deterioro en pescado fresco.

Los pescados frescos son aquellos que, desde su captura, no han sufrido ninguna operación para su conservación, excepto la adición de hielo troceado, puro o mezclado con sal. No se considera proceso conservador el descabezado, el desangrado o eviscerado ni el mantenimiento en refrigeración (Larrañaga & Carballo, 1998).

Entre los elementos evidentes del deterioro en pescado se encuentran (Huss, 1997):

- detección de olores y sabores extraños
- formación de exudados
- producción de gases
- pérdida de color
- cambios de textura

Las causas de la alteración del pescado fresco pueden ser de dos tipos: microbiológica y no microbiológica (Connell, 1978).

La pérdida inicial de frescura de las especies de pescado magras en su estado natural, con o sin refrigeración se debe a cambios autolíticos, mientras que el deterioro se debe principalmente a la acción bacteriana (Huss, 1997).

2.1.3. Composición química del pescado

La composición química de los peces varía considerablemente entre las diferentes especies y también entre individuos de una misma especie, dependiendo de la edad, sexo, medio ambiente y estación del año (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

Tabla N° 1: Composición química del pescado (filete)

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

Fuente: FAO, 2001

El pescado y los productos pesqueros, como muchos otros productos de origen animal, contienen agua, proteínas y otros compuestos de nitrógeno, lípidos, carbohidratos, minerales y vitaminas. Las proteínas y los lípidos son los principales componentes del pescado. Los micronutrientes esenciales y los minerales que contiene el pescado, de los que carecen los alimentos básicos, son las vitaminas B, y en los pescados grasos, las vitaminas A y D, fósforo, hierro, calcio, magnesio, selenio y, en los peces marinos, yodo (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

Tabla N° 2: Contenido de humedad, proteína, cenizas y grasa de filete de tilapia (*Oreochromis sp.*) en (g/100g)

Constituyente	Contenido
Humedad	72,3 – 76,9
Proteína total	18,4 – 20,8
Cenizas	1,0 – 1,5
Grasa total	0,4 – 1,9

Fuente: (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008)

Los lípidos del pescado tienen hasta un 40% de ácidos grasos de cadena larga en gran medida insaturados, positivos para la salud, pero presentan un problema técnico que consiste en que se arrancian rápidamente. Las proteínas del pescado, formadas por proteínas estructurales, sarcoplasmáticas y tejido conectivo, todas contienen los aminoácidos esenciales y son una fuente excelente de lisina, metionina y cisteína. En el pescado muerto se producen numerosos procesos químicos y biológicos importantes los cuales, si no se toman las medidas pertinentes, conducen a la descomposición (FAO, 2001).

2.1.4. Reducción de pH

El pH se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno (ICMSF, 2003).

$$\text{pH} = -\log_{10} \text{IH}$$

El pH de un alimento es un factor importante que determina la supervivencia de microorganismos. En estado natural la carne de pescado es ligeramente ácida. Después de muerto el animal, el glucógeno se transforma en ácido láctico, lo que provoca un descenso de pH, el cual luego asciende hasta valores de 6.7, lo que se traduce en una predisposición para la alterabilidad, ya que a estos pH no se inhibe la proliferación bacteriana (Larrañaga & Carballo, 1998).

El pH de la carne de tilapia es alrededor de 6.125 (Corpei, 2001).

2.1.4.1. Efecto del pH sobre los microorganismos.

Los microorganismos tienen métodos eficaces para mantener estable su pH interno. Sin embargo, se ha comprobado que el pH interior puede verse afectado por el pH del medio exterior (ICMSF, 2003).

Para acidificar medios se han usado ácidos orgánicos débiles y ácidos inorgánicos fuertes. Los más eficaces son los ácidos orgánicos débiles (Leinster & Gould, 2002).

La forma no disociada de estos ácidos se difunde libremente a través de la membrana celular e ioniza dentro de la célula, dando lugar a protones que acidifican el medio interno del organismo e inhiben el transporte de nutrientes (ICMSF, 2003).

Las células de diferentes especies microbianas muestran distinta tolerancia a la acidificación del medio o sus membranas presentan distintas características respecto a la permeabilidad de ácidos (ICMSF, 2003).

Por eso, a partir de una flora diversa, la acidez del medio puede servir como un método de selección de uno o varios componentes de la flora inicial. En general, las levaduras y hongos son capaces de crecer a pHs mucho más bajos que las bacterias ($\text{pH} < 4$) (Desrosier, 2000).

Tanto las levaduras como los hongos y las bacterias pueden crecer a similares valores máximos de pH (Kilcast & Subramaniam, 2000).

Según el principio barrera, si aplicamos estas dos barreras descritas (la reducción de a_w y la reducción de pH) se puede lograr un efecto sobre la estabilidad del producto estudiado. Según un estudio realizado por los investigadores Leistner y Rodel en 1975 se puede considerar que un producto es estable si el pH es menor o igual que 5.2 más una a_w menor o igual a 0.965 o si solamente tiene un pH menor que 5 o sólo una a_w menor a 0.90, sin requerimiento de refrigeración (ICMSF, 2003).

La acidez libre o acidez titulable representa a los ácidos orgánicos presentes que se encuentran libres en una muestra, en el caso del pescado predomina

el ácido láctico. Es importante porque nos puede indicar el grado de calidad o deterioro de un producto (Asap, 2015).

La acidez en los filetes de cachama (*Piaractus brachypomus*) realizados en un estudio en Colombia determinaron 0,39% ácido láctico (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008).

Tabla N° 3: Plan de muestreo y límites microbiológicos recomendados para productos pesqueros

Producto	Ensayo	Límite por gramo o por cm ²	
		m	M
Pescado fresco y congelado	APC	5X10 ⁵	10 ⁷

Fuente: (INEN, 2006) & (FAO, www.fao.org, 2001)

***APC:** “Aerobic Plate Count” (Recuento de Aerobios en Placa; preferiblemente realizado a 21–25 °C en un agar no selectivo, rico en nutrientes).

2.1.5. Orégano (*Oreganum vulgare L.*)

El orégano (*Oreganum vulgare L.*), es una herbácea perenne aromática del género *Oreganum*, muy utilizada en la cocina mediterránea. Las hojas de esta planta se utilizan como condimento tanto secas como frescas, aunque secas poseen mucho más sabor y aroma (<http://es.wikipedia.org>, s.f.).

2.1.5.1. Clasificación Científica del Orégano (*Oreganum vulgare L.*).

División: Magnoliophita

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Género: *Oreganum*

Especie: *vulgare*

Origen y otros aspectos: el orégano es originario de Europa y Asia. Se cultiva en regiones templadas de varios países como planta medicinal y para aliñar

aceitunas, perfumar la carne picada y las presas de caza. La planta también es cultivada por sus propiedades terapéuticas y apícolas. Seca es usada como aromática, de sabor amargo (Fonnegra & Jiménez, 2007).

Descripción botánica: planta herbácea perenne de 60 cm de altura, aromática; toda la planta está cubierta por pelos glandulares. Tallo erecto, rojizo, anguloso, ramificado en el ápice. Hojas opuestas, enteras, ovales a elípticas; ápice agudo; en las márgenes presenta glándulas ciliadas llenas de aceites esenciales; las hojas superiores son más pequeñas que las inferiores. Flores rosa purpura o violeta, reunidas en corimbos terminales, corola bilabiada, el labio inferior dividido en tres puntas; las flores presentan brácteas ovales imbricadas de color rojo violáceo, más largas que el cáliz. Fruto tetraquenio, seco (Fonnegra & Jiménez, 2007).

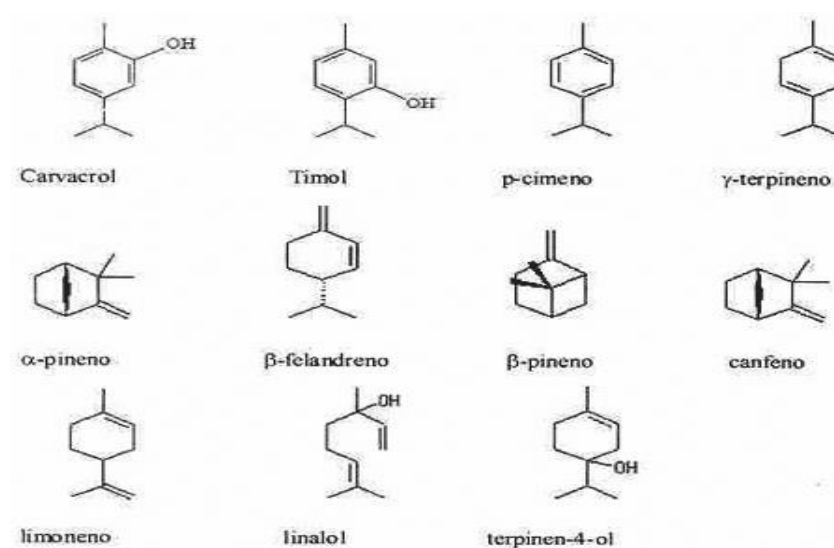
2.1.5.2. Composición química del orégano.

Existen diversos estudios sobre la composición química del orégano, usando extractos acuosos y sus aceites esenciales (Pascual, Slowing, Carretero, Sánchez, & Villar, 2001).

Se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano. En *O. vulgare* se han encontrado ácidos coumérico, ferúlico, caféico, *r*-hidroxibenzóico y vainillínico. Los ácidos ferúlico, caféico, *r*-hidroxibenzóico y vainillínico están presentes en *O. onites*. Los aceites esenciales de especies de *Lippia* contienen limoneno, β -cariofileno, *r*-cimeno, canfor, linalol, α -pineno y timol, los cuáles pueden variar de acuerdo al quimiotipo. En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanosido, ácido logánico, ácido 8-*epi*-logánico y carioptosido; y tres iridoides mayoritarios como el ácido carioptosídico y sus derivados 6'-*O*-*p*-coumaroil y 6'-*O*-cafeoil. También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina. Los gráficos 1 y 2 presentan las estructuras químicas de algunos de los compuestos principales presentes en el orégano y la figura 3 muestra un método general para

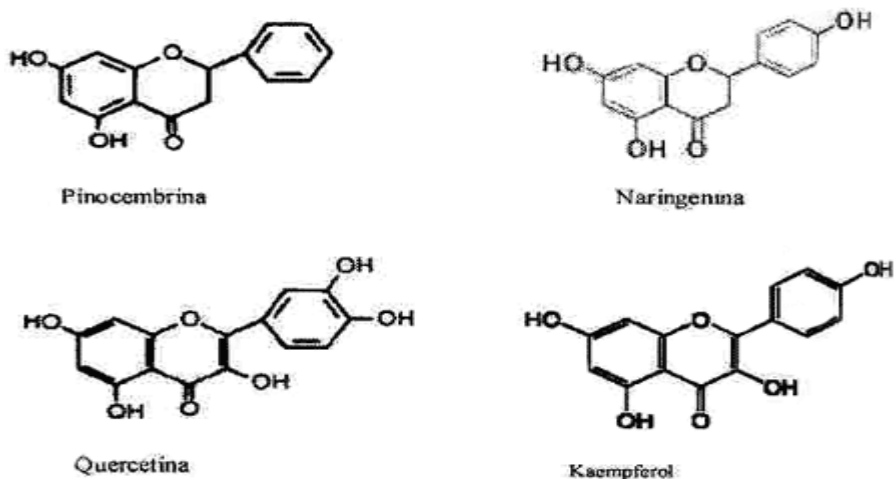
la extracción de las fracciones activas (Arcila, Loarca, Lecona, & González, 2004).

Gráfico N° 1.- Estructura química de los principales componentes en orégano



Fuente: (Burt, 2004)

Gráfico N° 2.- Estructura química de los principales flavonoides en orégano



Fuente: (Burt, 2004)

Composición química: **aceite esencial** (0,1 a 1%), rico en timol, beta-bisaboleno, cariofileno, p-cimeno, borneol, linalol, acetato de linalino, alfa y beta-pinenos, alfa-terpineno. Ácidos fenolcarboxílicos: caféico, clorogénico, rosmarínico. Flavonoides: derivados del apigenol, luteolol, kenferol, diosmetol. Taninos. Principios amargos. Triterpenos: derivados de los ácidos ursólico y oleanólico (Fonnegra & Jiménez, 2007).

2.1.5.3. Propiedades del orégano

Propiedades antioxidantes: El orégano contiene Timol y Ácido rosmarinico que ayudan al cuerpo a disminuir los efectos de los radicales libres, que son los responsables del envejecimiento celular.

Propiedades anti fungicidas: ha sido utilizado históricamente como preservante alimenticio y sus credenciales para combatir hongos es impresionante. El orégano ha sido exitosamente utilizado en preparaciones tomadas y aplicadas para combatir hongos y levaduras como la *Candida albicans*.

Propiedades antibióticas: Un fenol en el orégano llamado carvacrol ha generado gran interés en la comunidad científica por su alto potencial para eliminar bacterias. Estudios preliminares de la universidad de Gerogetown sugieren que el carvacrol puede incluso ser más potente que la penicilina y estreptomicina. Un estudio científico aún más interesante de la universidad de Western England en Bristol Inglaterra, sugiere que las propiedades antibióticas del oregano podrían matar el conocido superbug, *Staphylococcus Aureus*, que es resistente a los antibióticos más poderosos de la ciencia moderna como la metilina.

Propiedades anti espasmódicas: El Timol y carvacrol contenido en esta hierba ayudan a estabilizar las membranas musculares y también tienen propiedades anti inflamatorias (salud.ellasabe.com, s.f.).

2.1.6. Aceites esenciales

Los aceites esenciales son productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal que están formados por varias sustancias orgánicas volátiles, que pueden ser alcoholes, acetonas, cetonas, éteres, aldehídos, y que se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas (Bruneton, 2001).

Dada las características volátiles de los compuestos fenólicos de los aceites esenciales, su aplicación en alimentos puede ser directa por fumigación (Soriano, 2007).

Normalmente son líquidos a temperatura ambiente, y por su volatilidad, son extraíbles por destilación en corriente de vapor de agua, aunque existen otros métodos. En general son los responsables del olor de las plantas que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, frutos semillas, corteza de los vegetales y a ciertos extractos de origen animal (Bruneton, 2001).

2.1.6.1. Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se debe principalmente a la presencia de compuestos fenólicos (carvacrol, timol, eugenol, etc.) presentes en ellos. Los aceites esenciales con mayor actividad antimicrobiana son aquellos en los que la proporción de compuestos fenólicos es mayor, aunque se ha observado que los elementos traza también son relevantes debido a efectos de sinergia con el resto de componentes (Burt, 2004).

La capacidad de los aceites esenciales para inhibir el crecimiento microbiano ha sido estudiada en gran variedad de productos como frutas y verduras mínimamente procesadas (Gutiérrez, Rodríguez, Barry-Ryan, & Bourke, 2008), carne picada (Hulankova, Borilova, & Steinhäuserova, 2013), pollo (Fernández-Pan, Mendoza, & Mate, 2013).

El aceite esencial de orégano ha sido estudiado sobre los principales microorganismos alterantes y patógenos presentes en el pescado, evaluando

su actividad antibacteriana frente a bacterias aisladas (Iturriaga, Olabarrieta, & Maranon, 2012).

2.1.6.2. Empleo en tecnología alimentaria.

En este sentido, incluso se señala que el empleo de aceites esenciales podría prolongar y mejorar la vida útil de muchos productos elaborados por diversas tecnologías alimentarias, entre ellos, la congelación. Ésta es una tecnología que suele facilitar la oxidación de los componentes grasos de los alimentos, por lo que la inclusión de aceites esenciales de especias mediterráneas entre la composición de alimentos congelados grasos podría favorecer la conservabilidad, mantener el sabor habitual de los alimentos y evitar pérdidas nutricionales (Rodríguez, 2009).

En cambio se mantienen metodologías basadas en el efecto conservante del cloruro sódico, los nitritos y nitratos, el vinagre, el azúcar, el alcohol, a los que acompañan el uso de distintas especias. Para las salazones se acude a la capacidad que tiene el cloruro sódico para extraer las moléculas de agua de los alimentos y facilitar su eliminación posterior; en los productos cárnicos se aprovechan las ventajas que acompañan a un proceso de desecación (Bello, 2000).

Por este motivo, en la actualidad se está considerando la suplementación rutinaria con antioxidantes naturales, especialmente en productos sensibles, como pescado graso, carne y cualquier otro, sobre todo si se comercializa congelado. Añadir aceites esenciales no necesitaría diseñar acciones tecnológicas especiales, ya que los extractos de plantas se disuelven en la propia estructura del alimento, especialmente en las membranas celulares (Rodríguez, 2009).

