



**Estudio del efecto bioconservante de distintas bacterias ácido lácticas en
productos cárnicos crudos a partir de *Arapaima gigas* (paiche).**

Gualán Pérez, Jefferson Michael y Plua Alvear, Oswaldo Enrique

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención de título de Ingeniería en Biotecnología

Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, Ph.D.

27 de Febrero de 2023

Reporte de verificación de contenido



Firma:

**Sánchez Llaguno, Sungey Naynee PhD.**

C. C. 1205348873

Director del proyecto de investigación



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Estudio del efecto bioconservante de distintas bacterias ácido lácticas en productos cárnicos crudos a partir de Arapaima gigas (paiche).”** fue realizado por los señores **Gualán Pérez, Jefferson Michael y Plua Alvear, Oswaldo Enrique** el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 febrero del 2023

Firma:



Sánchez Llaguno, Sungey Naynee PhD.

C.C 1205348873

Director del proyecto de investigación



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura
Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Nosotros, **Gualán Pérez, Jefferson Michael y Plua Alvear, Oswaldo Enrique**, con cédulas de ciudadanía N° 2350542573 y N° 1718764358, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Estudio del efecto bioconservante de distintas bacterias ácido lácticas en productos cárnicos crudos a partir de Arapaima gigas (paiche).”** es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 febrero del 2023

Firmas

.....
Gualán Pérez, Jefferson Michael
C.C.: 2350542573

.....
Plua Alvear, Oswaldo Enrique
C.C.: 1718764358



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Nosotros, **Gualán Pérez, Jefferson Michael y Plua Alvear, Oswaldo Enrique**, con cédulas de ciudadanía N° 2350542573 y N° 1718764358, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Estudio del efecto bioconservante de distintas bacterias ácido lácticas en productos cárnicos crudos a partir de Arapaima gigas (paiche).”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 febrero del 2023

Firmas

.....
Gualán, Pérez Jefferson Michael
C.C.: 2350542573

.....
Plua Alvear, Oswaldo Enrique
C.C.: 1718764358

Agradecimientos

A mi madre Ana Alvear Betancourt, quien con sacrificio y valentía me ha acompañado y ayudado a seguir adelante en toda mi carrera universitaria para lograr obtener mi título profesional. Por enseñarme los valores de la constancia, esfuerzo y responsabilidad para seguir adelante.

A Génesis Tigreiro Bravo, quien es parte importante en mi vida, por sus consejos, por estar conmigo desde el día uno que empecé este largo camino y por todo lo bueno que me ha brindado.

A mis amigos que conocí en la universidad y han sido parte importante en mi vida, Mateo, Sebastián, Fabian, Angie, Edwin, Diana. Por enseñarme el valor de la amistad y acompañarnos en todo este proceso universitario, pero sobre todo por estar cuando los he necesitado.

A Jefferson, mi compañero de tesis, quien en el poco tiempo que llevamos siendo amigos me ha demostrado como seguir adelante y se ha convertido en un pilar importante en mi vida.

A mi tutora Sungey Sánchez y Jhoan por apoyarnos y ser de guía en este proyecto, sin ellos esta investigación hubiese sido más complicada.

Oswaldo Enrique Plua Alvear

Dedicatoria

*El presente proyecto de investigación me lo dedico a mí,
por todas las veces en que pensé desistir y por tener a las
personas adecuadas a mi lado quienes en mí confiaron,
pude terminar este proceso.*

Agradecimientos

Quiero extender mis palabras de agradecimiento a cada uno de los docentes por impartirme sus enseñanzas y anécdotas que han ayudado a mi formación profesional.

Al Laboratorio “AGROBIOTECH ECUADOR” - Quito, por abrirme las puertas de su establecimiento y brindarme una de las experiencias más gratas de mi vida. Así también quiero reconocer la paciencia, esfuerzo y dedicación que inculcaron la Laboratorista Maria Alexandra Castillo Davalos y el encargado del Invernadero Guillermo Velasco Vilaña.

Al Laboratorio Clínico “Centinela del Sur” – Santo Domingo y cada uno de sus integrantes, por darme una experiencia inolvidable al vivir mi primera práctica preprofesional.

A mis amigos Elvis, Génesis, Katherine, Majo, Erika, Sebastian, Edwin, Angie, Fabian, Littsay, Diana y conocidos que transitaron junto a mí en la Facultad por acompañarme en esta hermosa aventura de mi vida, llena de anécdotas, emociones y recuerdos que nunca olvidare.

A mi tutora Sungey Sánchez y al laboratorista Jhoan Plua por ayudarnos con sus conocimientos, materiales y equipos de laboratorio necesarios para la elaboración de este escrito.

A mi compañero tesis, Oswaldo quien hizo que el desarrollo de este trabajo sea muy ameno, con muchas anécdotas y sobre todo risas, muchas gracias, amigo.

Jefferson Michael Gualán Pérez

Dedicatoria

El presente trabajo de titulación se lo dedico con mucho cariño a mis padres Santos Gualán y Marilú Pérez, gracias por conceder los recursos económicos y afectivos para poder terminar mi carrera universitaria.

Así también quiero dedicar este escrito a mis dos hermanos Adriel y Hugo, quienes sin duda fueron una razón gigante para dar lo mejor de mí en cada momento de mi vida universitaria.

Jefferson Michael Gualán Pérez

Índice de contenido

Carátula.....	1
Reporte de verificación de contenido	2
Certificación	3
Responsabilidad de Autoría	4
Autorización de Publicación.....	5
Agradecimientos	6
Dedicatoria.....	7
Agradecimientos	8
Dedicatoria.....	9
Índice de tablas	14
Índice de figuras	16
Resumen	17
Abstract.....	18
Capítulo I.....	19
Introducción.....	19
Objetivo	21
Objetivo General	21
Objetivos específicos	21
Hipótesis	22
Hipótesis para factor A (Pescado crudo de paiche).....	22
Hipótesis para factor B (Concentración del bioconservante)	22
Hipótesis para factor C (Bacterias)	22
Capitulo II.....	23
Revisión Literaria.....	23
Paiche (Arapaima gigas).....	23
Identificación y distribución natural	23
Ecología.....	24
Taxonomía.....	24
Rasgos de vida	26
Contenido nutricional de la carne de paiche	27
Bacterias Ácido Lácticas (BAL).....	28

Características generales	29
Clasificación.....	31
Lactobacillus plantarum.....	32
Lactococcus lactis Generalidades	34
Leuconostoc mesenteroides	35
Bacteriocinas.....	37
Aplicación de bacteriocinas en alimentos.....	37
Capitulo III.....	38
Metodología.....	38
Materiales.....	40
Determinación de pH.....	40
Determinación de acidez titularle	40
Determinación de humedad	41
Determinación de cenizas.....	41
Determinación de grasa.....	42
Determinación de proteína.....	42
Enriquecimiento selectivo para de las bacterias ácido lácticas.....	43
Bioconservación de productos cárnicos crudos	44
Preparación de la mojama de paiche	44
Preparación de la carne de hamburguesa de paiche.....	45
Recuento de poblaciones microbianas	45
Métodos.....	46
Obtención de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL).....	46
Bioconservación del paiche.....	46
Preparación de la solución bacteriana.....	46
Preparación de las muestras	47
Mojama de Paiche.....	47
Carne de hamburguesa de paiche.....	47
Diseño Experimental.....	48
Factores de estudio y niveles de experimento.....	48
Comparación de tratamientos.....	49
Tipo de diseño experimental.....	49
Repeticiones	50
Análisis estadístico	50
Análisis funcional.....	51

Variables evaluadas	51
Determinación de pH.....	51
Determinación de acidez titulable.....	51
Determinación de humedad	52
Determinación de grasa	53
Determinación de proteína	54
Recuento microbiano en placas Petrifilm™	55
Capitulo IV.....	57
Resultados.....	57
Análisis de varianza de análisis fisicoquímicos.....	57
Análisis de Varianza para Grasa.....	57
Análisis de Varianza para Cenizas	58
Análisis de Varianza para Humedad	58
Pruebas de significación	62
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos (Factor A: Producto cárnico crudo a partir de paiche)	62
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos Factor B (Tipo de bacteria ácido láctica).....	64
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos Factor C (Concentraciones).....	65
Prueba de significancia de (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos de la (Interacción ABC: Concentración * Tipo de producto * Tipo de bacteria ácido lácticas)	68
Análisis microbiológico	72
Recuento de microorganismos aerobios	74
Recuento de mohos y levaduras	75
Análisis de conglomerados	76
Análisis de componentes principales	77
Capitulo V.....	80
Discusión.....	80
Respecto a los tipos de producto mojama y hamburguesa (Factor A).....	81
Respecto a los tipos de bacteria <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> y <i>Lactobacillus Plantarum</i> (Factor B)	82
Respecto a las concentraciones 5×10^7 UFC/ml y 3×10^7 UFC/ml (Factor C)	83
Respecto a la interacción A*B*C (Tipos de productos* Concentraciones* Tipo de bacteria).....	84
Capitulo VI.....	86
Conclusiones	86

Respecto a los tipos de producto C. hamburguesa y Mojama (Factor A).....	86
Respecto a los tipos de <i>bacteria Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroides y Lactobacillus plantarum</i> (Factor B)	87
Respecto a la interacción A*B*C (Tipos de productos* Concentraciones* Tipo de bacteria).....	88
Recomendaciones	89
Capitulo VII.....	90
Bibliografía	90

Índice de tablas

Tabla 1.	Clasificación taxonómica del pez paiche	25
Tabla 2.	Composición química del paiche	26
Tabla 3.	Clasificación taxonómica <i>L. plantarum</i>	33
Tabla 4.	Clasificación taxonómica <i>L. lactis</i>	35
Tabla 5.	Clasificación taxonómica	36
Tabla 6.	Recursos necesarios para la determinación de pH de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.	40
Tabla 7.	Recursos necesarios para la determinación de acidez de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.	40
Tabla 8.	Recursos necesarios para la determinación de humedad de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.	41
Tabla 9.	Recursos necesarios para la determinación de ceniza de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.	41
Tabla 10.	Recursos necesarios para la determinación de grasa de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.	42
Tabla 11.	Recursos necesarios para la determinación de grasa de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche	42
Tabla 12.	Recursos necesarios para el enriquecimiento selectivo de las bacterias ácido lácticas.	43
Tabla 13.	Recursos necesarios para la elaboración del bioconservante de productos cárnicos crudos.	44
Tabla 14.	Recursos necesarios para la preparación de mojama de paiche	44
Tabla 15.	Recursos necesarios para la preparación de hamburguesa de paiche	45
Tabla 16.	Recursos necesarios para el recuento de poblaciones microbianas	45
Tabla 17. .	Factores y niveles a probar en el estudio de la bioconservación de dos técnicas de carne cruda del paiche, con tres bacterias diferentes y distintas concentraciones de la solución bacteriana.	48

Tabla 18.Tratamientos a comparar en el estudio de la bioconservación de dos técnicas de carne cruda del paiche, con tres bacterias diferentes y distintas concentraciones de la solución bacteriana.	49
Tabla 19. Esquema de análisis de varianza (ANOVA) para el estudio de la bioconservación de dos técnicas de carne cruda del paiche, con tres bacterias diferentes y distintas concentraciones de la solución bacteriana.	50
Tabla 20. Análisis de varianza para grasa después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.	57
Tabla 21. Análisis de varianza para cenizas después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.	58
Tabla 22. Análisis de varianza para humedad después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.	58
Tabla 23. Análisis de varianza para acidez después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.	59
Tabla 24. ... Análisis de varianza para pH después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.	60
Tabla 25. Análisis de varianza para proteína después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.	61
Tabla 26. Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos (Factor A)	62
Tabla 27. Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos para el Factor B (Tipo de bacteria ácido lácticas).....	64
Tabla 28. Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos (Factor C)	66
Tabla 29. .. Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos de la (Interacción ABC).....	68
Tabla 30. Recuento de microorganismos aerobios en los tratamientos a los días 15 para la mojama y a los días 7 para la carne de hamburguesa.....	74
Tabla 31. . Recuento de mohos y levaduras en los tratamientos a los días 15 para la mojama y a los días 7 para la carne de hamburguesa.....	75
Tabla 32. Matriz de correlaciones de los componentes principales evaluados.	77
Tabla 33. Porcentajes de la varianza total explicada	78

Índice de figuras

Figura 1.	Pez Paiche (<i>Arapaima gigas</i>)	23
Figura 2.	Morfología del pez paiche	25
Figura 3.	Corte diagonal de lomo de paiche	27
Figura 4.	Químico e investigador Louis Pasteur	28
Figura 5.	<i>Lactobacillus plantarum</i> visto bajo el microscopio	33
Figura 6.	<i>Lactococcus lactis</i> visto bajo el microscopio	34
Figura 7.	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> visto bajo el microscopio	36
Figura 8.	Ubicación geográfica dónde se desarrolló la investigación	39
Figura 9.	Prueba de significación de Tukey para los productos cárnicos crudos a partir de paiche (Factor A)	62
Figura 10.	Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos para el (Factor B)	64
Figura 11.	Prueba de significación de Tukey para la concentración de la solución bacteriana (Factor C)	66
Figura 12.	Prueba de significación de Tukey para Concentración*Tipo de producto*Tipo de bacterias ácido lácticas (Interacción A*B*C).	69
Figura 13.	Dendograma para los factores de estudio.	76
Figura 14.	Gráfico de sedimentación de los componentes principales	78
Figura 15.	Gráfico de componentes en espacio rotado mediante Kaiser-varimax	79

Resumen

El presente estudio tuvo la finalidad de estudiar el efecto bioconservante de distintas bacterias lácticas en productos cárnicos crudos, siendo esta una propuesta innovadora muy importante al extender la vida útil de productos cárnicos de paiche (*Arapaima gigas*) y evitar de una manera natural enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). La investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Sede Santo Domingo. Las bacterias probióticas se recibieron por parte de la Universidad en estudios anteriores. Los productos cárnicos elaborados a partir de la especie *Arapaima gigas* fueron la mojama y la carne de hamburguesa. La solución bacteria se preparó con caldo MRS y suspendiendo las bacterias en un buffer de ácido cítrico/citrato de sodio y las concentraciones se prepararon en función de la densidad óptica. El diseño experimental se basó en un modelo trifactorial (Tipos de producto: mojama y carne de hamburguesa; Tipos de bacteria: *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Leuconostoc mesenteroides*; Concentraciones: 3×10^7 UFC/ml y 5×10^7 UFC/ml en un diseño de bloques completamente al azar con 12 tratamientos y 3 repeticiones. Las variables de respuesta del modelo fueron pH, acidez, humedad, cenizas, grasa y proteína, para los grupos de significancia se aplicó una prueba de Tukey ($p < 0,05$). Los resultados de los análisis fisicoquímicos de: pH, acidez, humedad, ceniza, grasa y proteína y microbiológicos evaluados en el factor A, se encontró una diferencia significativa en la variable proteína, acidez, pH y grasa. En el factor B, se obtuvo diferencias significativas en las variables pH y proteína. En el factor C, se obtuvo una diferencia significativa en la variable proteína. En el caso de la interacción A*B*C, se observó una diferencia significativa en el pH, la acidez, la grasa y la proteína. Además, se evaluó el crecimiento de Levaduras y Aerobios después de 15 días para mojama y luego de 7 días para hamburguesa, obteniendo un mayor crecimiento en los tratamientos (a0b1c1) Mojama + L. C. Lactis + 5×10^7 UFC/ml con un valor de 5×10^7 UFC/ml y (a1b2c0) C. hamburguesa + L. Mesenteroides + 3×10^7 UFC/ml con un valor de $3,8 \times 10^4$ UFC/m

Palabras clave: biconservante, paiche, mojama, bacteria ácido lácticas.