2.1.7. Conservantes naturales

Las hierbas y las especias han sido empleadas durante siglos para aumentar la vida útil de los alimentos. Diversos han sido los estudios tendentes a demostrar la actividad antimicrobiana de este tipo de sustancias. Entre ellas se ha descrito su poder antioxidante, especialmente del tomillo, el orégano y el ajo, plantas empleadas corrientemente para el especiado de alimentos en la cuenca mediterránea, y que constituyen una parte importante de la tradición culinaria en nuestro país (Rodríguez, 2009).

Además de contribuir al flavor de los alimentos en cuya formulación intervienen, algunas de sus estructuras químicas tienen un efecto inhibitor frente a muchos microorganismos, sobre todo frente a bacterias gram-positivas, mucho más sensibles que las gram-negativas. En este sentido, destacan por su potente actividad las especias canela, clavo y mostaza, sobre la débil actuación de pimienta y jengibre; a nivel medio se sitúan laurel, cilantro, comino, orégano, romero y tomillo (Bello, 2000).

Hierbas y especias son sinónimo de tradición que se mantiene viva desde tiempos inmemoriales en la cultura culinaria de prácticamente todo el mundo. Básicamente, por el aroma y sabor que confieren a los platos, cocinados o no, además de una potente acción conservadora para muchas de ellas y un valor nutricional muy apreciado. A todas estas características, en los últimos tiempos se ha sumado un poder antioxidante que ha incrementado positivamente el nivel de apreciación del consumidor (Rodríguez, 2009).

Las sustancias químicas contenidas en las especias, o en sus aceites esenciales tienen una actividad multifuncional no limitada a su acción conservadora (Bello, 2000).

La existencia de una acción antioxidante, curiosamente, parecía estar reñida con la conservación, ya que la presencia de cantidades apreciables de tocoferoles (sustancias con acción vitamínica E) en todos estos productos se asocia de forma natural con el mantenimiento de la vida celular y no su destrucción. El efecto conservador parece que hay que atribuirlo a la elevada concentración de

ácidos grasos de cadena corta, es decir, las moléculas normalmente responsables del aroma intenso de estas plantas, grupos fenólicos y otras sustancias con acción irritativa como son los picantes (Rodríguez, 2009).

2.1.8. Cloruro de Sodio (NaCl)

No se lo considera como aditivo (Multon, 2008). El cloruro de sodio es un excelente agente osmótico (Sharma, 2003). Su bajo peso molecular (de 58.44 g/gmol) permite un alto porcentaje de pérdida de agua desde el producto hacia el jarabe (Sharma, 2003) y gran solubilidad, pero también ocasiona alta impregnación en el tejido animal (Medina, Vivanco, Sobral, & Hubinger, 2002).

Además de ser un agente osmótico, es un agente antimicrobiano (conservante), esencialmente por su efecto depresor de la actividad de agua. Los alimentos a los que se les ha adicionado de 0.7 a 5% de sal requieren otro método de conservación para garantizar su estabilidad microbiológica. El cloruro sódico se ha usado para estabilizar ciertos alimentos, entre ellos pescados con un 0.7 a 3% de sal en relación a la fase acuosa (Multon, 2008).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Materiales y Equipos

En la presente investigación se utilizó los materiales y equipos disponibles en los Laboratorios de Química y Bromatología, de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y Laboratorio de Instrumentación 1 del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Acidez

Materiales	Equipos	Reactivos
• Matraz Erlenmeyer 250ml • Probeta 100ml • Bureta Graduada 25ml • Pipeta 10ml • Varilla de vidrio	• Soporte universal	• NaOH 0.01N • Fenolftaleína • Agua destilada

pH

Materiales	Equipos	Reactivos
• Vaso de precipitación 250ml	• Balanza • Potenciómetro	• Agua destilada

Proteína bruta

Materiales	Equipos
• Micro - Tubos de destilación de 100 ml • Matraz Erlenmeyer de 250 ml • Gotero • Bureta graduada y Accesorios • Espátula • Gradilla	• Balanza analítica, sensible al 0. 1 mg • Unidad digestora J.P. SELECTA, s.a. (Block 40 plazas-Digest). • Sorbona o colector/extractor de humos (unidad scrubber y bomba de vacío de circulación de agua) • Unidad de Destilación FISHER DESTILLING Unit DU 100 • Plancha de calentamiento con agitador magnético

Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado 96% (d= 1,84)
- Solución de Hidróxido de Sodio al 40%
- Solución de Ácido Bórico al 2%
- Solución de Ácido Clorhídrico 0. 1 N (HCl), debidamente Estandarizada
- Tabletas Catalizadoras
- Indicador Kjeldahl
- Agua destilada

Grasa Total

Materiales	Equipos
• Vasos Beacker para grasa • Dedales de Extracción • Portadedales • Vasos para recuperación del solvente • Balanza analítica • Espátula • Pinza Universal • Algodón Liofilizado e Hidrolizados	• Balanza analítica, sensible al 0.1 mg. • Aparato Golfish • Estufa, con regulador de temperatura. • Desecador, con silicagel u otro deshidratante.

Reactivos

- Éter de Petróleo

Humedad

Materiales	Equipos
• Crisoles de porcelana • Espátula • Pinza	• Balanza analítica, sensible al 0.1 mg. • Estufa, con regulador de temperatura. • Desecador, con silicagel u otro deshidratante.

Cenizas

Materiales	Equipos
• Crisoles de porcelana • Espátula • Pinza	• Balanza analítica, sensible al 0.1 mg. • Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a 6000 °C • Estufa, con regulador de temperatura. • Desecador, con silicagel u otro deshidratante.

Microbiológicos

Materiales	Equipos	Reactivos
• Placas Petrifilm • Pipetas • Matraz Erlenmeyer	• Balanza • Estufa • Autoclave • Incubadora • Contador de Colonias	• Peptona 0.1%

3.2. Metodología

En el presente estudio se evaluó el efecto del aceite esencial de orégano (*Oreganum vulgare L.*), para inhibir la propagación de microorganismos aerobios mesófilos y de mohos y levaduras presentes en la carne de dos especies de tilapia (*Oreochromis mosambicus* y *Oreochromis niloticus*).

El aceite esencial de orégano fue extraído por el método de hidrodestilación. Se realizó la caracterización química con un Cromatógrafo de gases Hewlett-Packard Modelo GC System HP6890 y Mass Selective detector 5973 serie II, equipado con columna capilar HP-5 MS (30 m de longitud, 0,2 mm de diámetro interno y un espesor de pared de 0,25 µm). La temperatura inicial fue de 60°C hasta alcanzar 260°C a razón de 4°C/min. La temperatura del puerto de

inyección fue de 230°C y la del cuadrupolo 150°C. Se utilizó helio como gas portador a un flujo de 0,9 mL/min ajustado a una velocidad lineal de 34 m/s. La energía de la fuente de ionización fue de 70 eV con un rango de barrido de 40-500 amu a 3,9 scans/s. Se inyectó 1,0 µl del aceite diluido al 2% en n-heptano con una relación de split de 1:100. El tiempo de la corrida fue de 50 min. La identificación de los componentes del aceite se realizó por comparación de sus espectros de masas con los reportados en la base de datos del equipo Wiley MS library data 6ta Edición y los IK reportados en la literatura (Davies, 1990); (Adams, 2007).

Se emplearon 24 muestras de filetes de tilapia de 200 gramos, 12 por cada especie y 2 repeticiones.

Los filetes de tilapia se sumergieron en soluciones con diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano (1%, 3% y 5%), que fueron preparadas con agua destilada y utilizando glicerol como emulsificante.

El envasado se realizó en 2 lotes: el primer lote se dividió en porciones de 50 gramos aproximadamente y se las envasó al vacío en fundas herméticas, este lote se lo utilizó para los análisis microbiológicos. En el segundo lote las porciones envasadas pesaron aproximadamente 100 gramos y se utilizó para los análisis bromatológicos.

Todas las muestras fueron conservadas en refrigeración (4 - 5°C) hasta el momento que fueron analizadas. La duración del experimento fue de 8 días.

Los análisis físico-químicos se realizaron según las técnicas manejadas por el Laboratorio de Bromatología (Ver Anexo), además de estas técnicas se siguió con las establecidas por el Instituto Ecuatoriano de Normalización tal es el caso de proteína bruta fue realizada por el método de Kjeldahl, según norma NTE INEN 781; el análisis de grasa total NTE INEN 778, pH según NTE INEN 183. Para los análisis microbiológicos según NTE INEN 1529-5, se emplearon Placas Petrifilm 3M, en lo que respecta al recuento total de aerobios y también para el recuento de mohos y levaduras.

Para establecer diferencias entre los niveles de los tratamientos de estudio se aplicó un Diseño Experimental con arreglo factorial AXBXC. Los tratamientos incluyen Factor A: especies de tilapia (*Oreochromis niloticus* y *Orteochromis mosambicus*), Factor B: concentraciones de aceite esencial de orégano (1%, 3% y 5%) y como Factor C: concentraciones de cloruro de sodio (10% y 20%), se realizaron 2 repeticiones. Los análisis de laboratorio se hicieron por duplicado a cada uno de los tratamientos. Para el análisis de datos se empleó el paquete estadístico StatGraphics Centurión de la Universidad de Massachusetts, además para la separación de medias de los niveles de los tratamientos se acudió a la prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$).

3.3. Ubicación geográfica de la investigación

	Quevedo	El Empalme
Altitud:	850 y 85 m.s.n.m.	476 y 37 msnm
Longitud:	W 79° 30' / W 79° 15'	W 80° 0' / W 79° 30'
Latitud:	S 1° 10' / S 1° 0'	S 1° 20' / S 1° 0'
T° media:	26° C	26°C

Fuente: IGM (Instituto Geográfico Militar)

3.4. Factores de estudio

CUADRO 1: Factores de estudio que intervienen en el efecto del aceite esencial de orégano en la conservación de la carne de tilapia.

Factores	Simbología	Descripción
A: Especies de tilapia	a ₀	(<i>O. mossambicus</i>)
	a ₁	(<i>Oreochromis niloticus</i>)
B: Concentraciones de Aceite esencial de orégano	b ₀	1%
	b ₁	3%
	b ₂	5%
C: Concentraciones de cloruro de sodio	c ₀	10%
	c ₁	20%

Elaborado por: Mera, C. 2015

3.4.1. Diseño Experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial **AxBxC**, con los niveles en **A=2**; **B=3** y **C=2**, dando como resultado un total de 12 tratamientos.

3.4.2. Cuadro de tratamientos

CUADRO N° 2: Combinación de los Tratamientos propuestos para el diseño experimental del efecto del aceite esencial de orégano en la conservación de la carne de tilapia.

N°.	SIMBOLOGÍA	DESCRIPCIÓN
1	a ₀ b ₀ C ₀	<i>Oreochromis mossambicus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 1% con 10% de cloruro de sodio.
2	a ₀ b ₀ C ₁	<i>Oreochromis mossambicus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 1% con 20% de cloruro de sodio.
3	a ₀ b ₁ C ₀	<i>Oreochromis mossambicus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 3% con 10% de cloruro de sodio.
4	a ₀ b ₁ C ₁	<i>Oreochromis mossambicus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 3% con 20% de cloruro de sodio.
5	a ₀ b ₂ C ₀	<i>Oreochromis mossambicus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 5% con 10% de cloruro de sodio.
6	a ₀ b ₂ C ₁	<i>Oreochromis mossambicus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 5% con 20% de cloruro de sodio.
7	a ₁ b ₀ C ₀	<i>Oreochromis niloticus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 1% con 10% de cloruro de sodio.
8	a ₁ b ₀ C ₁	<i>Oreochromis niloticus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 1% con 20% de cloruro de sodio.
9	a ₁ b ₁ C ₀	<i>Oreochromis niloticus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 3% con 10% de cloruro de sodio.
10	a ₁ b ₁ C ₁	<i>Oreochromis niloticus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 3% con 20% de cloruro de sodio.
11	a ₁ b ₂ C ₀	<i>Oreochromis niloticus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 5% con 10% de cloruro de sodio.
12	a ₁ b ₂ C ₁	<i>Oreochromis niloticus</i> con una concentración de Aceite esencial de orégano al 5% con 20% de cloruro de sodio.

Elaborado por: Mera, C. 2015

3.4.3. Características del experimento del efecto del aceite esencial de orégano en la conservación de la carne de tilapia

Número de tratamientos:	12
Número de repeticiones:	2
Unidades experimentales:	24

3.4.4. Análisis Estadístico

El análisis estadístico se efectuó mediante análisis de varianza (ADEVA), técnica empleada para analizar la variación total de los datos, descomponiéndolas en porciones significativas e independientes, atribuibles a cada una de las fuentes de variabilidad presentes y la variación aleatoria.

3.4.4.1. CUADRO N° 3: Esquema del análisis de varianza.

FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD
Factor A (Especies de tilapia)	1
Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano)	2
Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio)	1
Réplicas	2
A *B	1
A* C	2
B*C	2
A * B * C	11
Error Experimental	23
TOTAL	

Elaborado por: Mera, C. 2015

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Resultados con Respecto a los Factores de Estudio

En el anexo N° 1 se reportan los valores de cada indicador con relación a los análisis físico-químicos.

4.1.1.1. Análisis de Porcentaje Acidez.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Acidez	24	0,79	0,71	5,96

CUADRO N° 4: Análisis de Varianza para Acidez

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	0.0222042	1	0.0222042	69.54	0.0000
Fact. B	0.000675	2	0.0003375	1.06	0.3803
Fact. C	0.0000375	1	0.0000375	0.12	0.7383
Replicas	0.0003375	1	0.0003375	1.06	0.3260
INTERACCIONES					
AB	0.000608333	2	0.000304167	0.95	0.4154
AC	0.000204167	1	0.000204167	0.64	0.4409
BC	0.001575	2	0.0007875	2.47	0.1304
ABC	0.000108333	2	0.0000541667	0.17	0.8461
RESIDUOS	0.0035125	11	0.000319318		
TOTAL	0.0292625	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Mera, C. 2015

En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 4 del análisis de varianza (ADEVA) para Acidez: en el Factor A (Especies de tilapia) existió diferencia significativa. En el Factor B (Concentraciones de aceite esencial de orégano, en el Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio) y en la Interacción ABC no existió diferencia significativa. En lo que respecta a las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existe normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.1.2. Análisis de pH.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	24	0,83	0,75	1,20

CUADRO N° 5: Análisis de Varianza para pH

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	0.343204	1	0.343204	660.87	0.0000
Fact. B	0.010675	2	0.0053375	10.28	0.0030
Fact. C	0.000704167	1	0.000704167	1.36	0.2689
Replicas	0.0009375	1	0.0009375	1.81	0.2061
INTERACCIONES					
AB	0.0568583	2	0.0284292	54.74	0.0000
AC	0.00770417	1	0.00770417	14.84	0.0027
BC	0.0131583	2	0.00657917	12.67	0.0014
ABC	0.0383083	2	0.0191542	36.88	0.0000
RESIDUOS	0.0057125	11	0.000519318		
TOTAL	0.477263	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Mera, C. 2015

En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 5 del análisis de varianza (ADEVA) para pH: en el Factor A (Especies de tilapia), Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano) y en las Interacciones ABC existió diferencia significativa; mientras que en el Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio) no se encontró diferencia significativa. En las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existe normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.1.3. Análisis de Proteína.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Proteína	24	0,56	0,41	10,17

CUADRO N° 6: Análisis de Varianza Proteína

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	18.4275	1	18.4275	62.35	0.0000
Fact. B	33.9275	2	16.9637	57.40	0.0000
Fact. C	0.980104	1	0.980104	3.32	0.0959
Replicas	1.28344	1	1.28344	4.34	0.0613
INTERACCIONES					
AB	32.9094	2	16.4547	55.68	0.0000
AC	0.338437	1	0.338437	1.15	0.3075
BC	9.02901	2	4.5145	15.28	0.0007
ABC	7.44393	2	3.72196	12.59	0.0014
RESIDUOS	3.25081	11	0.295528		
TOTAL	107.59	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Mera, C. 2015

En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 6 del análisis de varianza (ADEVA) para Proteína: en el Factor A (Especies de tilapia), Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano) y en las Interacciones ABC existió diferencia significativa; mientras que en Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio) no se encontró diferencia significativa. En lo referente a las réplicas no se encontró diferencia significativa, lo que explica que existe normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.1.4. Análisis de Grasa.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Grasa	24	0,81	0,75	2,69

CUADRO N° 7: Análisis de Varianza Grasa

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	0.00341532	1	0.00341532	9.49	0.0131
Fact. B	0.0432585	2	0.0216293	60.11	0.0000
Fact. C	0.000456754	1	0.000456754	1.27	0.2890
Replicas	0.00154722	1	0.00154722	4.30	0.0680
INTERACCIONES					
AB	0.00291838	2	0.00145919	4.06	0.0555
AC	0.00087001	1	0.00087001	2.42	0.1544
BC	0.000267393	2	0.000133696	0.37	0.6997
BD	0.00206145	2	0.00103073	2.86	0.1090
ABC	0.000236851	2	0.000118425	0.33	0.7279
RESIDUOS	0.00323824	9	0.000359805		
TOTAL	0.0582702	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Mera, C. 2015