Abstract

The present study had the purpose of studying the biopreserving effect of different lactic acid bacteria in raw meat products, which is a very important innovative proposal for extending the shelf life of paiche (*Arapaima gigas*) meat products and preventing foodborne diseases (FBD) in a natural way. The research was carried out in the laboratories of the Universidad de Las Fuerzas Armadas ESPE Santo Domingo. The probiotic bacteria were received from the University in previous studies. The meat products prepared from the *Arapaima gigas* species were mojama and hamburger meat. The bacterial solution was prepared with MRS broth and by suspending the bacteria in a citric acid/sodium citrate buffer and the concentrations were prepared as a function of optical density. The experimental design was based on a trifactorial model (Product types: mojama and hamburger meat; Bacteria types: *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides*; Concentrations: 3×10^7 CFU/ml and 5×10^7 CFU/ml in a completely randomized block design with 12 treatments and 3 replicates. The response variables of the model were pH, acidity, moisture, ash, fat and protein, for significance groups a Tukey test was applied ($p < 0.05$). The results of the physicochemical analysis of pH, acidity, moisture, ash, fat and protein and microbiological analyses evaluated in factor A, a significant difference was found in the protein, acidity, pH and fat variables. In factor B, significant differences were obtained in the variables pH and protein. In factor C, a significant difference was obtained in the protein variable. In the case of interaction A*B*C, a significant difference was observed in pH, acidity, fat and protein. In addition, the growth of yeasts and aerobes was evaluated after 15 days for mojama and after 7 days for hamburger, obtaining a higher growth in the treatments (a0b1c1) Mojama + *L. lactis* + 5×10^7 CFU/ml with a value of 5×10^7 CFU/ml and (a1b2c0) C. hamburger + *L. mesenteroides* + 3×10^7 CFU/ml with a value of $3,8 \times 10^4$ CFU/ml.

Keywords: biconservative, paiche, mojama, acid lactic bacteria.

Capítulo I

Introducción

El paiche o pirarucú (*Arapaima gigas*) es un pez que habita en la región amazónica de América latina, cuyo interés en los últimos años ha aumentado, gracias a sus características, múltiples grupos humanos han desarrollado la reproducción y producción de esta especie. En específico, lo que hace a esta especie tan apetecida por las masas es debido al costo elevado, por lo cual las capturas han aumentado de manera notable en los últimos años (Gonzales Molina, 2018, 19 - 20).

El pirarucú es aprovechado en diferentes países como Brasil, gracias a la autorización del gobierno local en cautiverio, mientras que en otros países como Perú, Colombia, Venezuela, Bolivia y Ecuador también se desenvuelve la producción de esta especie, debido a que cuentan con una región amazónica (Maia Luz, 2016, 9).

El presente trabajo está orientado a proteger la salud de los consumidores de compuestos químicos dañinos, por lo cual se plantea el uso de cepas bacterianas del género *Lactobacillus* que producen “bacteriocinas”, sustancias con capacidad antimicrobiana frente a bacterias que deterioran la calidad de los alimentos y patógenos contaminantes. Entre las especies BAL más destacadas en la conservación de alimentos tenemos a *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus hilgardii*, *Pediococcus damnosus* y *Leuconostoc mesenteroides* (Fouchi et al., 2021).

El creciente interés de los consumidores en la salud humana y el consumo de productos naturales ha propiciado una demanda del uso de conservantes naturales en la industria alimentaria, motivando así una intensa investigación dirigida al descubrimiento de nuevos compuestos antimicrobianos de origen natural que brindan una gran protección frente a patógenos transmitidos por los alimentos (Fouchi et al., 2021).

Durante años la utilización de aditivos químicos como nitritos y nitratos han sido utilizados para evitar la oxidación lipídica, realzar y fijar el color y el sabor de la carne. No obstante, múltiples estudios han relacionado los nitritos con procesos cancerígenos al producir nitrosaminas. Estas últimas se estima que cerca del 85% son cancerígenas, debido a su capacidad de modificar la configuración de las bases nitrogenadas del ADN en diversos sitios de la cadena originando mutaciones (transiciones y deleciones), impidiendo en múltiples casos la separación de las cadenas de ADN en la síntesis o transcripción del mismo (Burguillos Cabrol, 2015).

Objetivo

Objetivo General

Estudiar el efecto bioconservante de distintas bacterias ácido lácticas en productos cárnicos crudos a partir de *Arapaima gigas* (paiche).

Objetivos específicos

- Estudiar dos tipos de productos cárnicos crudos de *Arapaima gigas* (mojama y hamburguesa), mediante la aplicación de bacterias ácido lácticas como bioconservante.
- Evaluar el efecto bioconservante de tres bacterias ácido lácticas: *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum* y *Leuconostoc mesenteroides* en la elaboración de productos a partir de *Arapaima gigas*.
- Determinar la concentración óptima de bioconservante en la elaboración de productos elaborados de *Arapaima gigas* (mojama y hamburguesa).
- Analizar el efecto de las bacterias Ácido lácticas como bioconservantes mediante análisis microbiológicos en los productos cárnicos de *Arapaima gigas*.

Hipótesis

Hipótesis para factor A (Producto de paiche)

H0: Los productos cárnicos crudos del paiche no influyen en la bioconservación del paiche.

H1: Los productos cárnicos crudos del paiche influyen en la bioconservación del paiche.

Hipótesis para factor B (Bacterias)

H0: Las distintas bacterias ácido lácticas no influyen en la bioconservación de productos cárnicos crudos a partir del paiche.

H1: Las distintas bacterias ácido lácticas influyen en la bioconservación de productos cárnicos crudos a partir del paiche.

Hipótesis para factor C (Concentración del bioconservante)

H0: Las concentraciones de los bioconservantes no influyen en la bioconservación de productos cárnicos crudos a partir del paiche.

H1: Las concentraciones de los bioconservantes influyen en la bioconservación de productos cárnicos crudos a partir del paiche.

Interacción A*B*C (Producto de paiche*Bacterias*Concentración del bioconservante)

H0: El efecto de las interacciones entre los factores producto de paiche, bacterias y concentración del bioconservante no influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

H1: El efecto de las interacciones entre los factores producto de paiche, bacterias y concentración del bioconservante influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Capítulo II

Revisión Literaria

Paiche (*Arapaima gigas*)

Identificación y distribución natural

Arapaima gigas es la única especie conocida de la familia *Arapaimatidae* del orden primitivo Osteoglossiformes (“bonytongues”) en América del Sur (Ferraris, 2003; Berra, 2004; Lavoué & Sullivan, 2004; Nelson, 2006). Es uno de los peces más grande de aguas dulces alrededor del mundo, alcanzando 3-4 m y más de 200 Kg (Ferraris, 2003; Berra, 2004; Nelson, 2006) (Fig 1)

Figura 1.

Pez Paiche (*Arapaima gigas*)



Nota: Pez paiche originario de las cuencas del río Amazonas. Tomada de *Naturalist Ec*, por E. Laaz, 2022.

Regionalmente es comúnmente conocido con el nombre de paiche (Perú, Ecuador, Venezuela y Bolivia), pirarucú (Brasil y Colombia), y arapaima (Guyana). Posee una cabeza pequeña que es parte del 10% de su cuerpo. El cuerpo es alargado, cilíndrico y subsecuentemente comprimido. Está cubierto con escamas ovales grandes y gruesas. Las aletas anal y dorsal están al mismo nivel, cerca de la cola

redondeada. La porción posterior del cuerpo posee una coloración roja intensa (Ferraris, 2003; Saavedra et al., 2005a; Nelson, 2006) (**Figura 1**).

Naturalmente el paiche se encuentra en el río Amazonas (Berra, 2004; Hrbek et al., 2005). Esta especie ocupa alrededor de 2 millones de km² en las cuencas del Amazonas, compartidos entre Ecuador, Brasil, Colombia, Perú y Venezuela (Ferraris, 2003; Saavedra et al., 2005a).

Ecología

Investigaciones realizadas en cautiverio y ambientes naturales, se conoce que *Arapaima* tiene preferencias carnívoras. Su alimentación principalmente es de peces pequeños, decápodos, moluscos e insectos. Los adultos tienen mayor selección cuando caza sus presas y consumen aproximadamente 6% de su masa corporal. Prefieren peces de tamaños medianos, decápodos y algunas veces tortugas pequeñas (Carvajal-Vallejos, F. M., et al., 2011).

Para encontrar sus presas, el paiche utiliza menos el sentido de la vista, que los sentidos del tacto y olfato que utiliza principalmente. Su alimentación es más intensa durante la noche y produce una agitación con la cola y/o cabeza en la superficie del agua cuando una presa es succionada.

Taxonomía

Según la (RAE., 2023), la taxonomía es la ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación. Se aplica en particular, dentro de la biología, para la ordenación jerarquizada y sistemática, con sus nombres, de los grupos de animales y de vegetales.

Cerca de la mitad de todos los vertebrados están representados por peces. El 41% pertenecen a aguas continentales, el 58% perteneciente a especies marinas y el 1% migra de agua dulce a agua salada. De las 20,800 especies de peces que existen en la tierra los del orden Osteoglossiformes constituyen 6 de las 409 familias, 26 de los 3867 géneros y 206 de todas las especies (Pinchi Pinedo, Z. R., 2017).

Tabla 1.

Clasificación taxonómica del pez paiche

Clasificación taxonómica	
Orden	<i>Osteoglossiformes</i>
Suborden	<i>Osteoglossoidei</i>
Superfamilia	<i>Osteoglossoidae</i>
Familia	<i>Osteoglossidae</i>
Genero	<i>Arapaima</i>
Especie	<i>Arapaima gigas</i>
Nombre común	<i>Paiche ó picarucú</i>

Recuperado de (Pinchi Pinedo, Z. R., 2017).

En comparación al resto de su cuerpo, su cabeza es pequeña. Tiene una coloración ceniza oscura, el borde de las escamas de color amarillo o rojizo. Sus aletas pequeñas están orientadas hacia atrás. Su lengua es una porción ósea de 25 cm de longitud total y 5 cm de ancho. Tiene dientes filiformes (Pinchi Pinedo, Z. R., 2017) (**Figura 2**).

Figura 2.

Morfología del pez paiche



Nota: Morfología del pez paiche, identificando cada una de las partes del pez. Tomado de *Manual pirarucú*, por M. Peláez, 2007.

Composición química del paiche

Tabla 2.

Composición química del paiche

Composición	Porcentaje (%)
Humedad.	35%
Proteínas totales.	36.5%
Grasa bruta.	1.6%
Carbohidratos.	2.4%
Sales minerales.	24.5%
Poder energético.	1.47 cal. por 100gr

Recuperado de (Pinchi Pinedo, Z. R., 2017)

Comprende la determinación analítica de humedad, proteínas totales, grasa bruta, carbohidratos, sales minerales y poder energético existiendo otros, pero en cantidades menores como son los ácidos, bases, vitaminas, pigmentos, relacionados al sabor y aroma (Campos Baca, L., 2001).

Rasgos de vida

La reproducción del paiche se intensifica cuando las aguas comienzan a subir de nivel y las zonas para la elaboración de nidos están disponibles en el bosque, pero, puede ocurrir a lo largo del año. Se ha sugerido que los cambios en la conductividad y pH de las aguas al comienzo de la época lluviosa son los factores que desencadenan la época de reproducción en estos peces. En la región del Amazonas, en Brasil, la época de reproducción empieza desde el mes de octubre y se extiende hasta mayo. En Perú la etapa de mayor reproducción se da entre los meses de septiembre y diciembre. En la Amazonía

Colombiana, se ha reportado un incremento en el índice gonadosomático entre los meses de septiembre a noviembre (Barrera, F., & Almeyra, B.2010).

Contenido nutricional de la carne de paiche

El paiche se ha convertido en una de las principales fuentes de proteínas para los habitantes que se ubican alrededor de la cuenca amazónica, su consumo colabora a mantener la cantidad necesaria de aminoácidos exógenos necesarios para mantener una dieta equilibrada. Posee altos contenidos de Omega 3 y 6 ácidos grasos poliinsaturados que permiten potenciar el funcionamiento del sistema nervioso central, cardiovascular, presión arterial y la coagulación (Loredo Reynaga, R., et al., 2011), sumado a lo expresado que la carne de paiche se caracteriza por ser rica en proteína y baja en grasas, con cantidades significativas de ácidos grasos (Avdalov N., 2014). Posee vitaminas y minerales, siendo considerado una de las carnes más saludables para el consumo humano. Así, consumir una cantidad de 100% de carne de paiche permite cubrir más del 50% de la ingesta de proteína diaria que la Organización para la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Además de sus características nutricionales, presenta una textura cárnica firme, de sabor neutral y una coloración generalmente blanca (**Figura 3**) (Carolsfeld J., et al., 2014).

Figura 3.

Corte diagonal de lomo de paiche



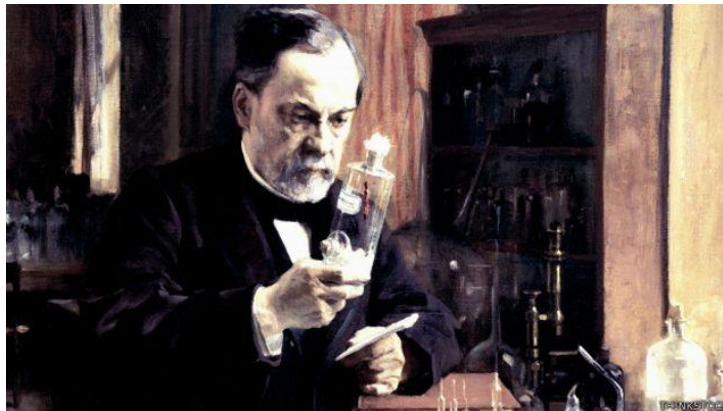
Nota: Corte diagonal de lomo paiche, observación de la coloración del pescado. Tomada de *Naturalist Ec*, por E. Laaz, 2022.

Bacterias Ácido Lácticas (BAL)

Las BAL fueron descubiertas por el químico Louis Pasteur (**Figura 4**) en 1857 mientras realizaba estudios tras la consulta de productores de vino de la región, de por qué se les descomponía y acidificaba el vino. Después de una corta investigación descubrió que la sustancia que lo descomponer y acidificaba era el ácido láctico, producto de la fermentación láctica desencadenada por ciertos microorganismos. El término “*Bacterium acidi lactici*” se debe a Weigmamn que lo propuso en 1889 al definir las como bacterias que forman leche ácida a partir del azúcar de la leche (Mora Peñaflo, N., & García Guerrero, A., 2007).

Figura 4.

Químico e investigador Louis Pasteur



Nota: Químico, docente e investigador Louis Pasteur, pionero en el descubrimiento de las BAL. Tomada de *BBC News*, por A. Fernández, 2015.

Para el año de 1919 Orla-Jensen elaboró una monografía basándose en:

1. Criterios morfológicos: el grupo estaría constituido por cocos y bacilos Gram positivos, no esporulados e inmóviles.

2. Criterios fisiológicos: microorganismos que al fermentar azúcares forman principalmente ácido láctico, catalasa-negativos, microaerofílicos o anaerobios, mesófilos y de requerimientos nutritivos complejos. (Fernández, 2000).

De acuerdo con (Axelsson, 2004), desde hace siglos, la humanidad ha empleado a las BAL para la fabricación y conservación de alimentos. El descubrimiento de su acción sobre la leche fue probablemente accidental pero su utilización fue perpetuada en forma de cultivos iniciadores, mediante una simple recuperación de una parte del medio de fermentación para promoverla en otros alimentos y bebidas además de que contribuyen a desarrollar sabor y aroma, así como a retardar su deterioro

Estas bacterias son parte del microbiota natural de la mayoría de los alimentos y no existe evidencia que podría ocasionar riesgos para la salud del consumidor, por lo tanto, el grupo de las bacterias ácido lácticas, como algunos de sus metabolitos son considerados como GRAS de EEUU (Generally Recognized As Safe) por la FDA (Food and Drug Administration) (Fernández, 2000).

Características generales

La clasificación de las BAL se basa en la morfología, en cómo fermenta la glucosa, el desarrollo a distintas temperaturas, la configuración del ácido láctico producido, la habilidad de crecer a altas concentraciones de sal, tolerancia en toda la escala de potencial de hidrógeno (Axelsson, 2004).

El grupo de las BAL está conformado por cocos, cocobacilos o bacilos Gram positivos, generalmente inmóviles y no esporulados, catalasa y oxidasa negativas, obtienen energía exclusivamente por fermentación de azúcares produciendo ácido láctico como producto principal o único de su metabolismo, y obtienen su energía por fosforilación a nivel del sustrato a la vez que oxidan carbohidratos; no tienen un ciclo de Krebs funcional. Todas estas bacterias son consideradas anaerobias aerotolerantes, y al contrario que las anaerobias estrictas, no son sensibles al oxígeno por lo que pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de él (Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J., 2004).

El grupo de las BAL es probablemente el más abundante y difundido en la naturaleza, debido a la capacidad que poseen de crecer en varios sustratos y a diversas condiciones biológicas. Pertenecen a los géneros *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulun*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* (Monroy, M., et al., 2009). Las especies que han sido más utilizadas para retardar el deterioro y conservar los alimentos naturalmente son las de los géneros *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* y *Carnobacterium*, las cuales se han logrado aislar a partir de granos, plantas verdes, productos lácteos y productos cárnicos y del tracto digestivo de los animales y humanos (Mora Peñaflor, N., & García Guerrero, A., 2007).

Requieren gran cantidad de factores nutritivos (aminoácidos, bases nitrogenadas, algunas vitaminas principalmente del grupo B y fuentes de carbono), es por esta razón que son muy exigentes en su nutrición. La mayor parte de las BAL obtienen energía sólo del metabolismo de los azúcares y compuestos relacionados fermentables, por lo cual su desarrollo está restringido a ambientes ricos en azúcares (Leveau, J. Y., Bouix, M., 2000).

A pesar de esto, sus hábitats son muy variados, pudiéndose encontrar en (Mora Peñaflor, N., & García Guerrero, A., 2007):

- Flora normal de la superficie de material vegetal (frutas y verduras).
- Alimentos fermentados y ricos en azúcares.
- Leche y derivados.
- Cárnicos.
- Mucosas del cuerpo de mamíferos como boca, tracto nasofaríngeo, gastrointestinal y vagina.

Clasificación

El grupo de las BAL está comprendido por aproximadamente 20 géneros, aunque el grupo está definido con poca exactitud, todos los representantes comparten la propiedad de producir ácido láctico a partir de las hexosas. Estos géneros se clasifican de acuerdo con los metabolitos que producen en la fermentación, existiendo 2 grupos, las bacterias homofermentativas, las cuales sólo producen ácido láctico y heterofermentativas las que producen ácido láctico y otras sustancias (Jay, J.M., 2000).

Homofermentativas:

El grupo homofermentativo, está compuesto por *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, utiliza la ruta Embden-Meyerhoff-Parnas al convertir 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico, además de que produce más del 85% de ácido láctico a partir de glucosa. A diferencia de las bacterias heterofermentativas, producen lactato, CO₂ y etanol a partir de glucosa usando la hexosa monofosfato o la vía de las pentosas, y así solamente generan la mitad de la energía del grupo homofermentativo (García, C., et al., 2010).

Heterofermentativas:

Las heterofermentativas producen solamente 50% de ácido láctico; fermentan 1 mol de glucosa para formar 1 mol de ácido láctico, 1 mol de etanol y 1 mol de CO₂. 1 mol de ATP es generado por mol de glucosa. Este grupo está compuesto por un número de géneros que incluyen: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Este grupo de bacterias contiene la enzima fosfocetolasa, pero carece de la aldolasa y de la hexosa isomerasa; así, en lugar de seguir la vía (EMP), utiliza las vías de la hexosa monofosfato o la de la pentosa (García, C., et al., 2010).

Las BAL también se clasifican según la temperatura ideal de crecimiento en: mesófilas y termófilas

Mesófilas:

Temperatura óptima de incubación, 20-25 °C; volumen de cultivo líquido, 1-2%; tiempo de incubación, 18-20 horas; acidez final, 0,8% de ácido láctico. Especies: *Lactococcus lactis subs lactis*, *Lactococcus lactis subs cremoris*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* (García, C., et al., 2010).

Termófilas:

Temperatura óptima de incubación, 40-45 °C; volumen de cultivo líquido, 2-3%; tiempo de incubación, 2-4 horas; acidez final, 0,9% de ácido láctico. Especies: *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius* (García, C., et al., 2010).

Lactobacillus plantarum**Generalidades**

La bacteria *Lactobacillus plantarum* tiene cumplimientos por EFSA (European Food Safety Authorities), QPS (Qualified Presumption of Safety), GRAS (Generally Recognized as Safe), FDA (Food and Drugs Administration). Además, es considerado como un microorganismo con un historial documentado de uso alimentario. Gracias a la aprobación de las organizaciones, se ha prestado gran atención a *Lactobacillus plantarum* para caracterizar mejor sus rasgos de seguridad y revelar sus atributos probióticos (Seddik, H. A., et al., 2017).

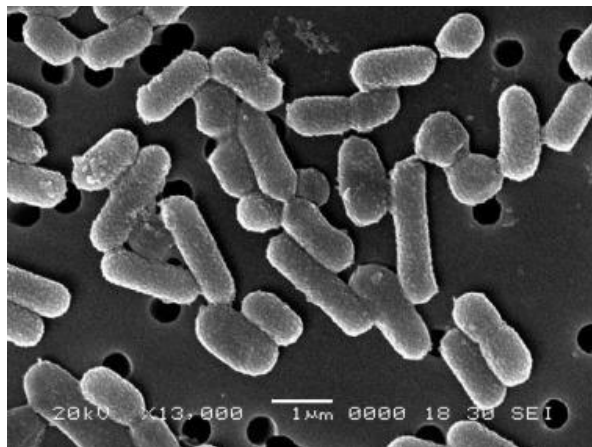
Los atributos beneficiosos de los probióticos para la salud humana son diversos y ejercido por varios y complejos mecanismos, estos atributos pueden ser locales o sistémicos (Seddik, H. A., et al., 2017). A continuación, las afirmaciones probióticas de las cepas de *Lactobacillus plantarum*.

- Efecto reductor del colesterol.
- Manejo de trastornos gastrointestinales y prevención de diarrea.

- *Lactobacillus plantarum* en la enfermedad inflamatoria intestinal.

Figura 5.

Lactobacillus plantarum visto bajo el microscopio



Nota: Vista microscópica de la bacteria *Lactobacillus plantarum*. Tomada de *Importancia in vitro del probiótico Lactobacillus plantarum relacionado con el campo médico*, por M. Valan

Taxonomía

Clasificación taxonómica de *L. plantarum*

Tabla 3.

Clasificación taxonómica *L. plantarum*

Clasificación taxonómica	
Dominio	<i>Bacteria</i>
División	Firmicutes
Clase	Bacili
Orden	Lactobacillales
Familia	Lactobacillaceae
Género	Lactiplantibacillus

Clasificación taxonómica	
Especie	<i>L. plantarum</i>

Recuperado de (Seddik, H. A., et al., 2017).

Lactococcus lactis

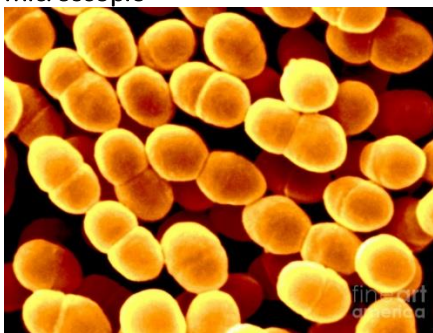
Generalidades

Lactococcus lactis ha progresado mucho desde su descubrimiento y uso inicial en la fermentación de productos lácteos, hasta sus aplicaciones biotecnológicas actuales en ingeniería genética para la producción de diversas proteínas recombinantes y metabolitos que trascienden la barrera heteróloga de las especies.

Las características deseables clave de esta bacteria intestinal no colonizadora de ácido láctico Gram positivo incluyen GRAS, propiedades probióticas, la ausencia de cuerpos de inclusión y endotoxinas, visualización superficial y tecnología de secreción extracelular y una selección diversa de clonación y vectores de expresión inducibles. Esto ha hecho de *L. lactis* un huésped deseable y prometedor a la par con otros sistemas bacterianos o de levadura modelo bien establecidos, como *Escherichia coli*, *Salmonella cerevisiae* and *Bacillus subtilis* (Song, A. A. L., et al., 2017).

Figura 6.

Lactococcus lactis visto bajo el microscopio



Nota: Vista microscópica de la bacteria *Lactococcus lactis*. Tomada de Scimat, por F. Rodríguez

Taxonomía

Clasificación taxonómica de *L. lactis*

Tabla 4.

Clasificación taxonómica *L. lactis*

Clasificación taxonómica	
Dominio	<i>Bacteria</i>
División	Firmicutes
Clase	Bacili
Orden	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Streptococcaceae</i>
Género	<i>Lactococcus</i>
Especie	<i>L. plantarum</i>

Recuperado de (Song, A. A. L., et al., 2017)

Leuconostoc mesenteroides

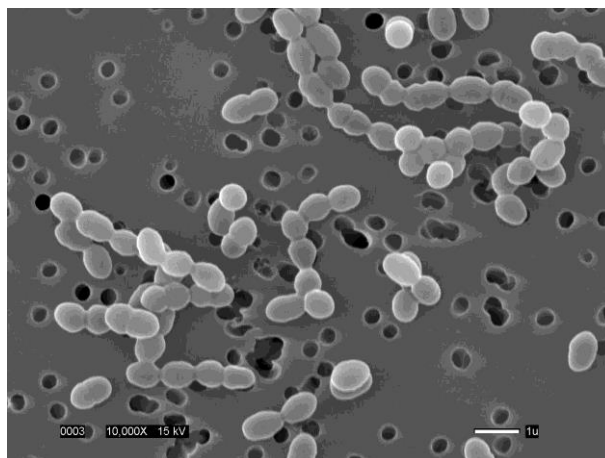
Generalidades

Las bacterias *Leuconostoc mesenteroides* generalmente se presentan en pares o cadenas cortas, inmóviles, formadoras de esporas, catalasas negativo, anaeróbico facultativo, mesófilo y no producen amoníaco a partir de arginina. Estas bacterias muestran requerimientos nutricionales complejos, incluyendo diferentes aminoácidos.

Estos microorganismos tienen características mesófilas con un crecimiento óptimo entre 20 y 30°C. Se pueden encontrar principalmente en vegetales, cereales, frutas, vino, pescado, carne y productos lácteos (de Paula, A. T., et al., 2015).

Figura 7.

Leuconostoc mesenteroides visto bajo el microscopio



Nota: Vista microscópica de *Leuconostoc mesenteroides*. Tomada de *Genome Portal*, por F Breidt

Taxonomía

Clasificación taxonómica de *Leuconostoc mesenteroides*

Tabla 5.

Clasificación taxonómica

Clasificación taxonómica	
Dominio	<i>Bacteria</i>
División	Firmicutes
Clase	Bacili
Orden	<i>Lactobacillales</i>
Familia	<i>Leuconostocaceae</i>
Género	<i>Leuconostoc</i>
Especie	<i>L. mesenteroides</i>

Recuperado de (de Paula, A. T., et al., 2015).

Bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos con actividad antimicrobiana, segregadas por un gran número de bacterias para inhibir el crecimiento de otros microorganismos competidores. Generalmente, estos péptidos actúan sobre la membrana celular (Zapata et al., 2009). Existe una gran diversidad de bacteriocinas reportadas en la mayoría de las especies bacterianas, e incluso dentro de una misma especie podrían producirse distintos tipos de bacteriocinas (Herrera, R. R., et al 2013).

Las bacteriocinas más estudiadas son las producidas por BAL. Estas bacterias son reconocidas como GRAS, las cuales participan en la fermentación y conservación de alimentos, mejorando su calidad higiénica al inhibir la flora competitiva, la cual incluye microorganismos patógenos, tales como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Salmonella*, entre otras (Vázquez et al., 2009).

Aplicación de bacteriocinas en alimentos

Las bacteriocinas son producto GRAS y pueden ser usadas como bioconservantes, es por esta razón que son de gran interés en la industria alimentaria. El estudio de éstas se ha realizado en alimentos fermentados, como el queso, en productos cárnicos integrando la bacteriocina en el envase (Herrera, R. R., et al 2013), entre otros.

Comúnmente se usan tres métodos de aplicación de la bacteriocina (Zapata et al., 2009):

1. La inoculación directa de BAL en el alimento para producir bacteriocinas en el producto.
2. Aplicación de la bacteriocina purificada o semipurificada como preservador en el alimento.
3. Uso de un producto previamente fermentado con la producción de la bacteriocina como un ingrediente en un alimento procesado.

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

Ubicación Política

País:	Ecuador
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón:	Santo Domingo
Parroquia:	Luz de América
Sector:	km 24 Vía Quevedo

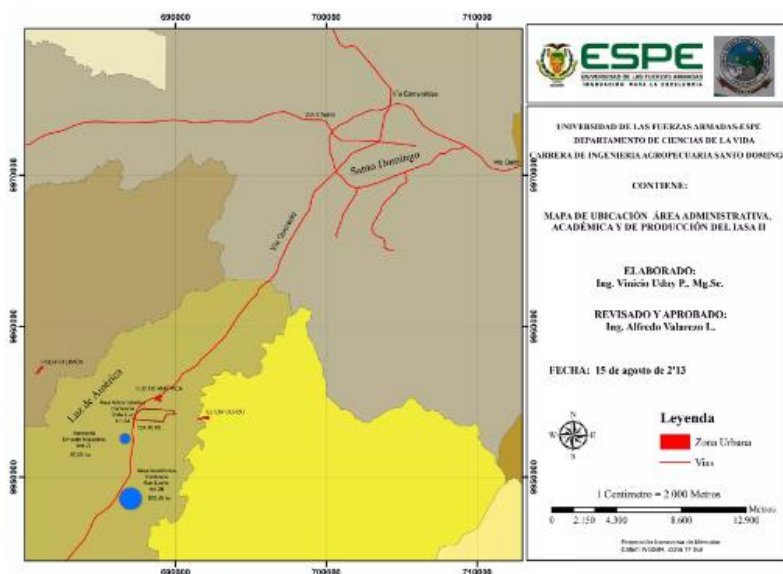
Ubicación Geográfica

El actual trabajo de integración curricular se realizó en las instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE extensión Santo Domingo; Hacienda Zoila Luz km 24 Vía Quevedo, en los laboratorios de Biotecnología Industrial, Procesos Industriales, Bromatología y Microbiología Celular.