En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 7 del análisis de varianza (ADEVA) para Grasa: en el Factor A (Especies de tilapia) y en el Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano) existió diferencia significativa; mientras que en el Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio) y en la interacción ABC no existió diferencia significativa. Mientras que en las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existe normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.1.5. Análisis de Humedad.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Humedad	24	0,73	0,64	1,64

CUADRO N° 8: Análisis de Varianza Humedad

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	24.8067	1	24.8067	55.27	0.0000
Fact. B	19.0156	2	9.50778	21.18	0.0002
Fact. C	9.47527	1	9.47527	21.11	0.0008
Replicas	1.23307	1	1.23307	2.75	0.1256
INTERACCIONES					
AB	13.6901	2	6.84505	15.25	0.0007
AC	1.6224	1	1.6224	3.61	0.0838
BC	2.99151	2	1.49575	3.33	0.0739
ABC	12.9975	2	6.49876	14.48	0.0008
RESIDUOS	4.93683	11	0.448803		
TOTAL	90.7689	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Mera, C. 2015

En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 8 del análisis de varianza (ADEVA) para Humedad: en el Factor A (Especies de tilapia), en el Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano), en el Factor C (Concentraciones de ClNa) y en las Interacciones ABC existió diferencia significativa. En las réplicas no se encontró diferencia significativa, por lo que existe regularidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.1.6. Análisis de Cenizas.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cenizas	24	0,65	0,53	16,23

CUADRO N° 9: Análisis de Varianza Cenizas

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	0.0737042	1	0.0737042	4.15	0.0664
Fact. B	0.0793	2	0.03965	2.23	0.1535
Fact. C	0.382538	1	0.382538	21.54	0.0007
Replicas	0.0610042	1	0.0610042	3.44	0.0908
INTERACCIONES					
AB	0.0224333	2	0.0112167	0.63	0.5500
AC	0.0117042	1	0.0117042	0.66	0.4341
BC	0.0813	2	0.04065	2.29	0.1475
ABC	0.166533	2	0.0832667	4.69	0.0337
RESIDUOS	0.195346	11	0.0177587		
TOTAL	1.07386	23			

(P < 0.05)

Elaborado por: Mera, C. 2015

En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 9 del análisis de varianza (ADEVA) para Cenizas: en el Factor A (Especies de tilapia), en el Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano) no existió diferencia significativa; mientras que en el Factor C (Concentraciones de ClNa) y en las Interacciones ABC existió diferencia significativa. En lo que respecta a las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existe normalidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.2. Resultados con Respecto a los Análisis Microbiológicos

En el anexo N° 2 se reportan los valores de cada indicador con relación a los análisis microbiológicos.

4.1.2.1. Análisis de Aerobios.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Aerobios	24	0,94	0,92	3,91

CUADRO N° 10: Análisis de Varianza para Aerobios

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
Fact. A	3.79177E9	1	3.79177E9	25.69	0.0004
Fact. B	5.13752E10	2	2.56876E10	174.04	0.0000
Fact. C	3.30566E9	1	3.30566E9	22.40	0.0006
Replicas	3.34506E7	1	3.34506E7	0.23	0.6433
INTERACCIONES					
AB	5.36339E8	2	2.68169E8	1.82	0.2081
AC	2.60417E7	1	2.60417E7	0.18	0.6825
BC	1.27523E9	2	6.37613E8	4.32	0.0412
ABC	4.21531E8	2	2.10765E8	1.43	0.2810
RESIDUOS	1.62352E9	11	1.47593E8		
TOTAL	6.23887E10	23			

(P < 0.05)

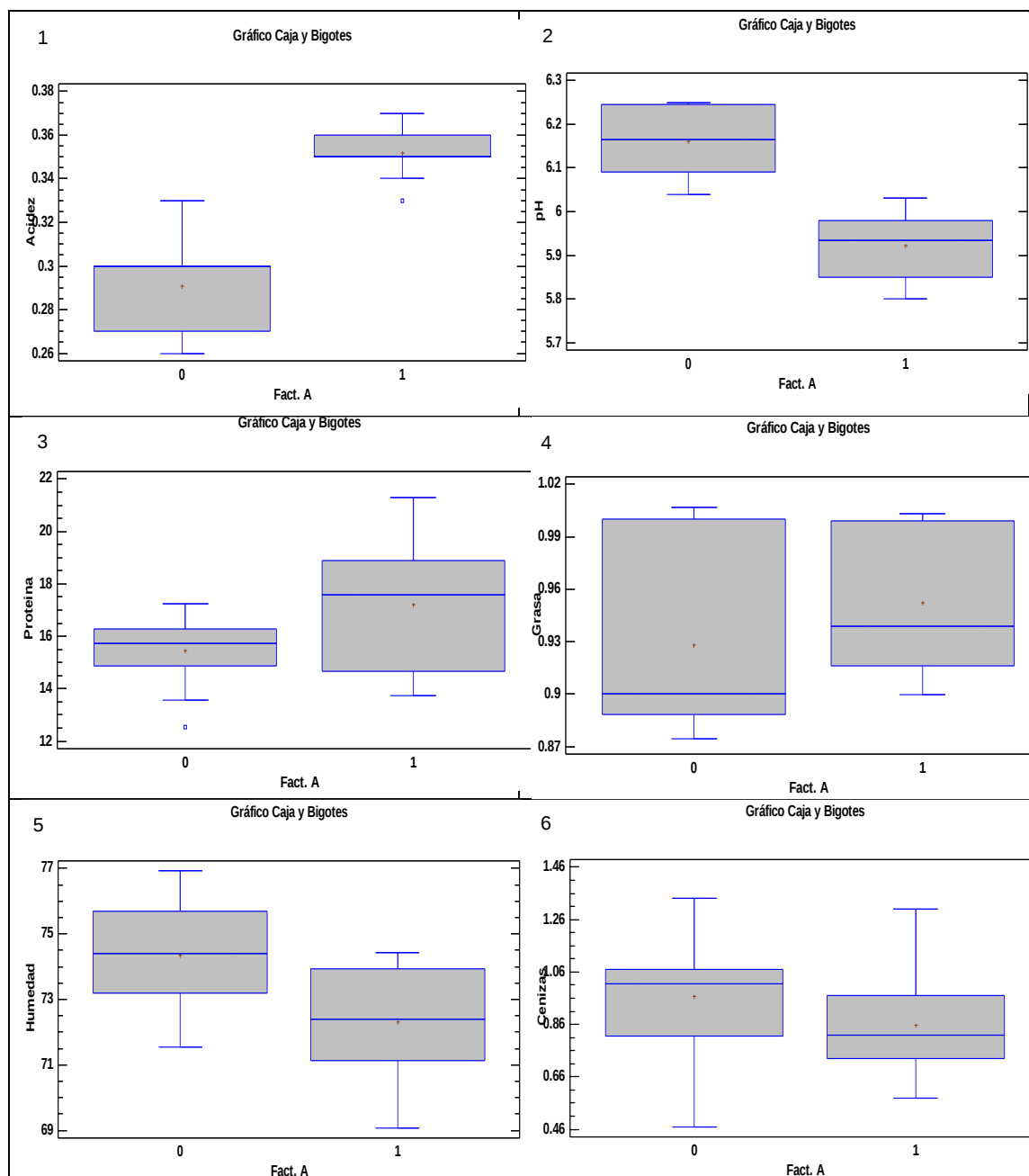
Elaborado por: Mera, C. 2015

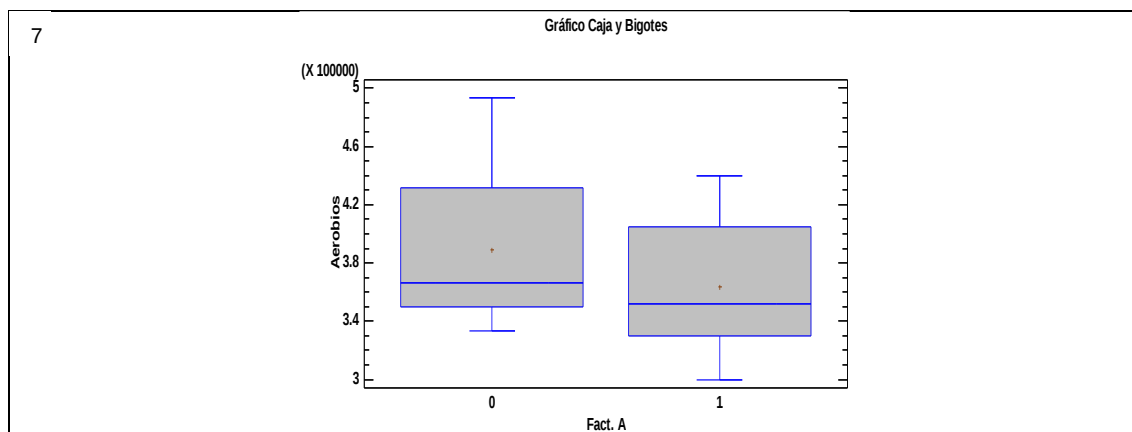
En cuanto a los resultados reportados en el cuadro N° 10 del análisis de varianza (ADEVA) para Aerobios: se observó que existe diferencia significativa en los niveles de los factores: A (Especies de Tilapia), B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano) y C (Concentraciones de ClNa); mientras que en la Interacción ABC no se encontró diferencia significativa. En las réplicas no se encontró diferencia significativa por lo que explica que existe regularidad en la toma de datos y es confiable el análisis estadístico.

4.1.2. Resultados con respecto a los Factores de Estudio (prueba de significación de Tukey)

4.1.2.1. Resultados con respecto al Factor A (Especies de Tilapia).

GRÁFICO N° 3: Muestra las diferencias de medias del factor A mediante la Prueba de Tukey ($p < 0,05$), la cual determina DS entre Tilapia Negra (*O. mossambicus*) y Tilapia Roja (*O. niloticus*). 1. Acidez (DS); 2. pH (DS); 3. Proteína (DS); 4. Grasa (DS); 5. Humedad (DS); 6. Cenizas; 7. Aerobios (DS).



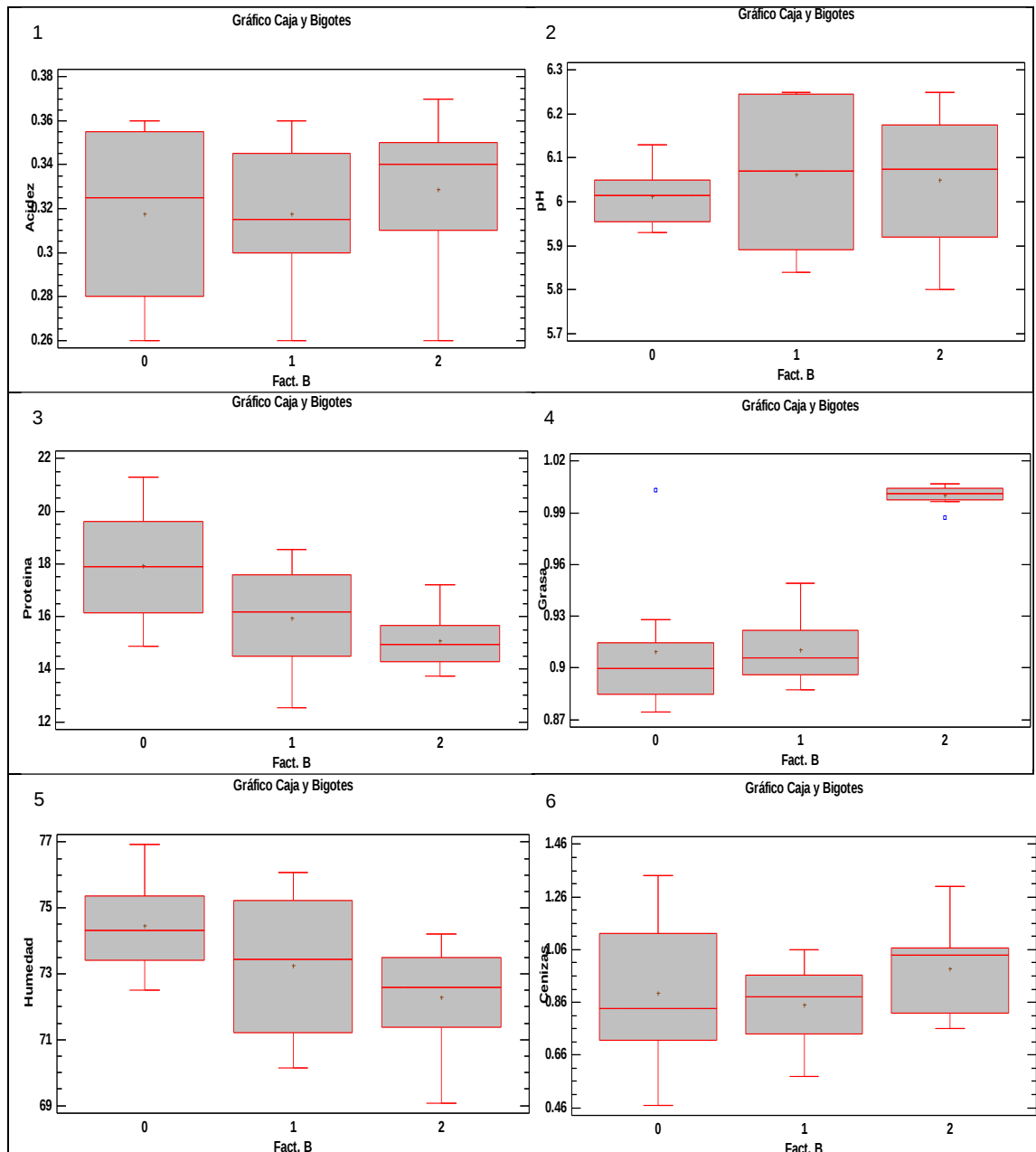


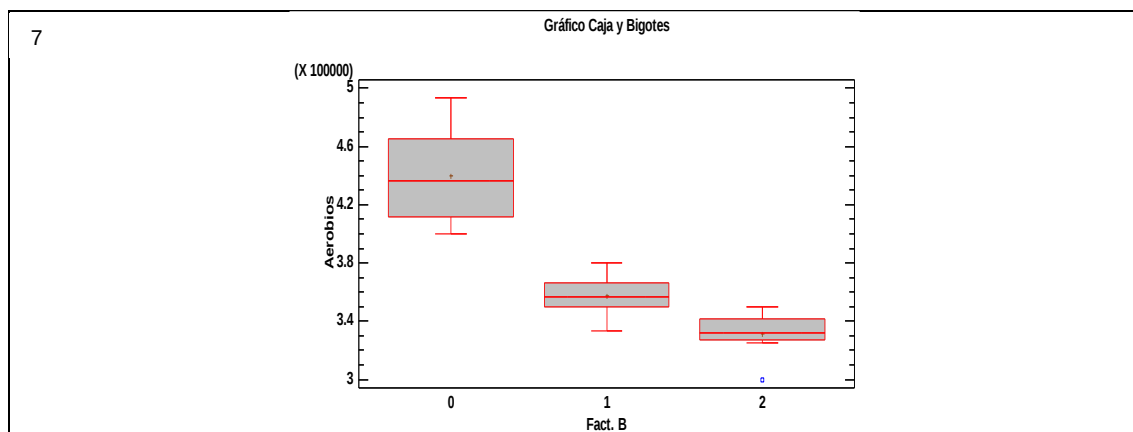
Elaborado por: Mera, C. 2015

El gráfico N° 3 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$) para la separación de medias de los niveles del factor A. Se encontró diferencia significativa en: Acidez y presentó el valor más alto (0,35) a_1 (*O. niloticus*); pH presentó el valor más alto (6,16) a_0 (*O. mossambicus*); Proteína, el valor más alto a_1 (17,20) (*O. niloticus*); Grasa presentó el mayor valor (0,95) a_0 (*O. niloticus*); en Humedad presentó el valor más alto (74,34) a_0 (*O. mossambicus*); en Aerobios el valor más alto (388889) lo presentó a_0 (*O. mossambicus*); mientras que en Ceniza no se encontró diferencia significativa.

4.1.2.2. Resultados con respecto al Factor B (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano).

GRÁFICO N° 4: Muestra las diferencias de medias del factor B mediante la Prueba de Tukey ($p < 0,05$), la cual determina DS entre las Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (1%, 3% y 5%). 1. Acidez; 2. pH (DS); 3. Proteína (DS); 4. Grasa (DS); 5. Humedad (DS); 6. Cenizas; 7. Aerobios (DS).