Latitud:	00° 24' 36''
Longitud:	79° 18' 43''
Altitud:	270 m.s.n.m

Figura 8.

Ubicación geográfica dónde se desarrolló la investigación



Nota: Mapa de la ubicación geográfica de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE sede Santo Domingo. Tomada de *Mapa ubicación ESPE santo domingo*, por V. Uday, 2014.

Ubicación Ecológica

Zona de vida:	Bosque húmedo Tropical
Altitud:	224 msnm
Temperatura media:	24,6 ° C
Precipitación:	2860 mm/año
Humedad relativa:	85%
Heliofanía:	680 horas luz / año -1
Suelos:	Francos arenoso

Fuente: Estación Agro Meteorológica "Puerto Ila" Vía Quevedo km 34.

Materiales

Determinación de pH

Tabla 6.

Recursos necesarios para la determinación de pH de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Balanza Analítica	Vaso de precipitación (250 ml)	Agua destilada	Mojama de paiche
Potenciómetro	Vaso de precipitación (100 ml)		Hamburguesa de paiche
Hornilla	Probeta (100 ml)		
	Mortero		
	Colador		
	Varilla de vidrio		

Determinación de acidez titularle

Tabla 7.

Recursos necesarios para la determinación de acidez de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Balanza Analítica	Vaso de precipitación (250 ml)	Agua destilada	Mojama de paiche
Potenciómetro	Vaso de precipitación (100 ml)	NaOH 0,1 N	Hamburguesa de paiche
Plancha de agitación	Probeta (100 ml)	Fenolftaleína	
	Probeta (25 ml)		

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
	Balón de aforo (250 ml)		
	Soporte universal		

Determinación de humedad

Tabla 8.

Recursos necesarios para la determinación de humedad de la mojava de paiche y hamburguesa de paiche.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Balanza Analítica	Mortero	Agua destilada	Mojama de paiche
Estufa	Crisol		Hamburguesa de paiche
Desecador	Pinza		
	Espátula		

Determinación de cenizas

Tabla 9.

Recursos necesarios para la determinación de ceniza de la mojava de paiche y hamburguesa de paiche.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Balanza Analítica	Mortero	Agua destilada	Mojama de paiche
Mufla	Crisol		Hamburguesa de paiche
Desecador	Pinza		
	Espátula		

Determinación de grasa

Tabla 10.

Recursos necesarios para la determinación de grasa de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Estufa	Mortero	Éter de petróleo	Mojama de paiche
Balanza	Pisetas		Hamburguesa de paiche
Aparato Golfish	Pipetas		
Vasos Beacker para grasa.	Algodón liofilizado		
	Probeta (100 ml)		
	Papel filtro		
	Pinza universal		
	Espátula		

Determinación de proteína

Tabla 11.

Recursos necesarios para la determinación de grasa de la mojama de paiche y hamburguesa de paiche

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Balanza Analítica	Mortero	Ácido sulfúrico Concentrado	Mojama de paiche

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Extractor de humo	Gotero	Solución de Hidróxido de Sodio al 35%.	Hamburguesa de paiche
Bomba de circulación de agua	Matraz 250 ml	Solución de Ácido Bórico al 2%.	
Unidad de scrubber Unidad de destilación Agitador magnético	Tubos de destilación	Solución de Ácido Clorhídrico 0,1N Tabletas Catalizadoras. Indicador Kjeldahl.	

Enriquecimiento selectivo para de las bacterias ácido lácticas

Tabla 12.

Recursos necesarios para el enriquecimiento selectivo de las bacterias ácido lácticas.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Cámara de flujo laminar	Matraz Erlenmeyer (500 ml)	Caldo MRS	Bacterias aisladas
Incubadora	Micropipeta		<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactococcus lactis</i>
Autoclave	Asa bacteriológica		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Balanza	Tubos de ensayo Frascos auto lavables (500ml)		

Bioconservación de productos cárnicos crudos

Tabla 13.

Recursos necesarios para la elaboración del bioconservante de productos cárnicos crudos.

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Espectrofotómetro	Tubos de ensayo	Ácido cítrico	Cultivo selectivo enriquecido de BAL
Incubadora	Probeta (250 ml)	Citrato de sodio	
Cámara de flujo laminar	Vaso de precipitación (250 ml)		
Autoclave	Mechero		
Centrífuga	Micropipeta		
Balanza	Asa bacteriológica		
Potenciómetro	Atomizador (500 ml)		

Preparación de la mojama de paiche

Tabla 14.

Recursos necesarios para la preparación de mojama de paiche

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Cuarto frío	Sal gruesa	Agua destilada	Paiche (1 Kg)
	Recipiente de aluminio		
	Soporte de aluminio		

Preparación de la carne de hamburguesa de paiche

Tabla 15.

Recursos necesarios para la preparación de hamburguesa de paiche

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Cuarto frio	Tocino	Agua destilada	Paiche (1 Kg)
Cutter para embutido	Condimento de hamburguesa	Nitral	
	Miga de pan	Proteína XT 202	
	Humo líquido		
	Almidón de yuca		
	Cebolla en rama		
	Ajo en polvo		
	Sal		

Recuento de poblaciones microbianas

Tabla 16.

Recursos necesarios para el recuento de poblaciones microbianas

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Cámara de flujo laminar	Matraz Erlenmeyer (500 ml)	Agua peptona	Bacterias aisladas
Incubadora	Micropipeta	Petrifilm	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Autoclave	Mechero		<i>Lactococcus lactis</i>
Balanza	Tubos de ensayo		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	Frascos autoclavables (500ml)		

Equipos	Materiales/ insumos	Reactivos	Muestras
Vortex	Probeta		
Contador de colonias			

Métodos

Obtención de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL).

Las BAL fueron donadas por los ingenieros Jairo Cueva, Jean Muñoz y Nathaly Mora; estas bacterias fueron: *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Leuconostoc mesenteroides*, respectivamente.

La bacteria *Lactobacillus plantarum* se obtuvo de la fermentación de dos variedades de café, siendo éstas café arábico y café robusto, la bacteria *Lactococcus lactis* fue obtenida de la fermentación de la quinua roja, por otra parte, la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* se la obtuvo de la fermentación del mosto de tuna.

Bioconservación del paiche

Preparación de la solución bacteriana

Para la preparación de la solución bacteriana se basó en la metodología de (Verdezoto Quinatoa, D. C., 2017) con modificaciones para llevar a cabo la investigación. Se preparó 82,73g de medio de Caldo de Agar MRS en 1,5 L de agua destilada, se calentó y agitó la mezcla del caldo y agua en un matraz, posteriormente se autoclavó por 25 minutos con una presión de 15 libras y temperatura de 121 °C y se dejó enfriar en la cámara de flujo laminar previo a una esterilización con luz ultravioleta de la misma por 15 minutos. En la cámara de flujo laminar se inoculó las bacterias seleccionadas con la ayuda

del asa bacteriológica. Se tapó el matraz con algodón y parafilm, y se dejó incubar en la estufa por un periodo de 24h con temperatura de 37 °C.

Después de las 24h del caldo en la estufa, se realizaron varios lavados con un buffer de citrato de sodio-ácido cítrico, con un pH de 3,8. Se colocó 5 ml de buffer y 5 ml de la solución bacteriana, se centrifugó a 10000 rpm por 15 minutos, después de este tiempo se bota el sobrenadante y se guarda el sedimento, se repite el procedimiento de 2 a 3 veces hasta que el sedimento sea totalmente blanquecino, se agrega 5mL del buffer preparado para re suspender las bacterias y obtener la solución de BAL antimicrobianas, finalmente se regula la absorbancia deseada con el buffer citrato de sodio-ácido cítrico.

Preparación de las muestras

En el laboratorio de Procesos Industriales de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE - SD, se preparó dos técnicas al producto del pescado crudo (mojama de paiche y carne para hamburguesa de paiche), con la ayuda de un atomizador se roció a la mojama y la carne para hamburguesa, dejando en refrigeración a 3°C durante 15 días y 7 días respectivamente.

Mojama de Paiche

Los filetes de pescado se dejaron en refrigeración a 3 °C cubiertos totalmente de sal gruesa durante 24 h con la finalidad de deshidratar al pescado. Pasado este tiempo, se realizó un lavado con agua a los filetes para quitar el exceso de sal, se roció a los filetes con las soluciones de bacteriocinas y se dejó reposar durante 15 días en refrigeración.

Carne de hamburguesa de paiche

Se calculó la cantidad de cada ingrediente para un 500g de pescado. En el cutter para embutido se mezclaron los siguientes ingredientes: carne de paiche, tocino de cerdo, proteína XT 202, condimento de hamburguesa, sal, hielo, ralladura de pan, nitrato, humo líquido, almidón de yuca, cebolla en rama y

ajo en polvo. Cada uno de los ingredientes se los vertió en el cutter con una diferencia de 15 segundos para que se mezclaran correctamente y no se generen grumos; el hielo también ayuda a que esto no suceda, también se lo vertió ocasionalmente para tener un mejor producto al finalizar.

Con la ayuda de unos moldes, se dio forma para la carne de hamburguesa, se las roció con la solución de bacteriocinas y se las guardó en funda ziploc para su almacenamiento en refrigeración durante los siguientes 7 días.

Diseño Experimental

Factores de estudio y niveles de experimento

Tabla 17.

Factores y niveles a probar en el estudio de la bioconservación de dos técnicas de carne cruda del paiche, con tres bacterias diferentes y distintas concentraciones de la solución bacteriana.

Factores	Simbología	Niveles
Pescado crudo de Paiche (A)	a ₀	Mojama
	a ₁	Carne de hamburguesa
Bacterias (B)	b ₀	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	b ₁	<i>Lactococcus lactis</i>
	b ₂	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Concentraciones Bioconservante (C)	c ₀	Concentración 1 (3x10 ⁷ UFC/ml)
	c ₁	Concentración 2 (5x10 ⁷ UFC/ml)

Comparación de tratamientos

Tabla 18.

Tratamientos a comparar en el estudio de la bioconservación de dos técnicas de carne cruda del paiche, con tres bacterias diferentes y distintas concentraciones de la solución bacteriana.

N°	Interacciones	Niveles
T1	a ₀ b ₀ c ₀	Mojama + <i>Lactobacillus plantarum</i> + 3x10 ⁷ UFC/ml
T2	a ₀ b ₀ c ₁	Mojama + <i>Lactobacillus plantarum</i> + 5x10 ⁷ UFC/ml
T3	a ₀ b ₁ c ₀	Mojama + <i>Lactococcus lactis</i> + 3x10 ⁷ UFC/ml
T4	a ₀ b ₁ c ₁	Mojama + <i>Lactococcus lactis</i> + 5x10 ⁷ UFC/ml
T5	a ₀ b ₂ c ₀	Mojama + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + 3x10 ⁷ UFC/ml
T6	a ₀ b ₂ c ₁	Mojama + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + 5x10 ⁷ UFC/ml
T7	a ₁ b ₀ c ₀	Carne de hamburguesa + <i>Lactobacillus plantarum</i> + 3x10 ⁷ UFC/ml
T8	a ₁ b ₀ c ₁	Carne de hamburguesa + <i>Lactobacillus plantarum</i> + 5x10 ⁷ UFC/ml
T9	a ₁ b ₁ c ₀	Carne de hamburguesa + <i>Lactococcus lactis</i> + 3x10 ⁷ UFC/ml
T10	a ₁ b ₁ c ₁	Carne de hamburguesa + <i>Lactococcus lactis</i> + 5x10 ⁷ UFC/ml
T11	a ₁ b ₂ c ₀	Carne de hamburguesa + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + 3x10 ⁷ UFC/ml
T12	a ₁ b ₂ c ₁	Carne de hamburguesa + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + 5x10 ⁷ UFC/ml

Tipo de diseño experimental

Se aplicó un ANOVA con arreglo factorial AxBxC (2x3x2), en donde el factor A son las concentraciones del bioconservante, el factor B las distintas bacterias utilizadas para este y el factor C estudio las técnicas del pescado crudo.

Repeticiones

En el diseño experimental se aplicaron 3 repeticiones por cada tratamiento, obteniendo un total de 36 unidades experimentales.

Análisis estadístico

Tabla 19.

Esquema de análisis de varianza (ANOVA) para el estudio de la bioconservación de dos técnicas de carne cruda del paiche, con tres bacterias diferentes y distintas concentraciones de la solución bacteriana.

Fuente de variación	Fórmula	Grados de libertad
Pescado crudo del paiche	a - 1	1
Bacterias	b- 1	1
Concentración bioconservante	c - 1	2
Pescado crudo del paiche x Bacterias	(a-1)(b-1)	2
Pescado crudo del paiche x Concentración bioconservante	(a-1)(c-1)	2
Bacterias x Concentración bioconservante	(b-1)(c-1)	1
Pescado crudo del paiche x Bacterias x Concentración bioconservante	(a-1)(b-1)(c-1)	2
Réplicas	R-1	2
Error experimental	gt- \sum gl	13
Total		26

Análisis funcional

Para las variables que presentaron diferencia significativa en los análisis de varianza se les aplicó una prueba de significancia Tukey ($p < 0,05$).

Variables evaluadas

Determinación de pH

Dentro de un vaso de precipitación se pesó 10 gramos de las muestras de pescado, se le añadió 100 ml de agua destilada y se homogeneizó. Se filtró la mezcla de la muestra en un lienzo para eliminar el tejido conectivo. Para obtener el valor del pH de la muestra se colocó el potenciómetro dentro del vaso evitando tocar las paredes del mismo, al notar estabilidad se anotó el resultado.

Determinación de acidez titulable

Se pesó 10 gramos de pescado y se depositó en un vaso de licuadora, se licuó junto 200 ml de agua destilada. Se filtró la muestra en un lienzo para eliminar el tejido conectivo. Lo obtenido de la filtración se lo vertió en un matraz de 250 ml y se aforó con agua destilada. Del volumen total, se tomó 25 ml y se la vertió en un matraz de 150 ml, se añadió 75 ml de agua destilada y cinco gotas de fenolftaleína. Se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) 0,01N. Esta determinación se la repitió tres veces. Se preparó un blanco usando 100 ml de agua destilada, se agregó cinco gotas de fenolftaleína y se tituló. Se utilizó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de acidez titulable del pescado:

$$A = \frac{V_1 N_1 M}{V_2}$$

Siendo:

A = Valor de la acidez en gramos.

V1 = ml de NaOH usados en la titulación.

N1 = Normalidad de la solución de NaOH.

M = Peso molar del ácido de referencia. (Ácido láctico = 0.090).

V2 = Volumen en ml o masa en gramos de la muestra tomada para el análisis.

Determinación de humedad

En la determinación del porcentaje de humedad, se calentó el crisol en la estufa a una temperatura de 100 °C durante 40 minutos, posteriormente se dejó enfriar en el desecador y se pesó. Se pesó aproximadamente 2 gramos de las muestras de pescado y se los colocó en el crisol, finalmente se llevó las muestras en el crisol a la estufa con una temperatura de 131°C durante 24 horas, se utilizó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de humedad del pescado:

$$\%H = \frac{W_2 - W_1}{W_0} * 100$$

Siendo:

H = Porcentaje de humedad

W₂= Peso del crisol más la muestra antes del secado

W₁= Peso del crisol más la muestra después del secado

W₀= Peso de la muestra en gramos

Determinación de ceniza

En la determinación de ceniza, se calentó el crisol en la estufa a una temperatura de 100°C durante 40 minutos, posteriormente se dejó enfriar en el desecador y se pesó. Se pesó aproximadamente 2 gramos de las muestras de pescado, se los colocó en el crisol y se vertió unas gotas

de aceite de oliva, se colocó en una hornilla y la muestra se quemó en su totalidad. Una vez obtenida la muestra quemada, se llevó el crisol a la mufla con una temperatura de 600°C durante 4 horas, hasta que la muestra esté completamente en cenizas, luego se dejó enfriar en el desecador y finalmente se pesó.

Para determinar el porcentaje de cenizas se utilizó la siguiente fórmula:

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

Siendo:

C = Porcentaje de humedad

W_2 = Peso del crisol más la muestra calcinada

W_1 = Peso del crisol vacío

W_0 = Peso de la muestra en gramos

Determinación de grasa

Para determinar grasa, se secaron los vasos beakers en la estufa a una temperatura de 100°C durante un periodo de 1 hora, luego se los transferirán al desecador y se los pesará una vez hayan alcanzado temperatura ambiente. Se pesó 2 gramos de cada muestra seca sobre un papel filtro y se los colocó en el interior del dedal, cubriéndolo con suficiente algodón liofilizado y se colocó el porta dedal. Se adicionó en el vaso beaker 50 ml del solvente de éter de petróleo. Posteriormente se colocó el dedal junto con su contenido, en el interior del vaso de beaker que contiene el solvente y se los llevó a los anillos metálicos del aparato de golfish (extractor de grasa). El proceso de extracción de grasa en el aparato de golfish tarda aproximadamente 4 horas.

Terminada la extracción, se retira los vasos con cuidado del extractor de grasa, los dedales se los separa de los vasos y, estos se los deposita en la estufa con una temperatura de 40°C durante 30 minutos o hasta que el éter de petróleo se evapore completamente, luego se deja enfriar a temperatura ambiente en el desecador para finalmente pesar y registrar. Para determinar el porcentaje de grasa se utilizó la siguiente fórmula:

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

Siendo:

G = Porcentaje de humedad

W₂= Peso del vaso más la grasa

W₁= Peso del vaso vacío

W₀= Peso de la muestra en gramos

Determinación de proteína

Para determinación de proteína se pesó aproximadamente 2 gramos de las muestras de pescado y se los colocó en el crisol, finalmente se llevó las muestras en el crisol a la estufa con una temperatura de 131°C durante 24 horas. A partir del pescado seco, se pesó 0,3 gramos de muestra y se los colocó en el micro tubo, adicional a la muestra, en el micro tubo también se añadió una tableta catalizadora y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. El proceso se realizó en el digestor kjeldahl, el cual debe llegar a una temperatura de 400°C durante 30 minutos, luego de ese tiempo, se dejó enfriar a temperatura ambiente, al finalizar el líquido obtuvo un color azul.

En cada micro - tubo se adicionó 10 ml de agua destilada y se llevó al sistema de destilación el cual está conectado a un matraz contenido con 50 ml de ácido bórico. Al finalizar la destilación se obtuvo un volumen aproximado de 150 ml el cuál se instaló para iniciar el proceso de titulación.

Para la titulación se utilizó 4 gotas de la solución indicadora (solución de rojo de metilo y solución de verde bromocresol) y se tituló con ácido clorhídrico 0,1 N con la ayuda de un agitador magnético. Se registró el volumen de ácido consumido y se hizo los siguientes cálculos:

$$\% \text{ PB} = \frac{(\text{VHCL} - \text{VB}) * 1,401 * \text{NHCL} * \text{F}}{\text{g muestra}} * 100$$

Siendo:

1,401 = Peso atómico del Nitrógeno

NHCL = Normalidad del ácido clorhídrico (0,1 N)

VHCL = Volumen del ácido clorhídrico

F = Factor conversión (6,25)

Vb = Volumen blanco (0,3)

Recuento microbiano en placas Petrifilm™

Para determinar el recuento microbiano, se trituró 3 gramos por cada una de las muestras de pescado. Previo a la esterilización, en la cámara de flujo laminar se realizó diluciones seriadas de hasta 10-5 con agua de peptona esterilizada en autoclave. La solución madre o primera solución se la preparó con 27 ml de agua de peptona junto a los 3 gramos triturados de la muestra de pescado, los otros tubos de ensayo contenían 9 ml de agua de peptona. De la solución madre se tomó 1ml y se lo vertió en el

segundo tubo de ensayo, así hasta obtener la quinta dilución. Se vertió 1 ml de la quinta dilución en petrifilms para aerobios y 1 ml en petrifilm para mohos y levaduras. El petrifilm de aerobios se llevó a incubar en la estufa con temperatura de 37°C durante 48 horas y el petrifilm para mohos y levaduras se incubó a una temperatura de 21°C por un periodo de 72 horas. Se aplicó la siguiente fórmula para determinar el recuento bacteriano:

$$\left(\frac{\text{UFC}}{\text{ml}}\right) = \frac{n * f}{v}$$

Siendo:

N = Número de colonias por placa

F = Factor de dilución

V = Volumen inoculado en la placa

Capítulo IV

Resultados

Análisis de varianza de análisis fisicoquímicos**Análisis de Varianza para Grasa**

Tabla 20.

Análisis de varianza para grasa después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de producto	1627,58	1	1627,58	2822,18	0,0000
B:Tipo de bacteria A.L	2,58949	2	1,29474	2,25	0,1296
C:Concentraciones	0,567511	1	0,567511	0,98	0,3320
D:Repeteción	0,598289	2	0,299144	0,52	0,6024
INTERACCIONES					
AB	19,8515	2	9,92574	17,21	0,0000
AC	5,84028	1	5,84028	10,13	0,0043
BC	20,6356	2	10,3178	17,89	0,0000
ABC	3,41716	2	1,70858	2,96	0,0726
RESIDUOS	12,6876	22	0,576711		
TOTAL (CORREGIDO)	1693,77	35			

P<0,05

La tabla 20, muestra diferencia significativa para el factor A: (Tipo de producto), la interacción AB: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L), la interacción AC (Tipo de producto*Concentraciones) y la interacción BC: (Tipo de bacteria A.L*Concentraciones). Mientras que, no se observa diferencias significativas en los factores: B (Tipo de bacteria A.L), C (Concentraciones), la interacción ABC: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y en las Réplicas.

Análisis de Varianza para Cenizas

Tabla 21.

Análisis de varianza para cenizas después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de producto	0,0261361	1	0,0261361	0,06	0,8086
B: Tipo de bacteria A.L	0,337017	2	0,168508	0,39	0,6834
C: Concentraciones	0,272136	1	0,272136	0,63	0,4374
D: Repetición	1,60772	2	0,803858	1,85	0,1812
INTERACCIONES					
AB	0,320272	2	0,160136	0,37	0,6962
AC	0,0330028	1	0,0330028	0,08	0,7856
BC	1,78474	2	0,892369	2,05	0,1525
ABC	0,208239	2	0,104119	0,24	0,7892
RESIDUOS	9,57082	22	0,435037		
TOTAL (CORREGIDO)	14,1601	35			

P<0,05

La tabla 21 no arroja diferencia significativa para el factor A: (Tipo de producto), B: (Tipo de bacteria A.L), C: (Concentraciones), la interacción AB: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L), la interacción AC (Tipo de producto*Concentraciones), la interacción BC: (Tipo de bacteria A.L*Concentraciones), la interacción ABC: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y las réplicas.

Análisis de Varianza para Humedad

Tabla 22.

Análisis de varianza para humedad después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
-----------	-----------	-----------	-----------	----------------	----------------

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de producto	6,31684	1	6,31684	0,21	0,6511
B: Tipo de bacteria A. L	86,7288	2	43,3644	1,44	0,2577
C: Concentraciones	40,7044	1	40,7044	1,35	0,2570
D: Repetición	23,538	2	11,769	0,39	0,6806
INTERACCIONES					
AB	44,6012	2	22,3006	0,74	0,4877
AC	54,1696	1	54,1696	1,80	0,1931
BC	66,1003	2	33,0501	1,10	0,3505
ABC	56,3186	2	28,1593	0,94	0,4069
RESIDUOS	661,101	22	30,05		
TOTAL (CORREGIDO)	1039,58	35			

P<0,05

La tabla 22 no indica diferencia significativa para el factor A: (Tipo de producto), B: (Tipo de bacteria A.L), C: (Concentraciones), la interacción AB: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L), la interacción AC (Tipo de producto*Concentraciones), la interacción BC: (Tipo de bacteria A.L*Concentraciones), la interacción ABC: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y las réplicas.

Análisis de Varianza para Acidez

Tabla 23.

Análisis de varianza para acidez después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de producto	0,098596	1	0,098596	63,72	0,0000
B: Tipo de bacteria A.L	0,00539817	2	0,00269908	1,74	0,1981
C: Concentraciones	0,000961	1	0,000961	0,62	0,4391
D: Repetición	0,0029705	2	0,00148525	0,96	0,3984
INTERACCIONES					
AB	0,0115722	2	0,00578608	3,74	0,0400
AC	0,0196934	1	0,0196934	12,73	0,0017
BC	0,0073215	2	0,00366075	2,37	0,1173
ABC	0,0103277	2	0,00516386	3,34	0,0542

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
RESIDUOS	0,0340435	22	0,00154743		
TOTAL (CORREGIDO)	0,190884	35			
P<0,05					

La tabla 23 muestra los resultados obtenidos del análisis de varianza para la variable acidez. Se obtuvo una diferencia significativa para el factor A: (Tipo de producto), la interacción AB: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L), la interacción AC (Tipo de producto*Concentraciones), es decir el valor P es menor a 0,05. Mientras que, no se obtuvieron diferencias significativas para el factor B: (Tipo de bacteria A.L), el factor C: (Concentraciones), el factor D: (Repetición), la interacción BC: (Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y la interacción ABC: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L*Concentraciones), es decir el valor P es mayor a 0,05.

Análisis de Varianza para pH

Tabla 24.

Análisis de varianza para pH después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>GI</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de producto	0,618844	1	0,618844	7228,98	0,0000
B:Tipo de bacteria A.L	0,00331667	2	0,00165833	19,37	0,0000
C:Concentraciones	0,0016	1	0,0016	18,69	0,0003
D:Repeteción	0,000116667	2	0,0000583333	0,68	0,5163
INTERACCIONES					
AB	0,00723889	2	0,00361944	42,28	0,0000
AC	0,00284444	1	0,00284444	33,23	0,0000
BC	0,000716667	2	0,000358333	4,19	0,0288
ABC	0,0140389	2	0,00701944	82,00	0,0000
RESIDUOS	0,00188333	22	0,0000856061		
TOTAL (CORREGIDO)	0,6506	35			
P<0,05					

La tabla 24 presenta diferencia significativa para el factor A: (Tipo de producto), B: (Tipo de bacteria A.L), C: (Concentraciones), la interacción AB: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L), la interacción AC (Tipo de producto*Concentraciones), la interacción BC: (Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y la interacción ABC: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y las réplicas.

Análisis de Varianza para Proteína

Tabla 25.

Análisis de varianza para proteína después de 15 y 7 días para la mojama y carne de hamburguesa, respectivamente.

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de producto	2814,66	1	2814,66	101637,15	0,0000
B: Tipo de bacteria A. L	167,149	2	83,5743	3017,87	0,0000
C: Concentraciones	98,6049	1	98,6049	3560,62	0,0000
D: Repetición	0,0576167	2	0,0288083	1,04	0,3701
INTERACCIONES					
AB	106,107	2	53,0537	1915,77	0,0000
AC	141,134	1	141,134	5096,36	0,0000
BC	36,5586	2	18,2793	660,06	0,0000
ABC	45,8141	2	22,907	827,17	0,0000
RESIDUOS	0,60925	22	0,0276932		
TOTAL (CORREGIDO)	3410,69	35			

P<0,05

La tabla 25 muestra los resultados obtenidos del análisis de varianza para la variable proteína. Se obtuvo una diferencia significativa para el factor A: (Tipo de producto), B: (Tipo de bacteria A.L), C: (Concentraciones), la interacción AB: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L), la interacción AC (Tipo de producto*Concentraciones), la interacción BC: (Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) y la interacción

ABC: (Tipo de producto*Tipo de bacteria A.L*Concentraciones) Mientras que, no se obtuvieron diferencias significativas en las réplicas.

Pruebas de significación

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos (Factor A: Producto cárnico crudo a partir de paiche)

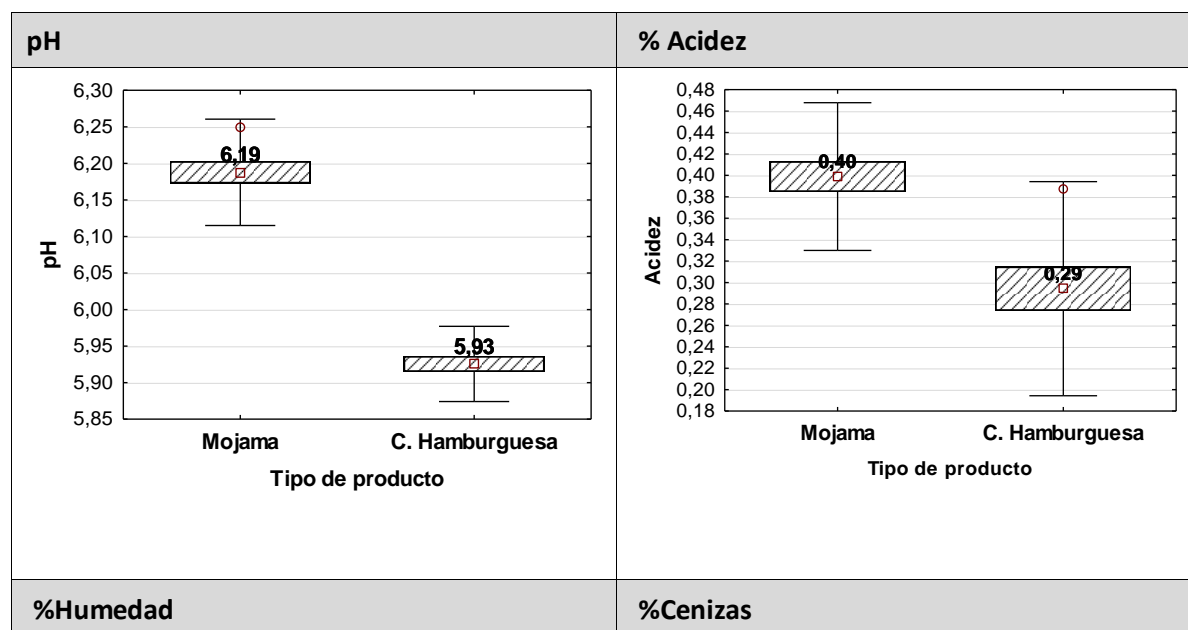
Tabla 26.