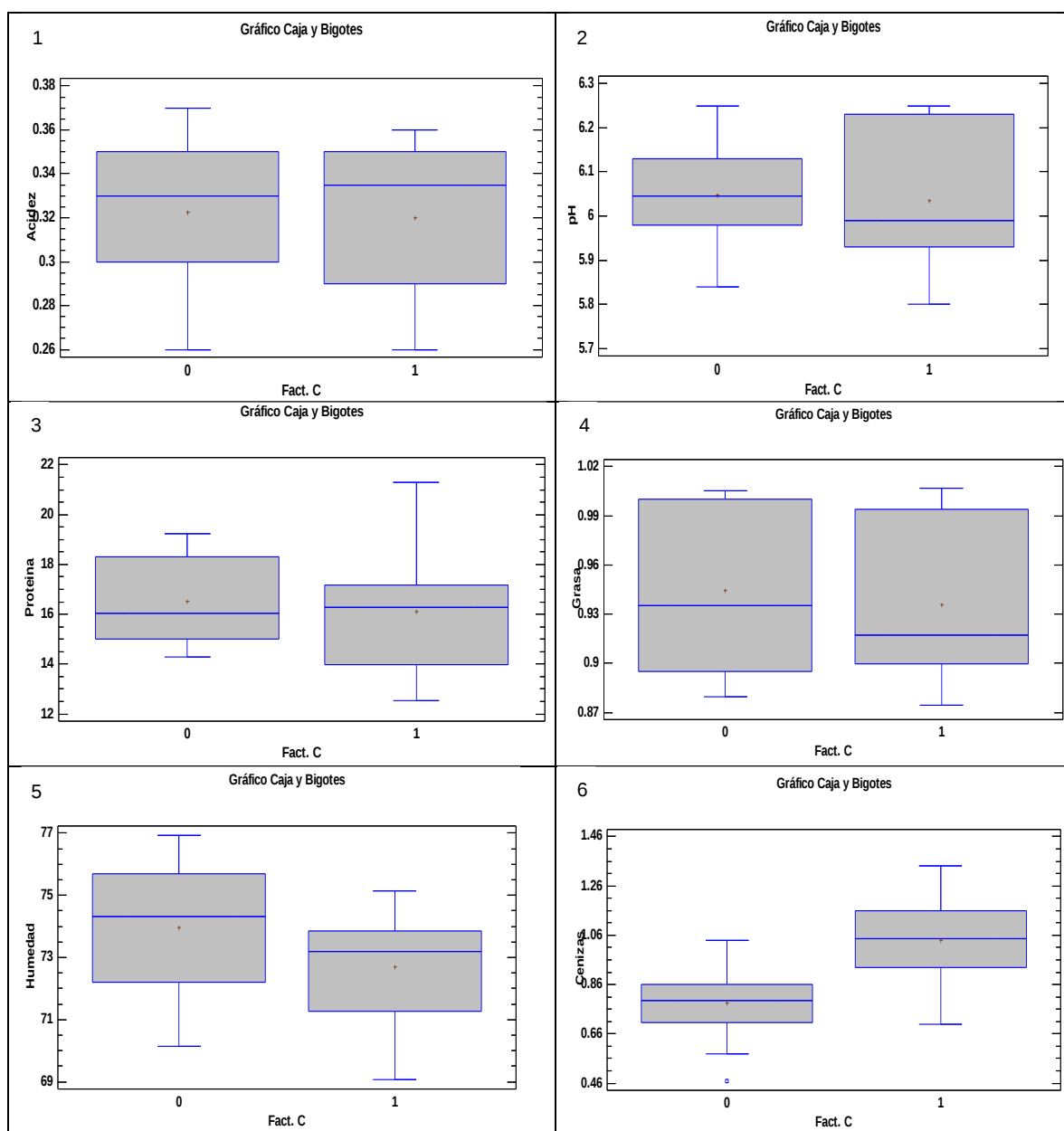


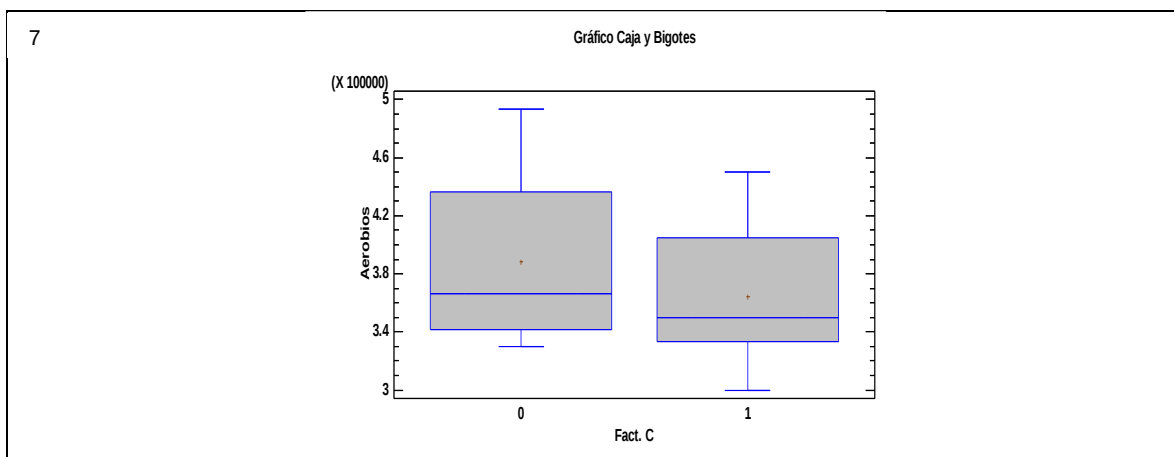
Elaborado por: Mera, C. 2015

El gráfico N° 4 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se encontró diferencia significativa en: pH que presentó los valores más altos en b_1 (3%) con (6,06) y en b_2 (5%) con (6,05); Proteína el valor más alto (17,93) en b_0 (1%); Grasa presentó el valor más alto (1,00) b_2 (5%); Humedad el valor más alto (74,45) en b_0 (1%); en Aerobios el valor más alto (440000) lo presentó b_0 (1%) en lo que respecta a Acidez y Ceniza no se encontraron diferencias significativas.

4.1.2.3. Resultados con respecto al Factor C (Concentraciones de Cloruro de Sodio)

GRÁFICO N° 5: Muestra las diferencias de medias del factor C mediante la Prueba de Tukey ($p < 0,05$), la cual determina DS entre las Concentraciones de Cloruro de Sodio (10% y 20%). 1. Acidez; 2. pH; 3. Proteína; 4. Grasa; 5. Humedad (DS); 6. Cenizas (DS); 7. Aerobios (DS).



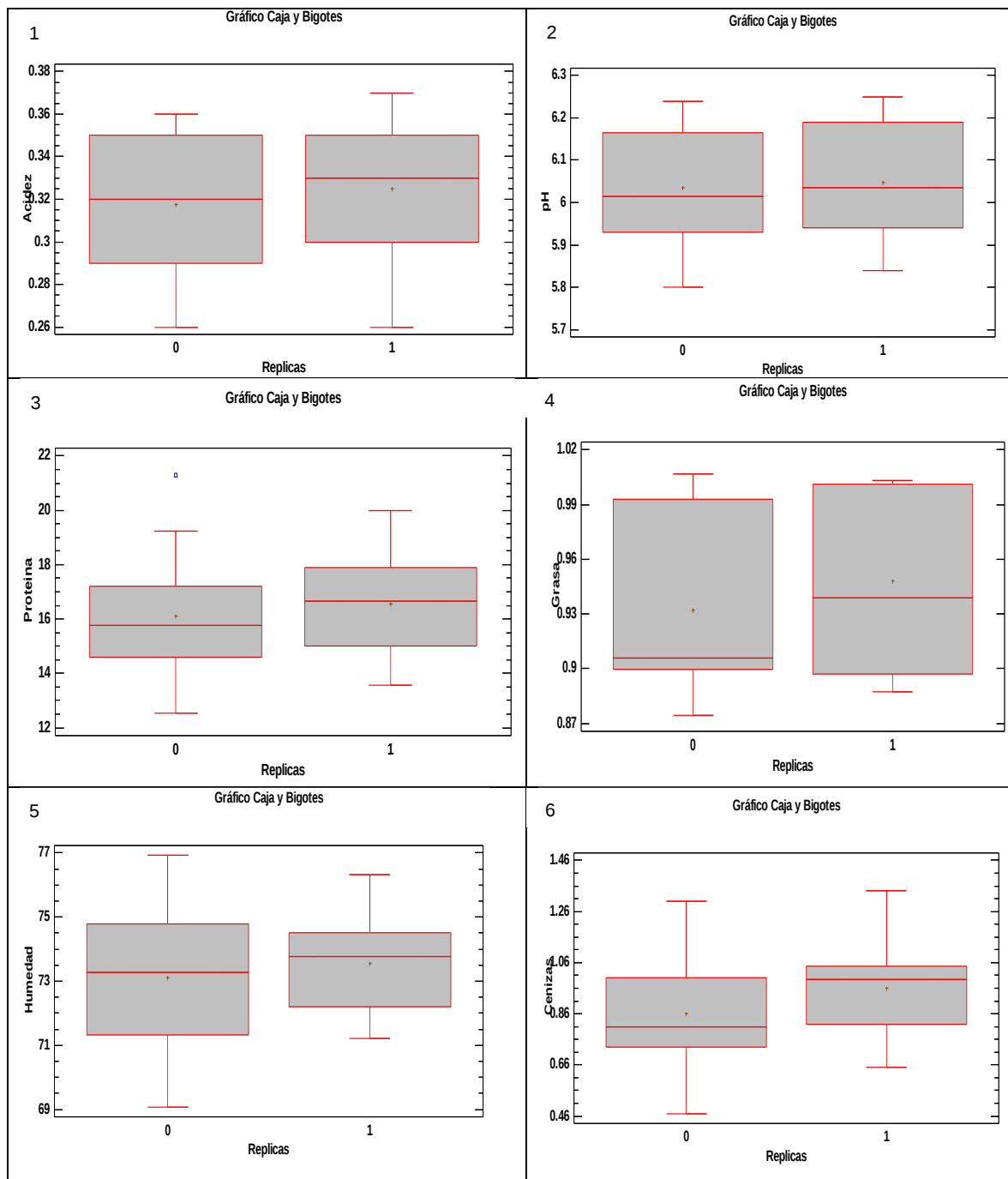


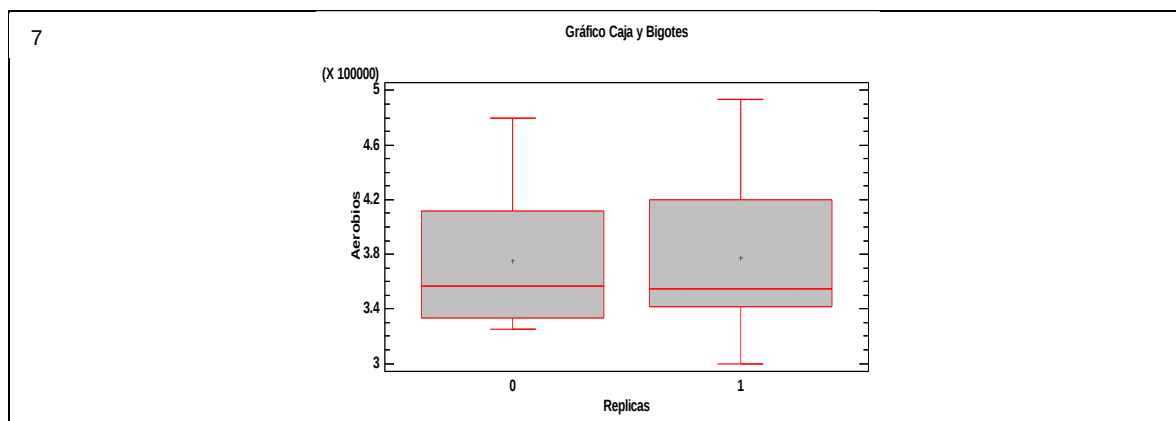
Elaborado por: Mera, C. 2015

El gráfico N° 5 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se encontró diferencia significativa en: Humedad presentó el valor más alto (73,95) en c_0 (10%); Ceniza que presentó el valor más alto (1,04) en b_1 (20%); y Aerobios que presentó el valor más alto (388055) en b_0 (10%); mientras que en Acidez, pH, Proteína y Grasa no presentaron diferencias significativas.

4.1.2.4. Resultados con respecto a las Réplicas.

GRÁFICO N° 6: Muestra las diferencias de medias de las Réplicas mediante la Prueba de Tukey ($p < 0,05$), la cual determina DS entre las 2 repeticiones. 1. Acidez; 2. pH; 3. Proteína; 4. Grasa; 5. Humedad; 6. Cenizas; 7. Aerobios.





Elaborado por: Mera, C. 2015

El gráfico N° 6 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se encontró que no existe diferencia significativa en: Acidez, pH, Proteína, Grasa, Humedad, Ceniza y Aerobios en las dos repeticiones.

4.1.2.4. Resultados con respecto a la Interacción ABC.

CUADRO N° 11: Prueba de Tukey por Interacción ABC (Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio)

Factor A*B*C			Acidez	pH	Proteína	Grasa	Humedad	Ceniza	Aerobios
a ₀	b ₀	c ₀	AB	CD	A	A	C	A	D
a ₀	b ₀	c ₁	A	ABCD	A	A	BC	A	CD
a ₀	b ₁	c ₀	AB	D	A	AB	BC	A	BC
a ₀	b ₁	c ₁	A	BCD	A	A	ABC	A	AB
a ₀	b ₂	c ₀	AB	ABCD	A	BC	ABC	A	AB
a ₀	b ₂	c ₁	AB	D	A	ABC	ABC	A	AB
a ₁	b ₀	c ₀	AB	AB	A	ABC	ABC	A	CD
a ₁	b ₀	c ₁	AB	ABC	A	AB	ABC	A	CD
a ₁	b ₁	c ₀	AB	ABC	A	ABC	ABC	A	AB
a ₁	b ₁	c ₁	AB	ABCD	A	ABC	AB	A	AB
a ₁	b ₂	c ₀	B	ABCD	A	C	ABC	A	AB
a ₁	b ₂	c ₁	B	A	A	C	A	A	A

Elaborado por: Mera, C. 2015

El cuadro N° 11 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se encontró diferencia significativa en Acidez observándose los valores más altos en **a₁b₂c₀** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% ClNa) y **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (0,36); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₀b₀c₁** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 20% ClNa) con (0,28) y **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% ClNa). En pH se encontró diferencia significativa se observó que los valores más altos se obtuvieron en **a₀b₁c₀** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 10% ClNa) y **a₀b₂c₁** (*O. mossambicus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (6,22); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) con (5,87). En el caso de Proteína no se encontró diferencia significativa. En Grasa se encontró diferencia significativa, se observó que los valores más altos se obtuvieron en **a₁b₂c₀** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% ClNa) y **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (1,01); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₀b₁c₁** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 20% ClNa) con (0,89). En Humedad se encontró diferencia significativa, se observó que el valor más alto se obtuvo en **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% ClNa) con (76,67); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) con (69,59). En Ceniza no se encontró diferencia significativa. En UFC de Aerobios se encontró diferencia significativa, se observó que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) con (301736,08); mientras que el valor más alto se obtuvo en **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% ClNa) con (469097,08).

4.1.3. Resultados con respecto a la caracterización del Aceite Esencial de Orégano (*Oreganum vulgare* L.)

Cuadro N° 12: Caracterización del Aceite Esencial de Orégano

Número	Nombre del compuesto	Tiempo de retención	Abundancia (%)	Índice de kovats	Similitud
1	1-octen-3-ol	6,45	1.70	978	90
2	p-cimeno	7,23	6.24	1089	95
3	β -felandreno	7,86	1.86	1031	94
4	γ -terpineno	8,70	0.88	1062	97
5	4-terpineol	12,42	1.26	1177	97
6	z-citral	14,47	0.72	1316	87
7	Geraniol	14,88	4.29	1255	94
8	E-citral	15,44	0.96	1341	94
9	carvacrol	16,48	62.41	1298	93
10	β -cariofileno	20,34	8.84	1404	99
11	α -bergamoteno	20,68	6.75	1415	96
12	α -humuleno	21,27	2.47	1454	98
13	oxido de cariofileno	25,13	1.62	1581	95

Elaborado por: Mera, C. 2015

El cuadro N° 12 muestra los valores de composición química del aceite esencial de orégano. Se encontró 13 compuestos (todos terpenos). El componente principal es el carvacrol (62,41%), además de β -cariofileno (8,84%), α -bergamoteno (6,75%), p-cimeno (6,24%), geraniol (4,29%); y α -humuleno, β -felandreno, 1-octen-3-ol, oxido de cariofileno, 4-terpineol, E-citral, γ -terpineno, z-citral en pequeñas cantidades.