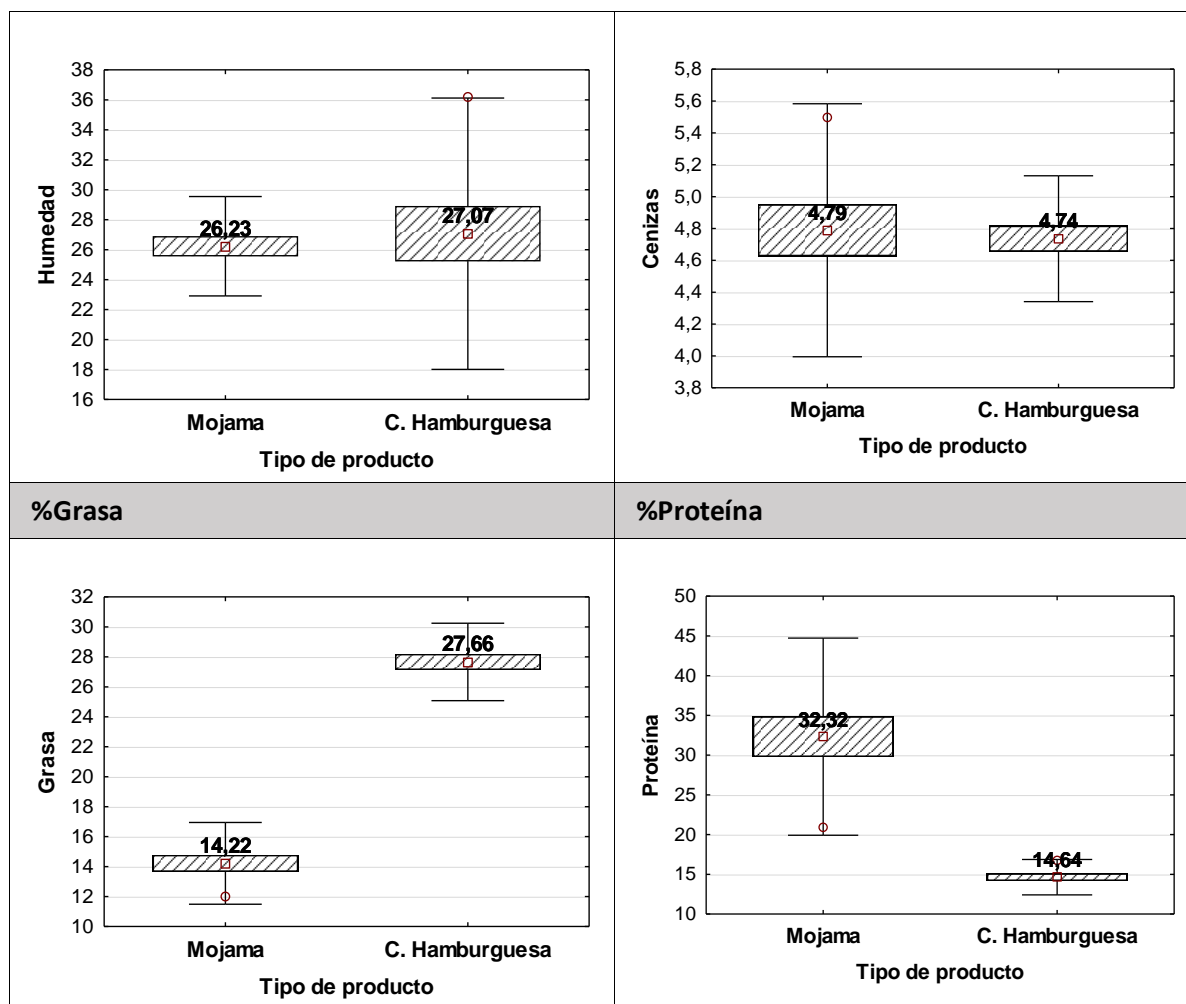
Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos (Factor A)

Tipo de producto	pH	% Acidez	%Humedad	%Cenizas	%Grasa	%Proteína
A0: Mojama	6,19 ^B	0,40 ^B	26,23 ^A	4,79 ^A	14,22 ^A	32,32 ^B
A1: Hamburguesa	5,93 ^A	0,29 ^A	27,07 ^A	4,74 ^A	27,66 ^B	14,64 ^A

Figura 9.

Prueba de significación de Tukey para los productos cárnicos crudos a partir de paiche (Factor A)





La figura 9 muestra los valores de Tukey ($p < 0,05$) donde se encontró diferencia significativa en el pH, obteniendo el mayor valor en el grupo B con valores de 6,19. Mientras que el menor valor evaluado corresponde a la mojama y (5,93) para la Hamburguesa.

En acidez, se encontró diferencia significativa en la mojama con un valor alto de media de (0,40) y el menor valor evaluado para la Hamburguesa con (0,29).

En humedad no se encontró diferencia significativa, reflejando una media para la Hamburguesa de (27,07) y (26,23) para mojama.

En el caso d ceniza no se encontró diferencia significativa, obteniendo valores de (4,79) para la mojama y (4,74) para la Hamburguesa.

En grasa se encontró diferencia significativa, con el valor más alto de media (27,06) para la Hamburguesa y el menor valor evaluado para mojama (14,22).

Por último, en proteína expone una diferencia significativa, siendo la mojama el valor más alto de la media con (32,32) y Hamburguesa el menor valor evaluado (14,64).

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos Factor B (Tipo de bacteria ácido láctica)

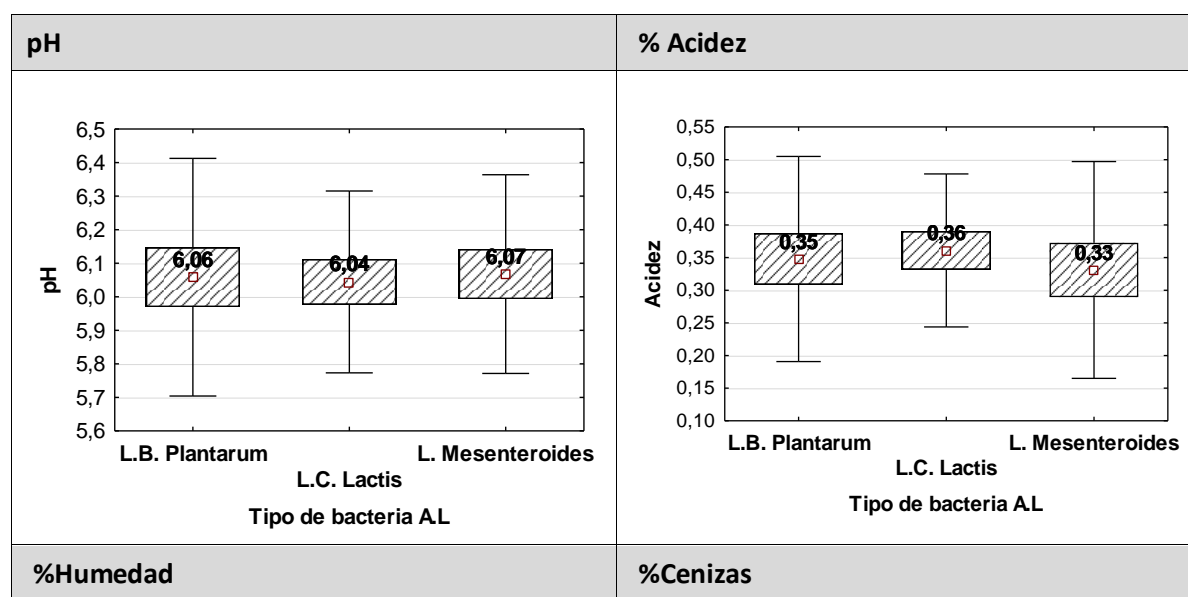
Tabla 27.

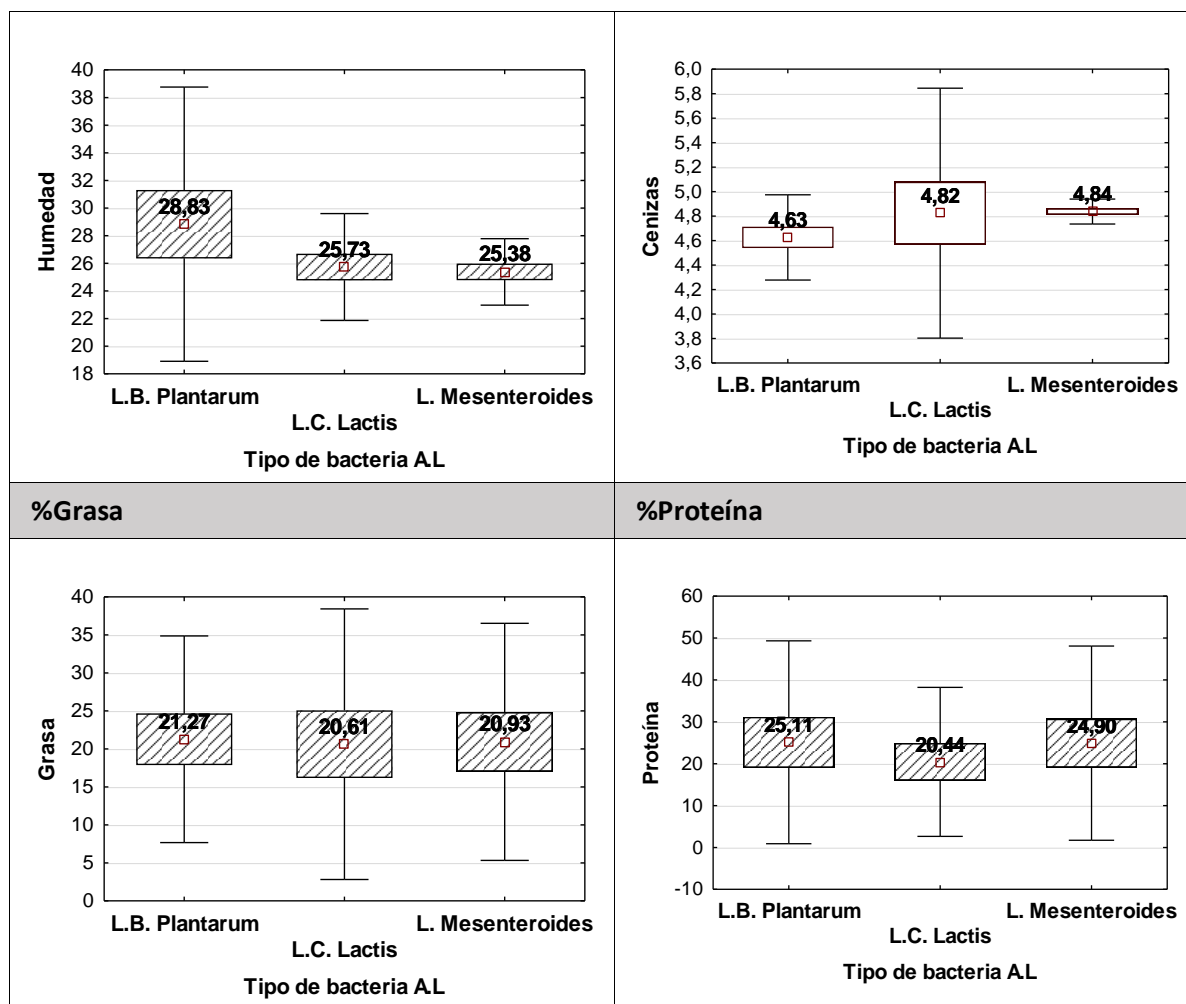
Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos para el Factor B (Tipo de bacteria ácido lácticas).

Tipos de bacteria A. L	pH	Acidez	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína
B0: <i>L.B. Plantarum</i>	6,06 ^B	0,35 ^A	28,83 ^A	4,63 ^A	21,27 ^A	25,11 ^C
B1: <i>L.B. Lactis</i>	6,04 ^A	0,36 ^A	25,73 ^A	4,82 ^A	20,61 ^A	20,44 ^A
B2: <i>L.B. Mesenteroides</i>	6,07 ^B	0,33 ^A	25,38 ^A	4,84 ^A	20,93 ^A	24,90 ^B

Figura 10.

Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos para el (Factor B)





La figura 11 muestra los valores de Tukey ($p < 0,05$) resumidos de acuerdo con las variables evaluadas se mostró diferencia significativa en el pH y los valores más espigados se encontraron en el grupo B: *L. mesenteroides* 6,07 y *L. Plantarum* con 6,06. Mientras que *L. lactis* fue el grupo A con el menor valor evaluado 6,04.

La acidez no refleja diferencia significativa y los valores rondan 0,36 para *L. lactis*, 0,35 para *L. plantarum* y 0,33 para *L. mesenteroides*.

La humedad no presenta diferencia significativa y los valores se encuentran entre 28,83 para *L. plantarum*, 25,38 para *L. mesenteroides* y 25,73 para *L. lactis*.

En caso de la ceniza no presenta diferencia significativa y los valores se encuentran en 4,63 para *L. plantarum*, 4,48 para *L. mesenteroides* y 4,82 para *L. lactis*.

La grasa no existe diferencia significativa y los valores se encuentran entre 21,27 para *L. plantarum*, 20,93 para *L. mesenteroides* y 20,61 para *L. lactis*.

La proteína muestra diferencia significativa y el valor más alto es para el grupo C: *L. plantarum* con un valor de 25,11. Mientras que el menor valor observado corresponde al grupo A: *L. lactis* con el valor 20,40.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos Factor C (Concentraciones)

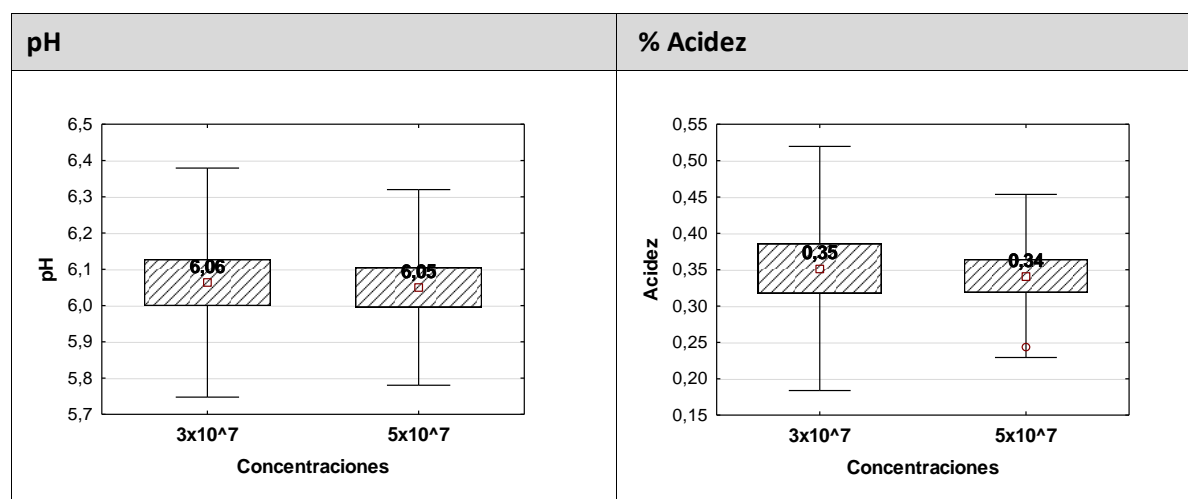
Tabla 28.