4.2. Discusión

4.2.1. Discusión de Resultados de los Filetes de Tilapia tratados con Aceite Esencial de Orégano y ClNa.

4.2.1.1. Discusión de Resultados de los Análisis físico – químico.

4.2.1.1.1. Con Respecto a Especies de Tilapia (Factor A).

En cuanto a los resultados físico-químicos de los filetes de tilapia el Factor A: (Especies de Tilapia), se observó valores de acidez 0,29 (a_0) a 0,35 (a_1) los cuales son inferiores a (0,39) que los reportados por (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008). En lo que respecta a pH se pudo observar valores de 5,92 (a_1) a 6,16 (a_0) éstos están por debajo de los parámetros establecidos (6,5 – 6,8) por la Norma NTE INEN 183 (Pescado fresco, refrigerado y congelado. Requisitos) (2006). En Proteína se obtuvo 15,45 (a_0) a 17,20 (a_1) lo que se encuentra por debajo de (18,4 – 20,8) reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008) (Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia). En Grasa se obtuvo 0,92 (a_0) a 0,95 (a_1), los cuales se encuentran dentro de los parámetros (0,4 – 1,9) señalados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Humedad se obtuvo a_1 (72,30) a a_0 (74,34), los que se encuentran dentro de los parámetros (72,3 – 76,9) lo reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Cenizas se obtuvo a_1 (0,85) a a_0 (0,96), valores por debajo de (1,2-1,5) establecido por (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001). En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios a_1 ($3,6 \times 10^5$) y a_0 ($3,8 \times 10^5$), lo que se encuentran dentro de los parámetros (5×10^5) de (INEN, 2006) y (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

4.2.1.1.2. Con Respecto a las Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano utilizado (Factor B).

En cuanto a los resultados físico-químicos de los filetes de tilapia el Factor B: (Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano), se observó valores de acidez 0,32 (b_0) a 0,33 (b_2) los cuales son inferiores a (0,39) que los reportados por (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008). En lo que respecta a pH se pudo contemplar valores de 6,01 (b_1) a 6,06 (b_0) éstos están por debajo de los parámetros establecidos (6,5 – 6,8) por la Norma NTE INEN 183 (Pescado fresco, refrigerado y congelado. Requisitos) (2006). En Proteína se obtuvo 15,09 (b_2) a 17,93 (b_0) lo que se encuentra por debajo de (18,4 – 20,8) reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008) (Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia). En Grasa se obtuvo 0,91 (b_0) a 1,00 (b_2), los cuales se encuentran dentro de los parámetros (0,4 – 1,9) señalados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Humedad se obtuvo b_2 (72,27) a b_0 (74,45), los que se encuentran dentro de los parámetros (72,3 – 76,9) lo reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Cenizas se obtuvo b_1 (0,85) a b_2 (0,98), valores por debajo de (1,2-1,5) establecido por (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001). En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios b_2 ($3,3 \times 10^5$) y b_0 ($4,4 \times 10^5$), lo que se encuentran dentro de los parámetros (5×10^5) de (INEN, 2006) y (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

4.2.1.1.3. Con Respecto a las Concentraciones de Cloruro de Sodio utilizado (Factor C).

En cuanto a los resultados físico-químicos de los filetes de tilapia el Factor C: (Concentraciones de Cloruro de Sodio), se observó valores de acidez 0,32 (c_0 y c_1) los cuales son inferiores a (0,39) que los reportados por (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008). En lo que respecta a pH se pudo contemplar valores de 6,03 (c_1) a 6,04 (c_0) éstos están por debajo de los parámetros establecidos (6,5 – 6,8) por la Norma NTE INEN 183 (Pescado fresco, refrigerado y congelado. Requisitos) (2006). En Proteína se obtuvo 16,12 (c_1) a 16,52 (c_0) lo que se encuentra por

debajo de (18,4 – 20.8) reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008) (Caracterización nutricional de pescados de producción y consumo regional en Bucaramanga, Colombia). En Grasa se obtuvo 0,93 (c_1) a 0,94 (c_2), los cuales se encuentran dentro de los parámetros (0,4 – 1,9) señalados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Humedad se obtuvo c_1 (72,69) a c_0 (73,95), los que se encuentran dentro de los parámetros (72,3 – 76,9) lo reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Cenizas se obtuvo a_0 (0,78) a a_1 (1,04), valores por debajo de (1,2-1,5) establecido por (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001). En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios c_1 ($3,6 \times 10^5$) y c_0 ($3,8 \times 10^5$), lo que se encuentran dentro de los parámetros (5×10^5) de (INEN, 2006) y (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

4.2.1.1.4. Con Respecto a las Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio (Factor ABC).

En cuanto a los resultados físico-químicos y microbiológicos de los filetes de tilapia en cuanto a la acidez: en **$a_1b_2c_0$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% ClNa) y **$a_1b_2c_1$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (0,36); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **$a_0b_0c_1$** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 20% ClNa) con (0,28), los cuales son inferiores a (0,39) que los reportados por (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008). En lo que respecta a pH se observó que los valores más altos se obtuvieron en **$a_0b_1c_0$** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 10% ClNa) y **$a_0b_2c_1$** (*O. mossambicus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (6,22); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **$a_1b_2c_1$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) con (5,87), éstos están por debajo de los parámetros establecidos (6,5 – 6,8) por la Norma NTE INEN 183 (Pescado fresco, refrigerado y congelado. Requisitos) (2006). En Proteína no se encontró diferencias. En Grasa se observó que los valores más altos se obtuvieron en **$a_1b_2c_0$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% ClNa) y **$a_1b_2c_1$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (1,01); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **$a_0b_1c_1$** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 20% ClNa) con (0,89), los cuales se encuentran dentro de los parámetros (0,4 – 1,9) señalados por

(Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Humedad se observó que el valor más alto se obtuvo en **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% ClNa) con (76,67); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (Tilapia roja * 5% AEO * 20% ClNa) con (69,59), los que se encuentran dentro de los parámetros (72,3 – 76,9) lo reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008). En Cenizas no se encontró diferencias significativas. En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios se observó que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) con (3×10^5); mientras que el valor más alto se obtuvo en **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% ClNa) con ($4,6 \times 10^5$), los que se encuentran dentro de los parámetros (5×10^5) de (INEN, 2006) y (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

4.2.1.1.5. Con Respecto a la Caracterización química del Aceite Esencial de Orégano.

En cuanto a los resultados de la caracterización del aceite esencial de orégano se obtuvo como principal componente el carvacrol con (62,41%), β -cariofileno (8,84%), α -bergamoteno (6,75%). Los mismos componentes que se asemejan a lo reportado por (Fonnegra & Jiménez, 2007).

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

5.1.1. De las especies de tilapia (Factor A)

- Con respecto a acidez: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto presentó el nivel a_1 (0,35) (*O. niloticus*) frente al nivel a_0 (0,29) (*O. mossambicus*) los cuales son inferiores a los reportados por (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008).
- En lo referente a pH: se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto presentó el nivel a_0 (6,16) (*O. mossambicus*) en cambio el valor más bajo lo presentó a_1 (5,92) (*O. niloticus*), valores inferiores establecido por NTE INEN 183.
- En Proteína: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye el valor más alto lo presentó a_1 (17,20) (*O. niloticus*), mientras que el valor más bajo lo presentó a_0 (15,45) (*O. mossambicus*), los mismos que se encuentran por debajo de los valores reportados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- Lo que respecta a extracto etéreo: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto presentó el nivel a_1 (0,95) (*O. niloticus*) frente al nivel a_0 (0,93) (*O. mossambicus*), los cuales se encuentran dentro de los parámetros señalados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- En el contenido de Humedad: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto presentó el nivel a_0 (74,34) (*O. mossambicus*) con respecto al nivel a_1 (72,30) (*O. niloticus*), los cuales se encuentran dentro de los parámetros reportados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- En Cenizas: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto presentó el nivel a_0 (0,96) (*O. mossambicus*) y el más bajo el nivel a_1 (0,85) (*O. niloticus*),

valores por debajo de lo establecido por (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

- En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto presentó el nivel a_0 ($3,8 \times 10^5$) (*O. mossambicus*) en cambio el valor más bajo lo presentó el nivel a_1 ($3,6 \times 10^5$) (*O. niloticus*), lo que se encuentran dentro de los parámetros de (INEN, 2006) y (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

5.1.2. De las concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (Factor B)

- Con respecto a Acidez: No existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los valores entre los tres niveles son similares.
- En lo que respecta a pH: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que los valores más altos se pudo contemplar en los niveles b_1 (6,06) (3%) y b_2 (6,05) (5%), en cambio el valor más bajo lo presentó b_0 (6,01) (1%), éstos están por debajo de los parámetros establecidos por la Norma NTE INEN 183 (2006).
- En Proteína: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se pudo contemplar en el nivel b_0 (17,93) (1%) y el más bajo en el nivel b_2 (15,09) (5%), lo que se encuentra por debajo de lo reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- En Grasa: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se presentó en el nivel b_2 (1,00) (5%), mientras que los valores más bajos se obtuvieron en los niveles b_0 (1%) y b_1 (3%) ambos con (0,91), los cuales se encuentran dentro de los parámetros señalados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).

- En Humedad: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se presentó en el nivel b_0 (74,45) (1%) y el más bajo en b_2 (72,27) (5%), los que se encuentran dentro de los parámetros reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- En Cenizas: No existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los valores entre los tres niveles son similares.
- En UFC de Aerobios: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se presentó en el nivel b_0 ($4,4 \times 10^5$) (1%), mientras que el valor más bajo en el nivel b_2 ($3,3 \times 10^5$) (5%), los que se encuentran dentro del límite superior de NTE INEN 1526-5 (2006) y (FAO, 2001).

5.1.3. De las concentraciones de Cloruro de Sodio (Factor C)

- Con respecto a Acidez: No existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los valores entre los dos niveles son similares.
- En pH: No existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los valores entre los niveles c_0 (10%) y c_1 (20%) son similares.
- En Proteína: No existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los valores entre los niveles c_0 (10%) y c_1 (20%) son semejantes.
- En Grasa: No existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los valores entre los niveles c_0 (10%) y c_1 (20%) no difieren entre sí.
- En lo que respecta a Humedad: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se presentó en el nivel c_0 (73,95) (10%) frente a c_1 (72,69) (20%), los que se encuentran dentro de los parámetros reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).

- En Cenizas: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se presentó en el nivel c_1 (1,04) (20%), mientras que el más bajo en c_0 (0,78) (10%) valores por debajo de lo establecido por (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).
- En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se presentó en el nivel c_0 ($3,8 \times 10^5$) (10%) y el valor más bajo c_1 ($3,6 \times 10^5$) (20%), lo que se encuentran dentro de establecido por NTE INEN 1526-5 (2006) y (FAO, 2001).

5.1.4. De la Interacción ABC (Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio)

- Con respecto a Acidez: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto fueron **$a_1b_2c_0$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% ClNa) y **$a_1b_2c_1$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (0,36); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **$a_0b_0c_1$** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 20% ClNa) con (0,28), los cuales son inferiores a (0,39) que los reportados por (Suárez, Pardo, & Cortés, 2008).
- En lo que respecta a pH: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que los valores más altos se obtuvieron en **$a_0b_1c_0$** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 10% ClNa) y **$a_0b_2c_1$** (*O. mossambicus* * 5% AEO * 20% ClNa) ambos con (6,22); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **$a_1b_2c_1$** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) con (5,87), éstos están por debajo de los parámetros establecidos (6,5 – 6,8) por la Norma NTE INEN 183 (Pescado fresco, refrigerado y congelado. Requisitos) (2006).
- En Proteína: no existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los tratamientos son semejantes.

- En Grasa: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que los valores más altos se obtuvieron en **a₁b₂c₀** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% CINA) y **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% CINA) ambos con (1,01); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₀b₁c₁** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 20% CINA) con (0,89), los cuales se encuentran dentro de los parámetros (0,4 – 1,9) señalados por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- En Humedad: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más alto se obtuvo en **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% CINA) con (76,67); mientras que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (Tilapia roja * 5% AEO * 20% CINA) con (69,59), los que se encuentran dentro de los parámetros (72,3 – 76,9) lo reportado por (Perea, Gómez, Mayorga, & Triana, 2008).
- En Cenizas: no se encontró diferencias significativas entre los tratamientos, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los tratamientos son semejantes en el contenido de cenizas.
- En lo que respecta al conteo de UFC de Aerobios: existió diferencia significativa, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el valor más bajo se obtuvo en **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% CINA) con (3×10^5); mientras que el valor más alto se obtuvo en **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% CINA) con ($4,6 \times 10^5$), los que se encuentran dentro de los parámetros (5×10^5) de (INEN, 2006) y (FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2001).

5.1.5. De la caracterización química del Aceite Esencial de Orégano

- En cuanto a los resultados obtenidos de la caracterización del aceite esencial de orégano se concluye que el principal componente es el carvacrol con (62,41%), β -cariofileno (8,84%), α -bergamoteno (6,75%). Los mismos componentes que se asemejan a los reportados por (Fonnegra & Jiménez, 2007).

5.2. Recomendaciones

5.2.1. De las especies de tilapia (Factor A)

- En lo que respecta a la utilización de las especies de tilapia, en relación al contenido de acidez, pH, proteína, humedad y UFC aerobios se recomienda el empleo de la tilapia roja (*Oreochromis niloticus*). En cuanto a contenido de grasa y ceniza se recomienda utilizar la tilapia negra (*Oreochromis mossambicus*).

5.2.2. De las concentraciones de Aceite Esencial de Orégano (Factor B)

- En referente a las concentraciones de aceite esencial de orégano, en relación al contenido de acidez y ceniza se recomienda utilizar cualquier concentración (1%, 3% o 5%), dado que no influyen en sus valores. En cuanto a pH y proteína se recomienda el empleo de la concentración del 1% de AEO. En lo referente al contenido de grasa se recomienda la utilización de las concentraciones de (1% o 3%) de AEO. Mientras que el contenido de humedad y a la inhibición de UFC de aerobios se recomienda el empleo de la concentración de (5% AEO).

5.2.3. De las concentraciones de Cloruro de Sodio

- En lo concerniente a las concentraciones de Cloruro de Sodio (ClNa), en relación a mejores contenido de acidez, pH, proteína y grasa se recomienda el empleo de cualquiera de las concentraciones (10% o 20%) de ClNa, por lo que no influyen en el contenido de los mismos. Para obtener un mayor contenido de ceniza, bajo contenido de humedad y la menor inhibición de aerobios se recomienda el empleo de (20% ClNa).

5.2.4. De la Interacción ABC (Especies de Tilapia * Concentraciones de Aceite Esencial de Orégano * Concentraciones de Cloruro de Sodio)

- En lo que respecta a acidez se recomienda utilizar el tratamiento **a₁b₂c₀** (*O. niloticus* * 5% AEO * 10% ClNa) y/o **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa).
- En pH el tratamiento recomendado es **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa).
- En cuanto al contenido de proteína se recomienda utilizar cualquier tratamiento, debido a que no existe diferencia significativa entre los mismos.
- En el contenido de grasa es recomendable utilizar los tratamientos **a₀b₀c₀** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 10% ClNa), **a₀b₀c₁** (*O. mossambicus* * 1% AEO * 20% ClNa) y/o **a₀b₁c₁** (*O. mossambicus* * 3% AEO * 20% ClNa).
- En humedad es recomendable utilizar el tratamiento **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa).
- En lo referente al contenido de cenizas es preferible utilizar cualquiera de los tratamientos, debido a que no existió diferencia entre sí.
- Se recomienda utilizar el tratamiento **a₁b₂c₁** (*O. niloticus* * 5% AEO * 20% ClNa) por lo que presentó el menor contenido de microorganismos aerobios (3×10^5), en relación a los demás tratamientos.

5.2.5. De la caracterización química del Aceite Esencial de Orégano

- Se recomienda utilizar el aceite esencial de orégano como agente antimicrobiano en alimentos, ya que su contenido principal es carvacrol (62,41%).

CAPÍTULO VI

6. BIBLIOGRAFÍA

6.1. Literatura citada

- Adams, R. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. (A. P. Corporation, Ed.) *Carol Stream IL, IV*, 503.
- Arcila, C., Loarca, G., Lecona, S., & González, E. (2004). El orégano: Propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *ALAN*, 100-111.
- Asap. (10 de Febrero de 2015). *www.asaplaboratorio.com*. Obtenido de Asap Laboratorio: <http://www.asaplaboratorio.com/>
- Bello, J. (2000). *Ciencia bromatológica: principios generales de los alimentos*. Madrid: Díaz de Santos.
- Bruneton, J. (2001). *Farmacognosia. Fitoquímica, Plantas Medicinales*. Zaragoza: Acribia S. A.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int J Food Microbiol*, 223-253.
- Connell, J. (1978). *Control de la calidad del pescado*. Zaragoza: Acribia.
- Corpei. (2001). *Tilapia: Perfil del Producto*. CBI Proyect.
- Davies, N. (1990). Gas chromatographic retention indices of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M. phases. *Journal of Chromatography A*, 1-24.
- Desrosier, N. (2000). *Conservación de Alimentos*. México D.F.: Continental.
- FAO. (27 de Septiembre de 2001). *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Recuperado el 25 de Enero de 2015, de www.fao.org: <http://www.fao.org/fishery/topic/12253/es>
- FAO. (08 de Octubre de 2001). *www.fao.org*. Recuperado el 14 de Enero de 2015, de <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s05.htm>
- Fernández-Pan, I., Mendoza, M., & Mate, J. (2013). Whey protein isolate edible films essential oils incorporated to improve the microbial quality of poultry. *J Sci Food Agric*, 2986-2994.

- Fonnegra, R., & Jiménez, S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Froese, R., & Pauly, D. (2003). *www.fishbase.org*.
- Gutiérrez, J., Rodríguez, G., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2008). Efficacy of plant essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria associated with ready-to-eat vegetables: Antimicrobial and sensory screening. *Journal of Food Protection*, 1846-1854.
- <http://es.wikipedia.org>. (s.f.). Recuperado el 25 de Octubre de 2014, de http://es.wikipedia.org/wiki/Origanum_vulgare
- Huet, M. (1983). *Tratado de Psicicultura*. Madrid: Mundiprensa.
- Hulankova, R., Borilova, G., & Steinhäuserová, I. (2013). Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. *Meat Science*, 190-194.
- Huss, H. (1997). Documento Técnico de Pesca N° 334. *Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros*. Roma: FAO.
- ICMSF. (2003). *Ecología Microbiana de los Alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.
- INEN. (2006). *NTE INEN 1529-5*. Quito: INEN.
- Iturriaga, L., Olabarrieta, I., & Marañón, I. (2012). Antimicrobial assays of natural extracts and their inhibitory effect against *Listeria innocua* and fish spoilage bacteria, after incorporation into biopolymer edible films. *Int J Food Microbiol*, 58-64.
- J, B. (2001). *Fitoquímica Plantas Medicinales*. Zaragoza: Acribia S. A.
- Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2000). *The Stability and Shelf-Life of Food*. Woodhead Publishing Limited.
- Larrañaga, I., & Carballo, J. (1998). *Control e Higiene de los alimentos*. Madrid: Mc. Graw Hill.
- Leinster, L., & Gould, G. (2002). Hurdle Technologies. Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality. *Kluwer Academic/Plenum Publisher*.
- Medina, Vivanco, Sobral, & Hubinger. (2002). Osmotic deshydration of tilapia fillets in limited volume of ternary solutions. *Chemical Engineering Journal*, 199-205.

- Multon, J. (2008). *Aditivos y auxiliares de fabricación en las industrias agroalimentarias*. Zaragoza, España: Acribia.
- Nico, L., & Neilson, M. (2012). *www.eol.org*. Obtenido de <http://eol.org/pages/356342/details>
- Pascual, M., Slowing, K., Carretero, E., Sánchez, M., & Villar, A. (2001). Lippia: Traditional uses, chemistry and pharmacology. A review: *J. Ethnopharmacol*, 201-214.
- Perea, A., Gómez, E., Mayorga, Y., & Triana, Y. (07 de Marzo de 2008). *www.alanrevista.org*. Recuperado el 11 de 03 de 2015, de http://alanrevista.org/ediciones/2008-1/caracterizacion_nutricional_pescados.asp
- Rodríguez, J. (25 de Junio de 2009). *Eroski Consumer*. Recuperado el 10 de Septiembre de 2014, de <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2003/01/22/4830.php>
- salud.ellasabe.com*. (s.f.). Recuperado el 21 de Septiembre de 2014, de <http://salud.ellasabe.com/plantas-medicinales/89-oregano-propiedades-y-usos>
- Sharma, M. R. (2003). *Ingeniería de Alimentos. Operaciones Unitarias y prácticas de laboratorio*. México D.F.: Limusa Wiley.
- Soriano, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Madrid: Ediciones Díaz de Santos.
- Suárez, H., Pardo, S., & Cortés, M. (2008). Calidad físico-química y atributos sensoriales de filetes de sajados biopreservados de cachama, empacados al vacío bajo refrigeración. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 330-339.

CAPÍTULO VII

7. ANEXOS

ANEXO 1. VALORES PROMEDIOS DEL ANÁLISIS FÍSICO- QUÍMICO

N°	Tratamientos	Acidez		pH		Proteína		Grasa		Humedad		Ceniza	
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	a ₀ b ₀ C ₀	0.3	0.28	6.13	6.06	16.05	17.23	0.8797	0.8898	76.92	76.32	0.47	0.79
2	a ₀ b ₀ C ₁	0.28	0.26	6.04	6.04	14.88	16.22	0.8743	0.9012	73.49	74.20	1.24	1.34
3	a ₀ b ₁ C ₀	0.26	0.30	6.20	6.25	15.45	16.00	0.8999	0.8872	76.09	75.30	0.78	0.99
4	a ₀ b ₁ C ₁	0.30	0.30	6.24	6.25	12.54	13.55	0.9002	0.8926	75.14	74.60	0.92	1.06
5	a ₀ b ₂ C ₀	0.30	0.33	6.12	6.13	14.88	15.00	1.0054	0.9967	71.53	72.09	0.84	1.04
6	a ₀ b ₂ C ₁	0.26	0.32	6.22	6.25	16.35	17.22	1.0069	1.0034	73.08	73.32	1.08	1.05
7	a ₁ b ₀ C ₀	0.36	0.35	5.97	5.99	19.24	18.54	0.9001	1.0032	74.42	74.43	0.88	0.65
8	a ₁ b ₀ C ₁	0.36	0.35	5.93	5.94	21.29	19.99	0.8995	0.9281	72.50	73.32	0.78	1.00
9	a ₁ b ₁ C ₀	0.34	0.33	5.85	5.84	18.08	18.54	0.9210	0.9492	70.13	72.30	0.58	0.84
10	a ₁ b ₁ C ₁	0.35	0.36	5.93	5.94	16.33	17.12	0.9112	0.9231	71.09	71.32	0.70	0.94
11	a ₁ b ₂ C ₀	0.35	0.37	5.99	6.03	14.30	15.00	0.9985	1.0021	73.69	74.20	0.76	0.80
12	a ₁ b ₂ C ₁	0.35	0.35	5.80	5.85	13.72	14.25	0.9874	1.0002	69.08	71.20	1.30	1.04

Elaborado por: Mera, C. 2015

ANEXO 2. VALORES PROMEDIOS DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

N°	Tratamientos	Aerobios		Mohos y Levaduras	
		R1	R2	R1	R2
1	a ₀ b ₀ C ₀	4,8x10 ⁵	4,9x10 ⁵	0	0
2	a ₀ b ₀ C ₁	4,1x10 ⁵	4,5x10 ⁵	0	0
3	a ₀ b ₁ C ₀	3,8x10 ⁵	3,7x10 ⁵	0	0
4	a ₀ b ₁ C ₁	3,6x10 ⁵	3,5x10 ⁵	0	0
5	a ₀ b ₂ C ₀	3,3x10 ⁵	3,5x10 ⁵	0	0
6	a ₀ b ₂ C ₁	3,5x10 ⁵	3,3x10 ⁵	0	0
7	a ₁ b ₀ C ₀	4,3x10 ⁵	4,4x10 ⁵	0	0
8	a ₁ b ₀ C ₁	4,1x10 ⁵	4,0x10 ⁵	0	0
9	a ₁ b ₁ C ₀	3,5x10 ⁵	3,6x10 ⁵	0	0
10	a ₁ b ₁ C ₁	3,3x10 ⁵	3,5x10 ⁵	0	0
11	a ₁ b ₂ C ₀	3,3x10 ⁵	3,3x10 ⁵	0	0
12	a ₁ b ₂ C ₁	3,2x10 ⁵	3,0x10 ⁵	0	0

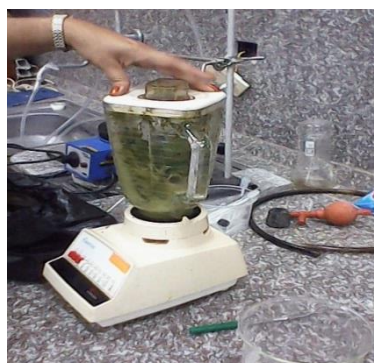
Elaborado por: Mera, C. 2015

ANEXO 3. FOTOS DE LA FASE EXPERIMENTAL

Extracción del Aceite Esencial de Orégano por Hidrodestilación



Pesado



Licuado



Hidrodestilado



Evaporado



Residuo

Preparación de muestras



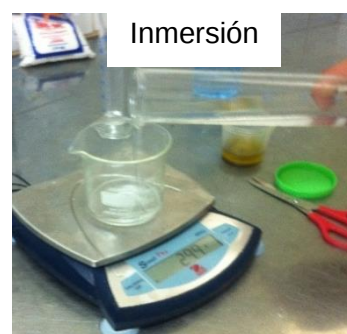
Pesado

Aceite esencial de orégano



Homogenizado

Glicerol



Inmersión

Agua destilada



Determinación de Acidez



Muestra y reactivos



Titulación



Muestra titulada

Determinación de pH



Potenciómetro



Lectura del pH



Toma de resultados

Determinación de Proteína



Tubos de destilación



Ácido Sulfúrico



Unidad digestora



Unidad de destilación



Titulación



Indicador Kjeldahl

Determinación de Grasa



Aparato Golfish



Muestras



Resultados

Determinación de Humedad



Pesado



Muestras en crisoles



Muestras en la estufa

Determinación de Ceniza



Pesado



Muestras en la mufla



Muestras en desecador

Análisis Microbiológicos



Peptona



Aceite esencial de orégano



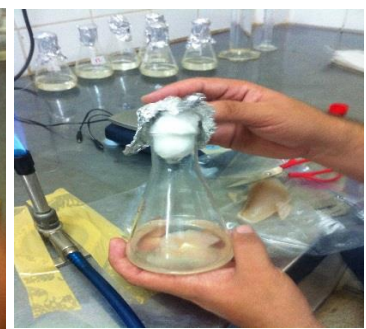
Dilución de peptona



Tubos de ensayo



Pesado de muestra



Muestra en Matraz



Siembra



Placas Petrifilm



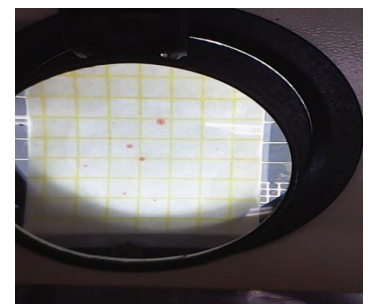
Placa sembrada



Placas para el conteo



Contador de Placas



Placa contaminada

ANEXO 4. CERTIFICACIONES DE LABORATORIOS



FARMACIA Y BIOANÁLISIS
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
MÉRIDA VENEZUELA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES IIFFB

DIRECCION

CERTIFICACIÓN

Quien suscribe, Dr. Luis Beltrán Rojas Fermin, Director del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (IIFFB) hace constar que la muestra de aceite esencial codificada como JRE5 (*Origanum vulgare*), fue analizada en el equipo Cromatógrafo de Gases acoplado a un Espectrómetro de Masas marca Hewlett Packard modelo 6890, el cual se encuentra en el laboratorio de Instrumentación 1 del IIFFB, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela.

Certificación que se hace a petición de la parte interesada a los 17 días del mes de marzo del año 2015.



Dr. Luis B. Rojas F.
Director del IIFFB



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
LABORATORIO DE BROMATOLOGIA

Dirección Km. 1 1/2 vía Sto. Domingo Teléfono: 052750320

FAX: (593-05) 752300 753-503 CASILLA Quevedo: 73

www.uteg.edu.ec

Quevedo-Los Rios-Ecuador

CERTIFICACION

Quevedo, 02 de marzo del 2015

A QUIEN CORRESPONDA:

Por medio de la presente certifico que el Sr. CESAR ROLANDO MERA MENDOZA con CI. 092840433-4 realizó los análisis de Ph, Acidez Titulable, Proteína, Humedad, Grasa, Ceniza y Análisis Microbiológico en muestras de Filete de Tilapia, correspondiente a la Tesis titulada "EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE OREGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE MICROBIANO EN LA CONSERVACION DE LA CARNE DE DOS VARIETADES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*)", en este Laboratorio, con la guía de la Ing. Lourdes Ramos, Coordinadora del Laboratorio.

Autorizo al Sr. CESAR ROLANDO MERA MENDOZA dar al presente certificado el uso que estime conveniente.

Atentamente,

Ing. Lourdes Ramos



ENCARGADA DEL LABORATORIO DE BROMATOLOGIA

ANEXO 5. PRUEBAS DE SIGNIFICACIÓN TUKEY EN STATGRAPHICS

Acidez

Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	0.290833	0.00515847	X
2	12	0.351667	0.00515847	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	-0.0608333	0.0160566

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	8	0.3175	0.00631781	X
2	8	0.3175	0.00631781	X
3	8	0.32875	0.00631781	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0	0.02418
1 - 3		-0.01125	0.02418
2 - 3		-0.01125	0.02418

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	0.32	0.00515847	X
1	12	0.3225	0.00515847	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		0.0025	0.0160566

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay

diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Replicas	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	0.3175	0.00515847	X
2	12	0.325	0.00515847	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-0.0075	0.0160566

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

pH

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	5.92167	0.00657849	X
1	12	6.16083	0.00657849	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	0.239167	0.0204767

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	8	6.0125	0.00805697	X
3	8	6.04875	0.00805697	X
2	8	6.0625	0.00805697	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-0.05	0.0308363
1 – 3	*	-0.03625	0.0308363
2 – 3		0.01375	0.0308363

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	6.03583	0.00657849	X
1	12	6.04667	0.00657849	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		0.0108333	0.0204767

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El

método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Replicas	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	6.035	0.00657849	X
2	12	6.0475	0.00657849	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		-0.0125	0.0204767

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Proteína

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	15.4475	0.156931	X
2	12	17.2	0.156931	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-1.7525	0.488475

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	8	15.09	0.192201	X
2	8	15.9513	0.192201	X
1	8	17.93	0.192201	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	1.97875	0.735605
1 – 3	*	2.84	0.735605
2 – 3	*	0.86125	0.735605

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	16.1217	0.156931	X
1	12	16.5258	0.156931	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		0.404167	0.488475

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El

método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Replicas</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	16.0925	0.156931	X
2	12	16.555	0.156931	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2		-0.4625	0.488475

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Grasa

Pruebas de Múltiple Rangos para Grasa por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	0.928108	0.00547574	X
2	12	0.951967	0.00547574	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-0.0238583	0.0175179

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Grasa por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	8	0.909488	0.00670639	X
2	8	0.91055	0.00670639	X
3	8	1.00008	0.00670639	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		-0.0010625	0.0264771
1 – 3	*	-0.0905875	0.0264771
2 – 3	*	-0.089525	0.0264771

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Grasa por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	0.935675	0.00547574	X
1	12	0.9444	0.00547574	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		0.008725	0.0175179

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El

método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Grasa por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Replicas</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	0.932008	0.00547574	X
2	12	0.948067	0.00547574	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2		-0.0160583	0.0175179

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Humedad

Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	72.3067	0.193391	X
1	12	74.34	0.193391	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	2.03333	0.601964

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	8	72.2738	0.236855	X
2	8	73.2463	0.236855	X
1	8	74.45	0.236855	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	1.20375	0.906511
1 – 3	*	2.17625	0.906511
2 – 3	*	0.9725	0.906511

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	72.695	0.193391	X
1	12	73.9517	0.193391	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	1.25667	0.601964

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la

alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Replicas</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	73.0967	0.193391	X
2	12	73.55	0.193391	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2		-0.453333	0.601964

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Cenizas

Pruebas de Múltiple Rangos para Cenizas por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	0.855833	0.0384694	X
1	12	0.966667	0.0384694	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		0.110833	0.119742

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Cenizas por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	8	0.85125	0.0471152	X
1	8	0.89375	0.0471152	X
3	8	0.98875	0.0471152	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2		0.0425	0.180323
1 – 3		-0.095	0.180323
2 – 3		-0.1375	0.180323

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Cenizas por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	0.785	0.0384694	X
2	12	1.0375	0.0384694	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-0.2525	0.119742

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la

alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Cenizas por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Replicas</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	0.860833	0.0384694	X
2	12	0.961667	0.0384694	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
1 - 2		-0.100833	0.119742

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Aerobios

Pruebas de Múltiple Rangos para Aerobios por Fact. A

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. A	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	363750.	3507.05	X
1	12	388889.	3507.05	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	25138.8	10916.3

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Aerobios por Fact. B

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. B	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	8	331458.	4295.25	X
2	8	357500.	4295.25	X
1	8	440000.	4295.25	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	82500.0	16439.1
1 – 3	*	108542.	16439.1
2 – 3	*	26041.6	16439.1

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Aerobios por Fact. C

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Fact. C	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	12	364583.	3507.05	X
1	12	388055.	3507.05	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	23472.2	10916.3

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. Se ha colocado un asterisco junto a 1 par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la

alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Pruebas de Múltiple Rangos para Aerobios por Replicas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Replicas	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	12	375139.	3507.05	X
2	12	377500.	3507.05	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
1 - 2		-2361.17	10916.3

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

ANEXO 6. NORMAS INEN



Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 183:2013

Primera revisión

PESCADO FRESCO REFRIGERADO O CONGELADO REQUISITOS

Primera edición

FISH FRESH CHILLED OR FROZEN. REQUIREMENTS

First edition

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, pesca y productos de la pesca.
AL 03.03-401
CDD: 664.94-664.028.8
CIIU: 3114
ICS: 67.120.30

Norma Técnica
Ecuatoriana
Voluntaria

PESCADO FRESCO REFRIGERADO O CONGELADO REQUISITOS

NTE INEN
183:2013
Primera revisión
2013-01

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el pescado fresco refrigerado o congelado, que se presenta para el consumo directo.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica al pescado fresco refrigerado o congelado eviscerado o no eviscerado y a los filetes de pescado.