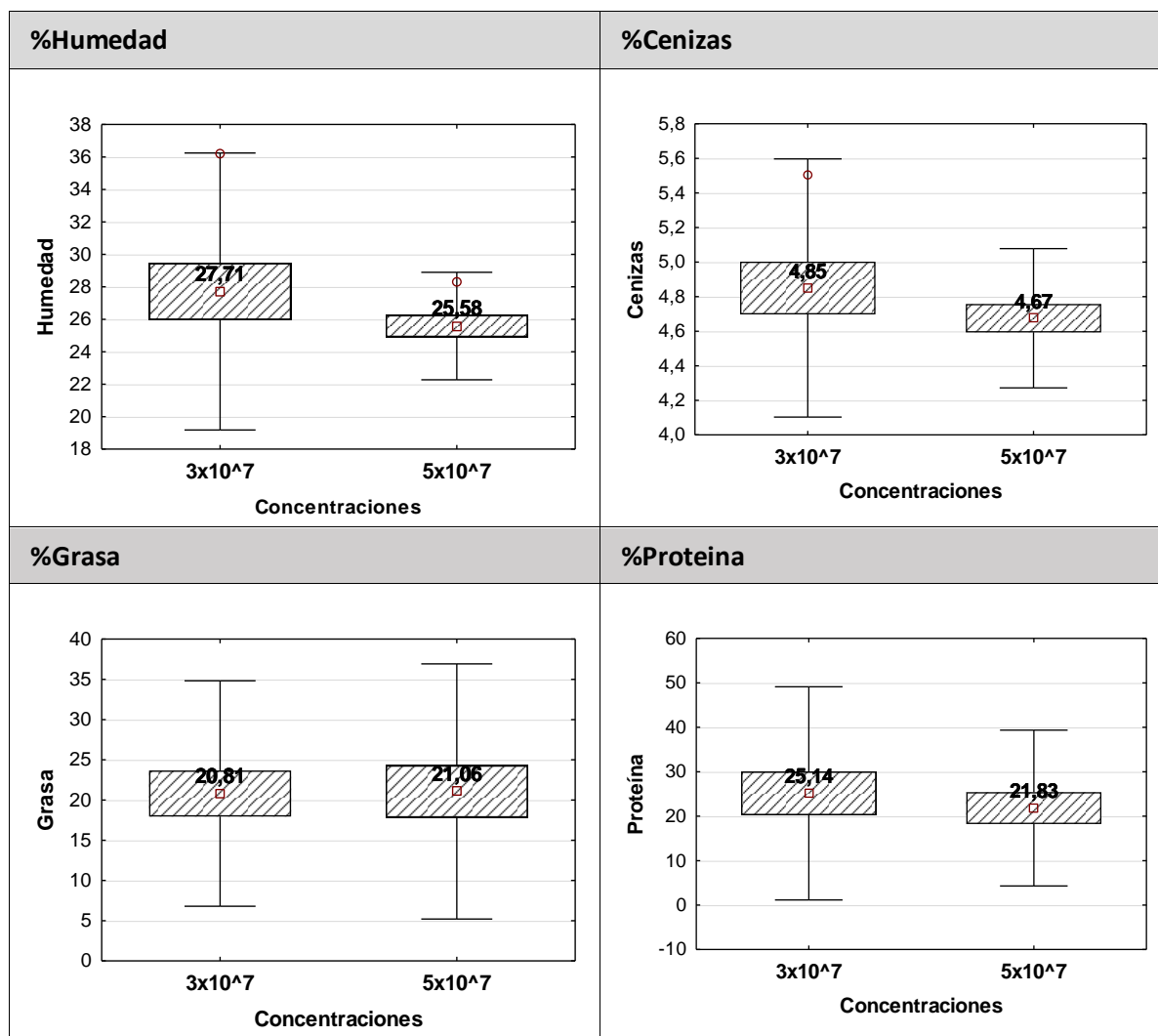
Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos (Factor C)

Concentraciones	pH	Acidez	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína
C0: 3×10^7	6,06 ^B	0,35 ^A	27,71 ^A	4,85 ^A	20,81 ^A	25,14 ^B
C1: 5×10^7	6,05 ^A	0,34 ^A	25,58 ^A	4,67 ^A	21,06 ^A	21,83 ^A

Figura 11.

Prueba de significación de Tukey para la concentración de la solución bacteriana (Factor C)





La figura 11 se muestran los valores de Tukey ($p < 0,05$) resumidos de acuerdo con las variables evaluadas, se encontró diferencia significativa en el pH y el valor más alto se encontró en el grupo B: 6,06 en la concentración 3×10^7 UFC/ml. Mientras que el valor más reducido se encontró en el grupo A: 6,05 en la concentración 5×10^7 UFC/ml.

En el caso de acidez, no se encontró una diferencia significativa, observando valores que se encuentran entre 0,35 en la concentración 3×10^7 UFC/ml y 0,34 en la concentración 5×10^7 UFC/ml.

Para humedad no se encontró una diferencia significativa, sin embargo, se obtuvo valores que rondan el 27,71 para la concentración 3×10^7 UFC/ml y (25,58) para la concentración 5×10^7 UFC/ml.

En ceniza no se encontró una diferencia significativa, reflejando valores que se encuentran entre 4,85 para la concentración 3×10^7 UFC/ml y (4,67) para la concentración 5×10^7 UFC/ml.

En grasa no se obtuvo una diferencia significativa y los valores circundan entre 20,81 para la concentración 3×10^7 UFC/ml y 21,06 para la concentración 5×10^7 UFC/ml.

En el caso de proteína se obtuvo diferencia significativa y se encontró un valor más alto en la concentración 3×10^7 UFC/ml con un valor de 25,14(B) frente al valor 21,83(A) en la concentración 5×10^7 UFC/ml.

Prueba de significancia de (Tukey $p < 0,05$) para resultados de análisis bromatológicos de la (Interacción ABC: Concentración * Tipo de producto * Tipo de bacteria ácido lácticas)

Tabla 29.

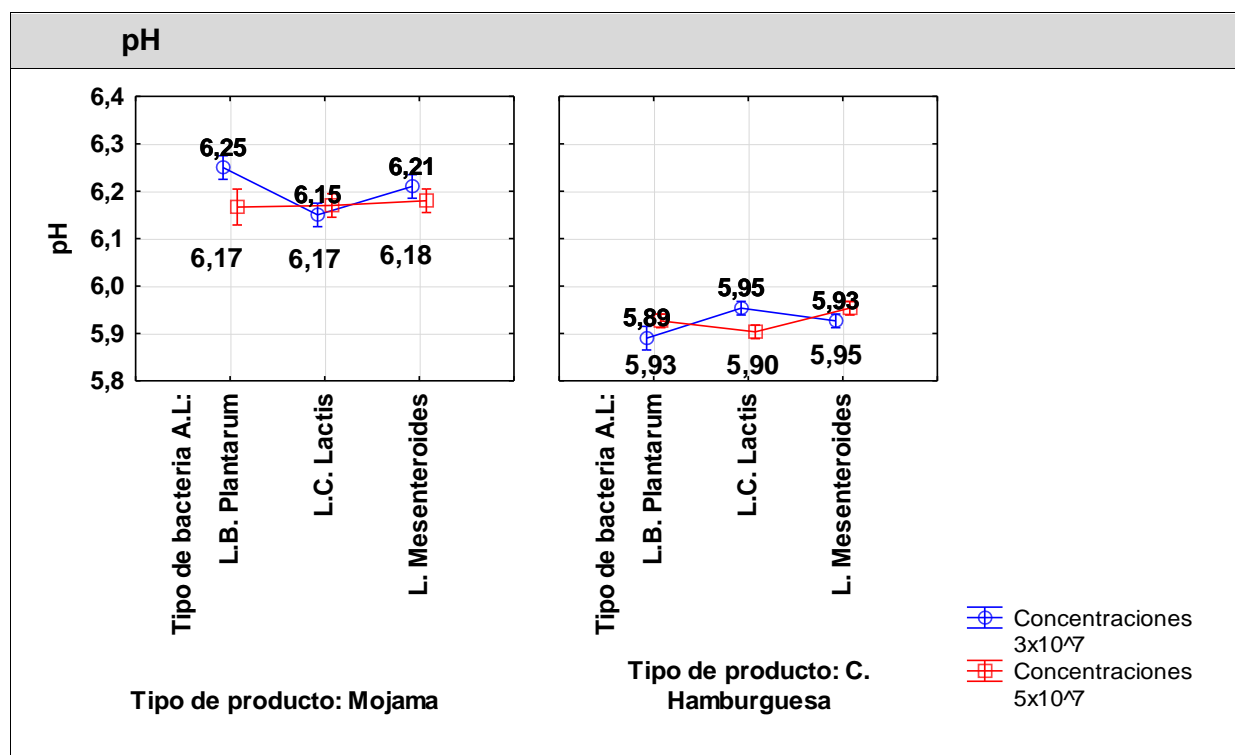
Prueba de significación de Tukey para resultados de análisis bromatológicos de la (Interacción ABC)

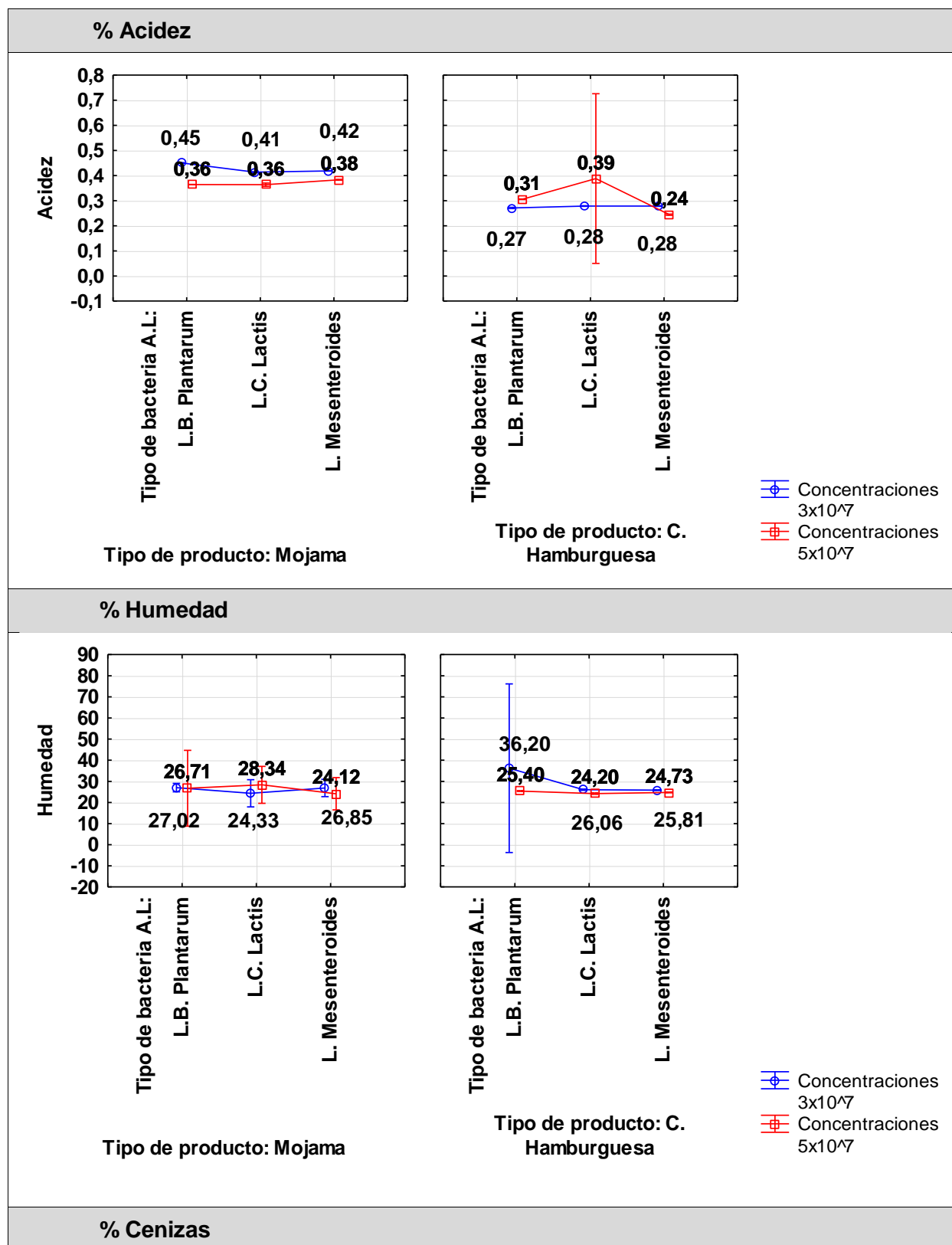
Interacciones	pH	Acidez	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína
a0b0c0: Mojama + <i>L. plantarum</i> + 3×10^7	6,25 ^G	0,45 ^E	27,02 ^A	4,42 ^A	15,92 ^C	36,66 ^I
a0b0c1: Mojama + <i>L. plantarum</i> + 5×10^7	6,17 ^{DE}	0,36 ^{BCD} _E	26,71 ^A	4,68 ^A	14,90 ^{BC}	34,47 ^H
a0b1c0: Mojama + <i>L. lactis</i> + 3×10^7	6,15 ^D	0,41 ^{DE}	24,33 ^A	5,50 ^A	13,90 ^{ABC}	32,84 ^G
a0b1c1: Mojama + <i>L. lactis</i> + 5×10^7	6,17 ^{DE}	0,36 ^{BCD} _E	28,34 ^A	4,45 ^A	11,98 ^A	20,96 ^E
a0b2c0: Mojama + <i>L. mesenteroides</i> + 3×10^7	6,21 ^F	0,42 ^{DE}	26,85 ^A	4,80 ^A	13,66 ^{AB}	38,38 ^J
a0b2c1: Mojama + <i>L. mesenteroides</i> + 5×10^7	6,18 ^E	0,38 ^{BCD} _E	24,12 ^A	4,89 ^A	14,94 ^{BC}	30,63 ^F
a1b0c0: Hamburguesa + <i>L. plantarum</i> + 3×10^7	5,89 ^A	0,27 ^{AB}	36,20 ^A	4,58 ^A	27,70 ^{DEF}	14,96 ^C