2.2 Esta norma no se aplica a los productos provenientes de la producción acuícola.

3. DEFINICIONES

3.1 Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 *Pescado fresco refrigerado.* Pescado apto para el consumo humano, con o sin la cabeza, que no ha recibido ningún tratamiento de conservación fuera del enfriamiento.

3.1.2 *Pescado congelado.* Pescado apto para el consumo humano, con o sin la cabeza, al que pueden haberse quitado completa o parcialmente las vísceras u otros órganos, sometido a congelación.

3.1.3 *Filetes de pescado congelado.* Son lonjas de pescado de la misma especie, apto para el consumo humano, de tamaños y formas irregulares que se separan del cuerpo del pescado mediante cortes paralelos a la espina dorsal, así como los trozos en que se cortan dichas lonjas para facilitar el envasado, sometidos a congelación.

3.1.4 *Glaseado.* Capa protectora delgada de hielo de agua potable o de mar limpia, que recubre la superficie del producto dándole un aspecto brillante.

3.1.5 *Agua de mar limpia.* Es el agua de mar tratada que cumple los mismos criterios microbiológicos que se aplican al agua potable.

4. DISPOSICIONES GENERALES

4.1 Los productos contemplados por las disposiciones de la presente norma se deben preparar y manipular de conformidad con lo establecido en el Reglamento de Buenas Prácticas de Manufactura para alimentos procesados del Ministerio de Salud y con los Requisitos sanitarios mínimos que deben cumplir las Industrias pesqueras y acuícolas.

4.2 El producto debe prepararse con pescados sanos y deben manipularse desde la captura en condiciones sanitarias apropiadas, libres de arena o de otra materia extraña.

4.3 El proceso de congelación debe realizarse en un equipo apropiado, de manera que atraviese rápidamente el intervalo de temperaturas de cristalización máxima. El proceso de congelación no se considerará completo hasta que el producto alcance una temperatura de -18 °C o inferior en el centro térmico, una vez estabilizada la temperatura.

4.4 Los filetes pueden declararse como "filetes sin espinas", siempre y cuando se hayan quitado todas las espinas, incluidas las espinas costales.

(Continúa)

4.5 Se recomienda que el producto al que se aplican las disposiciones de la presente norma, se prepare y manipule en conformidad con las secciones apropiadas del Código Internacional de Prácticas - Principios Generales de Higiene de los Alimentos (CAC/RCP 1-1969) y los siguientes códigos afines:

4.5.1 CAC/RCP 8-1976. Código de Prácticas para la Elaboración y Manipulación de Alimentos Congelados Rápidamente

4.6.2 CAC/RCP 52-2003 Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros.

5. REQUISITOS

5.1 Requisitos específicos

5.1.1 El olor, color y sabor deben ser los característicos de la especie. No se permiten olores o sabores objetables persistentes e inconfundibles que sean signo de descomposición.

5.1.2 Los pescados frescos refrigerados o congelados, ensayados de acuerdo a las normas ecuatorianas correspondientes, deben cumplir con los requisitos establecidos en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos físico químicos para el pescado fresco refrigerado o congelado

Requisito	min.	máx.	Método de ensayo
Nitrógeno básico volátil (expresado como total) mg/100g	-	30	NTE INEN 182
Histamina ¹⁾ mg/100g	-	5	Determinación por método HPLC
¹⁾ Esta disposición se aplica únicamente a las especies pertenecientes a las familias Clupeidae, Scombridae, Scombroideae, Pomatomidae y Coryphaenidae.			

5.1.3 Requisitos microbiológicos

5.1.3.1 Los productos deben estar exentos de microorganismos patógenos y sustancias tóxicas producidas por estos, que puedan ocasionar un peligro para la salud.

5.1.3.2 Los productos deben cumplir con lo indicado en la tabla 2.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos para los pescados frescos refrigerados o congelados

Requisito	n	m	M	c	Método de ensayo
Recuento de microorganismos mesófilos, ufc/g	5	5×10^5	10×10^5	3	AOAC 990.12
<i>E. coli</i> ufc/g	5	10	500	3	AOAC 998.08
<i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, ufc/g	5	100	1000	2	AOAC 2003.11
<i>Salmonella</i> /25g	5	no detectado	-	0	NTE INEN 1529-15
<i>Vibrio cholerae</i> /25 g	5	no detectado	-	0	ISO/TS 21872-1
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> /25 g	5	no detectado	-	0	ISO/TS 21872-1

donde:

n: Número de muestras a examinar.

m: Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad.

M: Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad.

c: Número de muestras permisibles con resultados entre m y M.

(Continúa)

5.1.6 Aditivos

5.1.6.1 Se permite el uso de los aditivos enlistados en la NTE INEN 2074.

5.1.7 Contaminantes

5.1.7.1 El límite máximo de contaminantes no debe superar lo establecido en la tabla 3.

Tabla 3. Límite máximo de contaminantes

REQUISITOS	LÍMITE MÁXIMO Mg/kg	MÉTODO DE ENSAYO
Mercurio, como Hg	0,5	AOAC 974.14
Plomo, como Pb	0,3	AOAC 999.10
Cadmio, como Cd con exclusión de las especies enlistadas en la nota 1 para las que el valor es 0,10; para la melva (<i>Auxis species</i>) 0,20 y para la anchoa (<i>Engraulis species</i>), pez espada (<i>Xiphias gladius</i>) 0,30	0,05	AOAC 999.10
NOTA 1: Carne de los siguientes pescados: bonito (<i>Sarda sarda</i>) mojama (<i>Diplodus vulgaris</i>) anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) lisa (<i>Chelon labrosus</i>) jurel (<i>Trachurus species</i>) emperador (<i>Luvarus imperialis</i>) caballa (<i>Scomber species</i>) sardina (<i>Sardina pilchardus</i>) sardina (<i>Sardinops species</i>) atún (<i>Thunnus species</i> , <i>Euthynnus species</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i>) acedía o lenguadillo (<i>Dicologlossa cuneata</i>)		

5.2 Requisitos complementarios

5.2.1 Las unidades de comercialización de estos productos deben cumplir con lo dispuesto en la Ley del Sistema Ecuatoriano de la Calidad.

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo. El muestreo debe realizarse de acuerdo con las Directrices generales sobre muestreo CAC/GL 50-2004.

6.2 Criterios de aceptación o rechazo

6.2.1 Se acepta el producto, si cumple con los requisitos establecidos en esta norma, caso contrario se rechaza.

7. ENVASADO Y EMBALADO

7.1 Los pescados frescos refrigerados o congelados se deben procesar y envasar de manera que la deshidratación y la oxidación sean mínimas.

7.2 El material del envase debe ser resistente a la acción del producto, de manera que no altere su composición y su calidad organoléptica.

7.3 El envasado y el embalaje deben hacerse en condiciones que permitan mantener las características del producto y aseguren su inocuidad durante el almacenamiento, transporte y expendio.

7.4 El producto se mantendrá en refrigeración (0 °C a 4 °C) o congelación (-18 °C) de modo que mantenga su calidad durante el transporte, el almacenamiento y la distribución.

(Continúa)

8. ROTULADO

- 8.1 El rotulado de estos productos debe cumplir con lo establecido en el RTE INEN 022.
- 8.2 Cuando el producto esté glaseado con agua de mar, debe indicarse explícitamente.
- 8.3 En el caso del pescado eviscerado, la etiqueta indicará que el pescado está eviscerado y si se presenta con o sin cabeza.
- 8.5 Se indicará en la etiqueta claramente la manera de conservar el producto para mantener las condiciones de calidad durante el transporte, el almacenamiento y la distribución.
- 8.6 En la etiqueta se debe declarar si el producto es de pesca o acuicultura.
- 8.7 En el caso de las especies *Lepidocybium flavobrunneum* or *Ruvettus pretiosus* debe declararse: "contiene aceite que puede ocasionar efectos purgativos".

APÉNDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 182	Conservas envasadas de pescado. Determinación de nitrógeno básico volátil.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-15	Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2074	Aditivos alimentarios permitidos para consumo humano. Listas positivas. Requisitos
Norma ISO/TS 21872-1	Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic <i>Vibrio</i> spp. – Part 1: Detection of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> and <i>Vibrio cholerae</i> .
AOAC Official method 974.14	Mercury in Fish. Alternative Digestion Method.
AOAC Official method 990.12	Aerobic plate count in foods. Dry rehydratable film.
AOAC Official method 998.08	Confirmed <i>Escherichia coli</i> counts in poultry meats and sea foods. Dry rehydratable film method.
AOAC Official method 999.10	Lead, Cadmium, Copper and Iron in Foods Atomic Absorption Spectrophotometry after microwave digestion
AOAC Official method 2003.11	Enumerations of <i>Staphylococcus aureus</i> in selected meat, sea food and poultry petrifilm staph express count plate method.
Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022	Rotulado de productos alimenticios procesados, envasados y empacados.
Reglamento de Buenas prácticas de Manufactura para alimentos procesados. Decreto Ejecutivo 3253. R. Of. 690 de 4 de noviembre 2002	
Acuerdo 241 Requisitos sanitarios mínimos que deben cumplir las Industrias pesqueras y acuícolas, publicado en el Registro Oficial No. 228 del 5 de julio de 2010.	
Ley 2007-76 del Sistema Ecuatoriano de la Calidad, publicada en Registro Oficial. No. 26 del 22 de febrero de 2007.	
Instituto Nacional de Pesca. Plan Nacional de Control, para el ofrecimiento de garantías oficiales respecto a la exportación de productos pesqueros y acuícolas de la República del Ecuador a la Unión Europea. Septiembre 6 de 2006.	
CAC/RCP 1-1969 Código Internacional de Prácticas Recomendado - Principios Generales de Higiene de los Alimentos.	
CAC/RCP 8-1976 Código de Prácticas para la Elaboración y Manipulación de Alimentos Congelados Rápidamente.	
CAC/GL 50-2004 Directrices Generales Sobre Muestreo	
CAC/RCP 52-2003 Código de prácticas para el pescado y los productos pesqueros	

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma del Codex para Pescados no eviscerados y eviscerados congelados rápidamente CODEX STAN 36-1981. Revisión 1-1995.	
Norma del Codex para Filetes de pescado congelados rápidamente CODEX STAN 190-1995.	
Reglamento (CE) No. 2073/2005 de la comisión del 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.	
Instituto Nacional de Pesca. Plan Nacional de Control, para el ofrecimiento de garantías oficiales respecto a la exportación de productos pesqueros y acuícolas de la República del Ecuador a la Unión Europea. Septiembre 6 de 2006.	
Department Of Health And Human Services Public Health Service Food And Drug Administration Center For Food Safety And Applied Nutrition Office Of Food Safety Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance Fourth Edition – April 2011.	

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 183 Primera revisión	TÍTULO: PESCADO FRESCO REFRIGERADO O CONGELADO. REQUISITOS	Código: AL03.03-401
---	--	-------------------------------

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior del Consejo Directivo 1975-04-29 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo Ministerial No 785 de 1975-06-06 publicado en el Registro Oficial No. 861 de 1975-08-06 Fecha de iniciación del estudio: 2012-04
--	--

Fechas de consulta pública: de 2012-04-13 a 2012-04-28

Subcomité Técnico: PESCADO Y PRODUCTOS PESQUEROS

Fecha de iniciación: 2012-05-02 y 2012-05-03

Fecha de aprobación: 2012-05-02 y 2012-05-03

Integrantes del Subcomité Técnico:

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

2012-05-02

Ing. Fernanda Hurtado (Presidenta)
Ing. Yahir Piedrahíta
Ing. Daniel Núñez
Ing. Marcela Rendón
Ing. Félix Martínez
Dra. Ana Cristina Araujo
Ing. Anita Moreira
Eco. Mónica Maldonado
Dra. Nancy Llanga

INSTITUTO NACIONAL DE PESCA
INSTITUTO NACIONAL DE PESCA
STARKIST-GALAPESCA
INEPACA
PRONACA
MINISTERIO DE SALUD – ALIMENTOS
CONSERVA ISABEL – ECUATORIANA
CEIPA
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Guayaquil

Ing. Gladys Niza
Ing. Ingrid Muñoz
Ing. Isaías Suárez
Dr. Eduardo Vidal
Dra. Blanca Matute
Dr. Leonardo Maridueña
Ing. Nelson Bautista
Ing. Nohelia Viquez
Ing. María E. Dávalos (Secretaria)

MIPRO - LITORAL
STARKIST-GALAPESCA
MARDEX S.A.
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Azuay
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Azuay
CÁMARA DE ACUICULTURA
INEN – REGIONAL GUAYAS
INEN – REGIONAL GUAYAS
INEN – REGIONAL CHIMBORAZO

2012-05-03

Ing. Fernanda Hurtado (Presidenta)
Dr. Eduardo Solís
Ing. Daniel Núñez
Ing. Marcela Rendón
Ing. Félix Martínez
Dra. Ana Cristina Araujo
Ing. Anita Moreira
Dra. Nancy Llanga
Dra. Luisa Ponguillo
Ing. Gladys Niza
Ing. Ingrid Muñoz
Ing. Isaías Suárez
Ing. María Gracia López
Dra. Blanca Matute
Dr. Leonardo Maridueña
Ing. Nelson Bautista
Ing. Nohelia Viquez
Ing. María E. Dávalos (Secretaria)

INSTITUTO NACIONAL DE PESCA
INSTITUTO NACIONAL DE PESCA
STARKIST-GALAPESCA
INEPACA
PRONACA
MINISTERIO DE SALUD – ALIMENTOS
CONSERVA ISABEL – ECUATORIANA
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Guayaquil
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Guayaquil
MIPRO - LITORAL
STARKIST-GALAPESCA
MARDEX S.A.
CORPORACIÓN EL ROSADO
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE, Azuay
CÁMARA DE ACUICULTURA
INEN – REGIONAL GUAYAS
INEN – REGIONAL GUAYAS
INEN – REGIONAL CHIMBORAZO

Otros trámites: Esta NTE INEN 183:2013 (Primera revisión) reemplaza a la NTE INEN 183:1975

*²⁰ Esta norma sin ningún cambio en su contenido fue **DESREGULARIZADA**, pasando de **OBLIGATORIA** a **VOLUNTARIA**, según Resolución Ministerial y oficializada mediante Resolución No. 14158 de 2014-04-21, publicado en el Registro Oficial No. 239 del 2014-05-06.

La Subsecretaría de la Calidad del Ministerio de Industrias y Productividad aprobó este proyecto de norma.

Oficializada como: Obligatoria
Registro Oficial No. 868 de 2013-01-11

Por Resolución No. 12 366 del 2012-12-17

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno ES-23 y Av. 8 de Diciembre
Cajilla 17-01-3999 - Tel: (093 2) 2 501895 al 2 501891 - Fax: (093 2) 2 557515
Dirección General: E-Mail: direccion@inen.gov.ec
Área Técnica de Normalización: E-Mail: normalizacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Certificación: E-Mail: certificacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Verificación: E-Mail: verificacion@inen.gov.ec
Área Técnica de Servicios Tecnológicos: E-Mail: inasct@inen.gov.ec
Regional Guayas: E-Mail: inenguayas@inen.gov.ec
Regional Azuay: E-Mail: inencuenos@inen.gov.ec
Regional Chimborazo: E-Mail: inencobamba@inen.gov.ec
URL: www.inen.gov.ec

ANEXO 7. TÉCNICAS DE LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA

	LABORATORIO DE BROMATOLOGIA	COD.: TAC/012
	DETERMINACIÓN DE pH, ACIDEZ	REV.:
		PAG. 1/1

INTRODUCCIÓN:

El pH de la carne depende de varios factores, entre otros, la condición postmortem del animal y el tiempo posterior de almacenamiento. En el primer caso se puede presentar las condiciones de la carne PSE y la carne oscura. El pH tiene un efecto definido en la capacidad de retención de agua (CRA) y se define con la capacidad que tiene la carne para retener agua libre durante la aplicación de fuerza externas, tales como el corte, la trituración y el prensado. Muchas de las propiedades físicas de la carne como color, la textura, y la firmeza de la carne cruda, así como la jugosidad y suavidad de la carne procesada, dependen en parte de la capacidad de retención de agua.

MATERIALES:

1. Balanza
2. Potenciómetro
3. Licuadora
4. Probeta, 100 ml
5. Vaso de precipitación, 250 ml
6. Matraz erlenmeyer de 250 ml
7. Bureta graduada de 25 ml
8. Pipeta, 10 ml
9. Varilla de vidrio

REACTIVOS

10. NaOH 0.01 N
11. Fenolftaleína
12. Agua destilada

PROCEDIMIENTO

Determinación del pH

1. pesar 10g de muestra preparada
2. Añadir 100ml de agua destilada y licuar durante un minuto
3. Estandarizar el pH en el potenciómetro con solución buffer.
4. Filtrar la mezcla de la carne en un lienzo para eliminar el tejido conectivo

5. Proceder a determinar el pH del filtrado.
6. Enjuagar el electrodo con agua destilada

Determinación de la acidez

1. Pesar 10 gr de carne preparada y licuar con 50 ml de agua destilada.
2. Agregar 5 gotas de fenolftaleína y titular con solución de NaOH 0.1 N
3. Registrar el volumen consumido de la solución.

CÁLCULOS

Los resultados se expresan en porcentaje de acidez en función del ácido láctico y se calculan empleando la siguiente expresión:

$$\text{Acidez(\%)} = \frac{a \times N \times \text{meq}}{b} \times 100$$

Donde:

a: volumen en mL consumido de solución de NaOH 0.1 N.

N: normalidad de la solución de NaOH.

meq: masa molar expresada en g/mmol. Para el ácido láctico, meq= 0.090 g/mmol

b: masa en gramos de la muestra

	LABORATORIO DE BROMATOLOGIA	COD.: TAPB/006
--	------------------------------------	-----------------------



	TECNICA DE ANALISIS	REV.:30/09/2013
	DETERMINACION DE PROTEINA BRUTA	PAG. 1/3

1. OBJETO

Esta norma establece el método para determinar el contenido de proteína bruta por el método de Kjeldahl (Método directo), en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados

2. INSTRUMENTAL

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg
- Unidad digestora J.P. SELECTA, s.a. (Block 40 plazas-Digest).
- Sorbona o colector/extractor de humos (unidad scrubber y bomba de vacío de circulación de agua)
- Unidad de Destilación FISHER DESTILLING Unit DU 100
- Plancha de calentamiento con agitador magnético
- Micro - Tubos de destilación de 100 ml
- Matraz Erlenmeyer de 250 ml
- Gotero
- Bureta graduada y Accesorios
- Espátula
- Gradilla

3. REACTIVOS

- Ácido sulfúrico concentrado 96% (d= 1,84)
- Solución de Hidróxido de Sodio al 35%
- Solución de Acido Bórico al 2% (HBO₃)₃₃ |
- Solución de Acido Clorhídrico 0.1 N (HCl), debidamente Estandarizada
- Tabletas Catalizadoras
- Indicador Kjeldahl
- Agua destilada

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- Moler aproximadamente 100 gr. De muestra, en un micro molino que contenga un tamiz de abertura de 1 mm y que atreves de el pase un 95% del producto.
- Transferir rápidamente la muestra molida y homogenizada a un recipiente herméticamente cerrado, hasta el momento de análisis.
- Se homogeniza la muestra interviniendo varias veces el recipiente que lo contiene.

5. PROCEDIMIENTO

A. DIGESTIÓN:

- Pesar aproximadamente 0.3 gr. de muestra prepara sobre un papel exento de Nitrógeno y colocarle en el micro-tubo digestor.
- Añadir al micro-tubo una tableta catalizadora y 5 ml. de ácido sulfúrico concentrado.
- Colocar los tubos de digestión con las muestras en el block-digest con el colector de humos funcionando.
- Realizar la digestión a una temperatura de 350 a 400° C y un tiempo que puede variar entre 1 y 2 horas.
- Al finalizar, el líquido obtenido es de un color verde o azul transparente dependiendo del catalizador utilizado.
- Dejar enfriar la muestra a temperatura ambiente.
- Evitar la precipitación agitando de vez en cuando.

B. DESTILACION:

- En cada micro- tubo adicionar 15 ml. de agua destilada
- Colocar el micro-tubo y el matraz de recepción con 50 ml. de ácido Bórico al 2% en el sistema de destilación kjeltec.
- Encender el sistema y adicionar 30 ml. de hidróxido de sodio al 40%, cuidando que exista un flujo normal de agua.
- Recoger aproximadamente 200 ml. de destilado, retirar del sistema los accesorios y apagar.

C. TITULACIÓN:

- Del destilado recogido en el matriz colocar tres gotas de indicador.
- Titular con acido clorhídrico 0.1 N utilizando un agitador mecánico.
- Registrar el volumen de acido consumido.

6. CÁLCULOS:

El contenido de proteínas bruta en los alimentos se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\%PB = \frac{(V_{HCl} - V_b) * 1.401 * N_{HCl} * F}{g. muestra}$$

SIENDO:

1.401= Peso atómico del nitrógeno

NHCl= Normalidad de Ácido Clorhídrico 0.1 N

F = Factor de conversión (6.25)

VHCl = Volumen del ácido clorhídrico consumido en la titulación

Vb = Volumen del Blanco (0.3)



LABORATORIO DE BROMATOLOGIA

COD.: TAC/004

REV.:

	TECNICA DE ANALISIS DETERMINACION DE GRASA	
		PAG. 1/1

1. OBJETO

Esta norma establece el método para determinar el contenido de Grasa o Extracto Etereo en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados

2. INSTRUMENTAL

- Vasos Beacker para grasa
- Aparato Golfish
- Dedales de Extracción
- Portadedales
- Vasos para recuperación del solvente
- Balanza analítica
- Estufa (105°C)
- Desecador
- Espátula
- Pinza Universal
- Algodón Liofilizado e Hidrolizados

3. REACTIVOS

- Éter de Petróleo

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 4.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.
- 4.2 La cantidad de la muestra extraída dentro de un lote debe ser representativa y no debe exponerse al aire mucho tiempo.
- 4.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que lo contiene.

5. PROCEDIMIENTO:

- 5.1 La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.
- 5.2 Secar los vasos beakers en la estufa a $100^0 \pm C$, por el tiempo de una hora. Transferir al desecador y pesar con aproximación al 0,1 mg, cuando haya alcanzado la temperatura ambiente.

- 5.3 Pesar aproximadamente 1 gr. de muestra sobre un papel filtro y colocarlos en el interior del dedal, taponar con suficiente algodón hidrófilo, luego introducirlo en el portadedal.
- 5.4 Colocar el dedal y su contenido en el vaso beaker, llevar a los ganchos metálicos del aparato de golfish.
- 5.5 Adicionar en el vaso beaker 40 ml. de solvente, al mismo tiempo abrir el reflujo de agua.
- 5.6 Colocar el anillo en el vaso y llevar a la hornilla del aparato golfish, ajustar al tubo refrigerante del extractor. Levantar las hornillas y graduar la temperatura a 5.5 (55°C)
- 5.7 Cuando existe sobre presión abrir las válvulas de seguridad 2 o 3 veces.
- 5.8 El tiempo óptimo para la extracción de grasa es de 4 horas, mientras tanto se observa que éter no se evapore caso contrario se colocará más solvente.
- 5.9 Terminada la extracción, bajar con cuidado los calentadores, retirar momentáneamente el vaso con el anillo, sacar el portadedal con el dedal y colocar el vaso recuperar del solvente.
- 5.10 Levantar los calentadores, dejar hervir hasta que el solvente este casi todo en el vaso de recuperación, no quemar la muestra.
- 5.11 Bajar los calentadores, retirar los beaker, con el residuo de la grasa, el solvente transferir al frasco original.
- 5.12 El vaso con la grasa llevar a la estufa a 105°C hasta completa evaporación del solvente por 30 minutos.
- 5.13 Colocar los vasos beaker que contiene la grasa, durante 30 min, en la estufa calentada a $100 \pm 5^\circ \text{C}$, enfriar hasta temperatura ambiente en desecador, Pesar y registrar.

6. Calcular el extracto etéreo por diferencia de pesos.

$$G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

G = Porcentaje de grasa

W₀= Peso de la muestra

W₁= Peso del vaso beaker vacío

W₂=Peso del vaso más la grasa

	LABORATORIO DE BROMATOLOGIA	COD.: TAH/002
		REV.:

1.

	TECNICA DE ANALISIS DETERMINACION DE HUMEDAD O PERDIDA POR CALENTAMIENTO	
		PAG. 1/1

Esta norma establece el método para determinar el contenido de Humedad y otras materias volátiles en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados con baja cantidad de agua.

2. INSTRUMENTAL

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, provisto de silicagel u otro deshidratante.
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinza

3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

3.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

3.2 La cantidad de muestra extraída de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire por mucho tiempo.

3.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

4. PROCEDIMIENTO

4.1 La determinación debe efectuarse por duplicado.

4.2 Calentar el crisol de porcelana durante 30 min. en la estufa, en donde va a ser colocada la muestra, dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar.

4.3 Homogenizar la muestra y pesar 2 gr. con aproximación al 0.1 mg.

4.4 Llevar a la estufa a 130° C por dos horas o 105°C por 12 horas.

4.5 Transcurrido este tiempo sacar y dejar enfriar en el desecador por media hora, pesar con precisión.

5. **CÁLCULOS:** Para la determinación de Humedad se aplicará la siguiente fórmula:

$$\% H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100 \quad \text{Donde:}$$

W_0 = Peso de la Muestra (gr.)

W_1 = Peso del crisol más la muestra después del secado.

W_2 = Peso del crisol más la muestra antes del secado

	LABORATORIO DE BROMATOLOGIA	COD.: TAC/003
	TECNICA DE ANALISIS DETERMINACION DE CENIZAS	REV.:
		PAG. 1/1

1. OBJETO

Esta norma establece el método para determinar el contenido de ceniza en diferentes tipos de muestras de origen agropecuario y productos terminados.

2. INSTRUMENTAL

- Balanza analítica, sensible al 0.1 mg.
- Mufla, con regulador de temperatura, ajustada a 600° C
- Estufa, con regulador de temperatura.
- Desecador, con silicagel u otro deshidratante.
- Crisoles de porcelana
- Espátula
- Pinza

3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

3.1 Las muestras para el ensayo deben estar acondicionadas en recipientes herméticos, limpios y secos (vidrio, plástico u otro material inoxidable), completamente llenos para evitar que se formen espacios de aire.

3.2 La cantidad de muestra extraída de un lote determinado debe ser representativa y no debe exponerse al aire por mucho tiempo.

3.3 Se homogeniza la muestra invirtiendo varias veces el recipiente que la contiene.

4. PROCEDIMIENTO

4.1 La determinación debe realizarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

4.2 Lavar cuidadosamente y secar el crisol de porcelana en la estufa ajustada a 100° C durante 30 minutos. Dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg

4.3 Sobre el crisol pesar con aproximación al 0.1 mg, aproximadamente 2 g de muestra.

4.4 Colocar el crisol con su contenido cerca de la puerta de la mufla abierta y mantenerlo allí durante unos pocos minutos, para evitar pérdidas por proyección de material que podrían ocurrir si el crisol se introduce directamente en la mufla.

4.5 Introducir el crisol en la mufla a 600° ± 2° C hasta obtener cenizas libres de partículas de carbón (esto se obtiene al cabo de 3 horas).

4.6 Sacar el crisol con las cenizas, dejar enfriar en el desecador y pesar con aproximación al 0.1 mg.

5. CÁLCULOS

$$C = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

W_0 = Peso de la Muestra (gr.)

W_1 = Peso del crisol vacío.

W_2 = Peso del crisol más la muestra calcinada.

	LABORATORIO DE BROMATOLOGIA	COD.: TAHI/001
	TECNICA DE ANALISIS MICROBIOLOGICOS	REV.:
		PAG. 1/1

1. Análisis microbiológico.

Los análisis microbiológicos se los realizarán mediante las técnicas petrifilm de 3M.

Almacenamiento de los sobres petrifilm

- Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$. Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos.

Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

- Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.
- Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura $\leq 25^{\circ}\text{C}$. No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

Preparación de la muestra

- Prepare una dilución de 1:10 de la muestra. Pasar o pipetear la muestra a un matraz erlenmeyer esteril.
- Adicione la cantidad apropiada de agua de peptona al 0.1 %.

1.1. Recuento de Coliformes totales.

Inoculación:

- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.
- Con una pipeta coloque 1 ml. de la muestra en el centro de la película inferior.
- Baje con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.
- Con el lado liso hacia abajo, coloque el dispersor en la película superior sobre el inóculo.
- Presione suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. No gire ni deslice el dispersor.
- Levante el dispersor. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

Incubación:

- Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la Guía de Interpretación para leer los resultados.
- Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.
- Incubar $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

1.2. Recuento Total de Hongos y Levaduras.

- Mezclar y homogenizar la muestra mediante los métodos usuales. Las muestras o diluciones no requieren ajuste de pH. Sin embargo, si este proceso ya ha sido realizado puede usar las muestras ajustadas en la Placa Petrifilm 3M.
- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.

- Con una pipeta colocar 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadriculada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la muestra.
- Sosteniendo la barra cruzada del dispersor para mohos y levaduras, colóquelo sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Presione suavemente el dispersor para distribuir la muestra. No gire ni deslice el dispersor.
- Levante el dispersor. Espere por lo menos un minuto para permitir que se solidifique el gel y proceda a la incubación.
- Incubar las placas, cara arriba en grupos de hasta 20 unidades entre 20°C y 25°C durante 3-5 días. Algunos mohos pueden crecer rápidamente, por lo que puede ser útil leer y contar las placas a los 3 días, ya que las colonias más pequeñas se verán más oscuras que los mohos ya crecidos a los 5 días. Si las placas presentan demasiado crecimiento al día 5, registre el resultado obtenido al día 3 como "estimativo".
- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificada.
- Incubar 5 días entre 21 °C y 25 °C.

1.3. Recuento de Aerobios

Inoculación:

- Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.
- Con una pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm, coloque 1 ml. de la muestra en el centro de la película cuadriculada inferior.
- Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
- Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa

- Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

Incubación

- Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Incubar $48 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ a $32^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Interpretación

- Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz. Consulte la "Guía de interpretación" para leer los resultados.
- Las colonias pueden ser aisladas para su identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

Facultad de Ciencias de la Ingeniería

Escuela de Ingeniería para el Desarrollo Agroindustrial

Teléfonos: (593-05) 2750320 – 2752430 – 2753302

Fax: (593-05) 2753300 – 2753303

e-mail: info@uteq.edu.ec

Página web: www.uteq.edu.ec

Quevedo – Los Ríos – Ecuador
Km. 1.5 vía a Quito

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

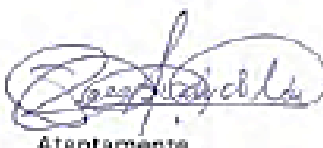
Quevedo 8 de Abril del 2015

CERTIFICACIÓN

PROF. DRA, SUNGEY SANCHEZ LLAGUNO DOCENTE INVESTIGADOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA CERTIFICA:

En calidad de Directora de la tesis de grado “EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Oreganum vulgare* L.) COMO AGENTE ANTIMICROBIANO EN LA CONSERVACIÓN DE LA CARNE DE DOS ESPECIES DE TILAPIA: NEGRA (*Oreochromis mossambicus*) Y ROJA (*Oreochromis niloticus*)”. Previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial de la autoría del Señor: CÉSAR ROLANDO MERA MENDOZA, informo que este trabajo de investigación luego de ingresado al sistema anti plagio URKUND, reportó un porcentaje del 0%, para lo cual adjunto a continuación el respectivo reporte.

URKUND	
Dokument	TESIS TILAPIA.docx (D13872086)
Inskickat	2015-04-08 17:47 (-05:00)
Inskickad av	Sungey Sanchez Llaguno (sungeysanchez@uteq.edu.ec)
Mottagare	sungeysanchez.uteq@analysis.orkund.com
Meddelande	TESIS CESAR MERA Visa hela meddelandet
	0% av det här c:a 37 sidor stora dokumentet består av text som också förekommer i 0 st källor.



Atentamente,

Sungey Naynee Sánchez Llaguno, Ph.D.

DIRECTORA DE TESIS.