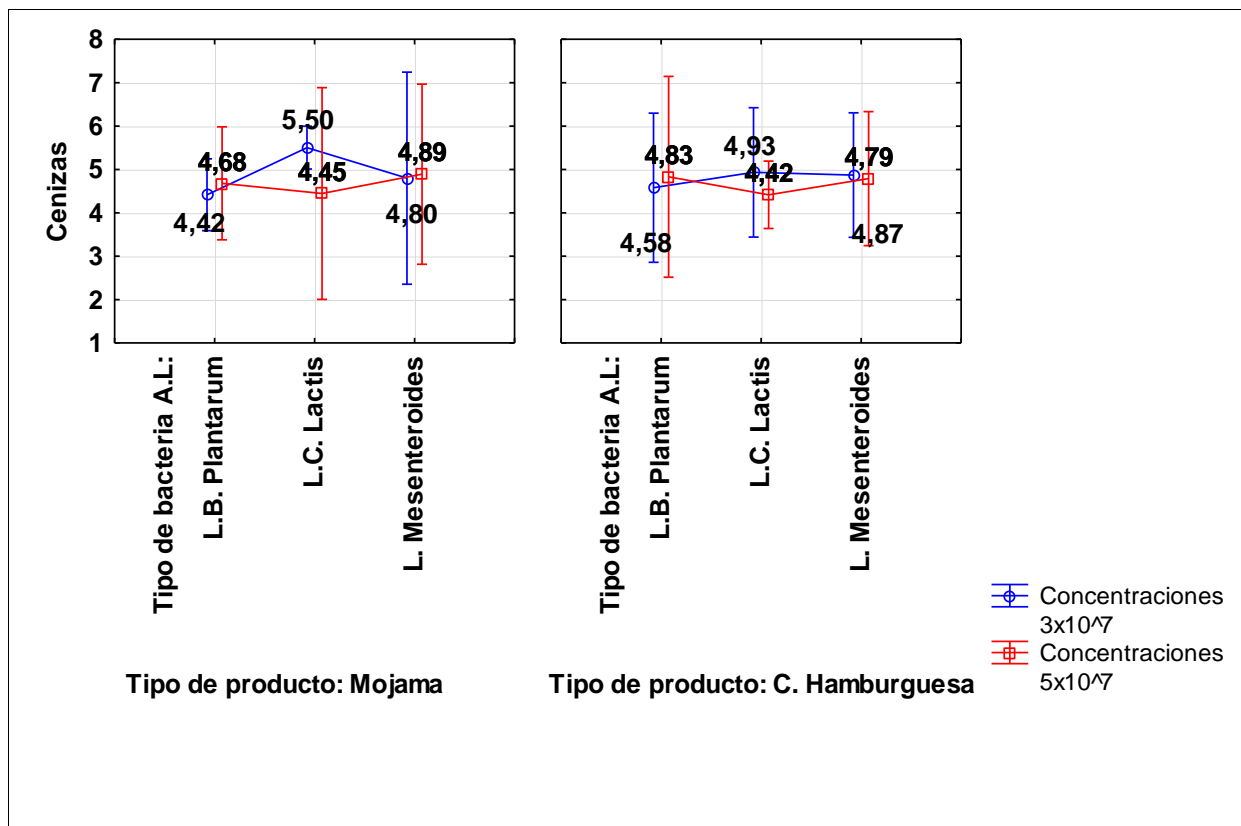
Interacciones	pH	Acidez	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína
a1b0c1: Hamburguesa + <i>L. plantarum</i> + 5x10 ⁷	5,93 ^{BC}	0,31 ^{ABC} _D	25,40 ^A	4,83 ^A	26,57 ^{DE}	14,33 ^B
a1b1c0: Hamburguesa + <i>L. lactis</i> + 3x10 ⁷	5,95 ^C	0,28 ^{ABC}	26,06 ^A	4,93 ^A	27,87 ^{DEF}	14,13 ^{AB}
a1b1c1: Hamburguesa + <i>L. lactis</i> + 5x10 ⁷	5,90 ^{AB}	0,39 ^{CDE}	24,20 ^A	4,42 ^A	28,71 ^{EF}	13,81 ^A
a1b2c0: Hamburguesa + <i>L. mesenteroides</i> + 3x10 ⁷	5,93 ^{BC}	0,28 ^{ABC}	25,81 ^A	4,87 ^A	25,83 ^D	13,85 ^{AB}
a1b2c1: Hamburguesa + <i>L. mesenteroides</i> + 5x10 ⁷	5,95 ^C	0,24 ^A	24,73 ^A	4,79 ^A	29,29 ^F	16,75 ^D

Figura 12.

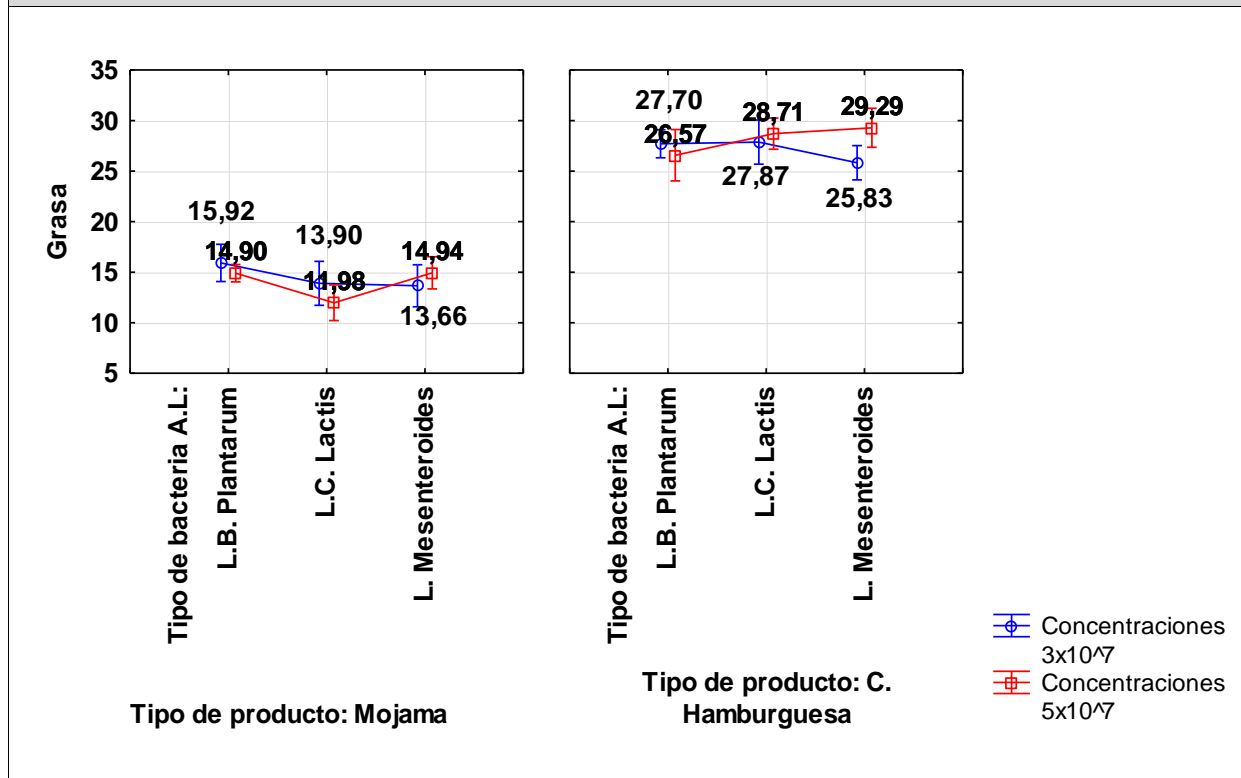
Prueba de significación de Tukey para Concentración*Tipo de producto*Tipo de bacterias ácido lácticas (Interacción A*B*C).



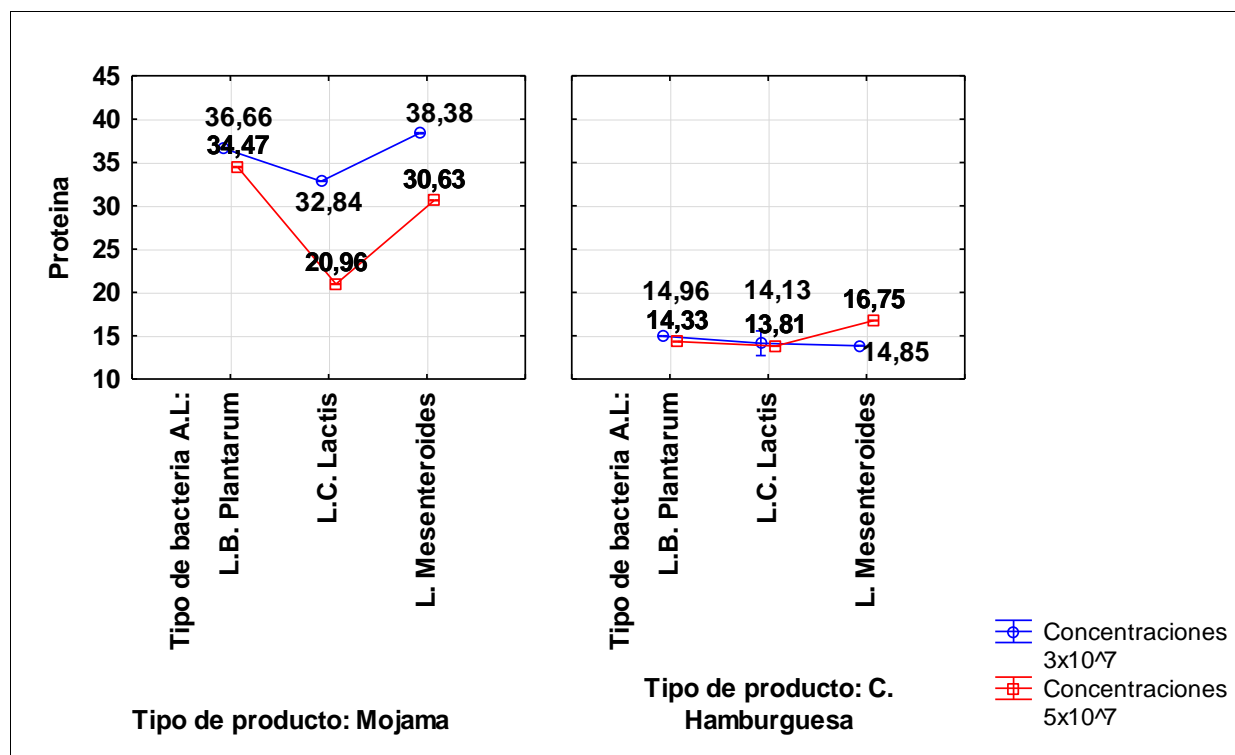




% Grasa



% Proteína



La figura 12 indica diferencia significativa en pH y establece distintos grupos, de los cuales el mayor valor se encontró en el grupo F: **(a0b2c0)** Mojama + *L. Mesenteroides* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 6,21. Mientras que los valores más bajos se observaron en el grupo A: **(a1b0c0)** C. hamburguesa + + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 5,89 y AB: **(a1b1c1)**: C. Hamburguesa + *L.C. Lactis* + 5×10^7 UFC/ml con un valor de 5,90.

En acidez, se encontró diferencia significativa y el valor más alto corresponde al grupo E: **(a0b0c0)** Mojama + *L. plantarum* + 3×10^7 con un valor de 0,45, **(a0b1c0)** Mojama + *L. lactis* + 5×10^7 con un valor de 0,41, **(a0b2c0)** Mojama + *L. mesenteroides* + 3×10^7 con un valor de 0,42, **(a0b0c1)** Mojama + *L. plantarum* + 5×10^7 con un valor de 0,36, **(a0b1c1)** Mojama + *L. lactis* + 5×10^7 con un valor de 0,36 y **(a0b2c1)** Mojama + *L. mesenteroides* + 5×10^7 con un valor de 0,38. Mientras que los valores bajos se encontraron en el grupo A: **(a1b2c1)** hamburguesa + *L. mesenteroides* + 5×10^7 con un valor de 0,24, **(a1b2c0)** hamburguesa + *L. mesenteroides* + 3×10^7 con un valor de 0,28, **(a1b1c0)** C.

hamburguesa + *L. lactis* + 3×10^7 con un valor de 0,28, **(a1b0c0)** hamburguesa + *L. plantarum* + 3×10^7 con un valor de 0,27 y **(a1b0c1)** hamburguesa + *L. plantarum* + 5×10^7 con un valor de 0,31.

En humedad no se obtuvo una diferencia significativa entre los grupos y sus valores rondaron en un rango de 24,12 **(a1b0c0)** hamburguesa + *L. plantarum* + 3×10^7 a 36,20 **(a0b2c1)** Mojama + *L. meserentenoides* + 5×10^7 con un valor de 24,12.

En ceniza no se obtuvo diferencia significancia entre los tratamientos, sin embargo los valores oscilaron entre 5,50 para el tratamiento **(a0b1c0)** Mojama + *L. lactis* + 3×10^7 a 4,42 en **(a0b0c0)** Mojama + *L. plantarum* + 3×10^7 y **(a1b1c1)** C. hamburguesa + *L. lactis* + 5×10^7 .

En el caso de grasa se observo diferencia significativa y los valores más altos se mostraron en el grupo F: **(a1b2c1)** hamburguesa + *L. meserentenoides* + 5×10^7 con un valor de 29,29, **(a1b1c1)** hamburguesa + *L. lactis* + 5×10^7 con un valor de 28,71, **(a1b1c0)** hamburguesa + *L. lactis* + 3×10^7 con un valor de 27,87 y **(a1b0c0)** hamburguesa + *L. lactis* + 3×10^7 con un valor de 27,70. Mientras que los de menores valores, se observaron en el grupo A: **(a0b1c1)** hamburguesa + *L. lactis* + 5×10^7 con un valor de 11,98, **(a0b2c0)** Mojama + *L. meserentenoides* + 3×10^7 con un valor de 13,66 y **(a0b1c0)** Mojama + *L. lactis* + 3×10^7 con un valor de 13,90.

La proteína arrojó diferencia significativa y el grupo con mayor valor fue el grupo J: **(a0b2c0)** Mojama + *L. Meserentenoides* + 3×10^7 con un valor de 38,38. Mientras que los valores menores se observaron en el grupo A: **(a1b1c1)** Mojama + *L. lactis* + 5×10^7 con un valor de 13,81, **(a1b1c0)** Mojama + *L. lactis* + 3×10^7 con un valor de 14,13 y **(a1b2c0)** Mojama + *L. meserentenoides* + 3×10^7 con un valor de 13,85.

Análisis microbiológico**Recuento de microorganismos aerobios**

Tabla 30.

Recuento de microorganismos aerobios en los tratamientos a los días 15 para la mojama y a los días 7 para la carne de hamburguesa.

Tratamiento	UFC/ml
T1	3×10^4
T2	$1,5 \times 10^2$
T3	$1,7 \times 10^4$
T4	2×10^3
T5	$3,2 \times 10^3$
T6	$2,2 \times 10^2$
T7	$3,2 \times 10^3$
T8	$2,5 \times 10^3$
T9	$1,8 \times 10^4$
T10	$3,7 \times 10^3$
T11	$3,8 \times 10^4$
T12	$3,3 \times 10^4$

La tabla 30 muestra el número de microorganismos presentes en las muestras de mojama y hamburguesa a los 15 y 7 días respectivamente, el conteo se lo realizó a una dilución de 10^{-5} . Después del conteo se determinó que el tratamiento con mayor crecimiento de aerobios fue el tratamiento T11, este tratamiento es la hamburguesa con la bacteria *L. mesenteroides* y una

concentración de 3×10^7 . El tratamiento con menor crecimiento de aerobios fue el tratamiento T2, este tratamiento es la mojama con la bacteria *L. plantarum* y con concentración de 5×10^7 UFC/ml, con un crecimiento bacteriano de $1,5 \times 10^2$ UFC/ml.

Recuento de mohos y levaduras

Tabla 31.

Recuento de mohos y levaduras en los tratamientos a los días 15 para la mojama y a los días 7 para la carne de hamburguesa.

Tratamiento	UFC/ml
T1	$1,3 \times 10^{-3}$
T2	$2,2 \times 10^{-3}$
T3	$1,7 \times 10^{-4}$
T4	$1,5 \times 10^{-2}$
T5	$2,1 \times 10^{-3}$
T6	$2,2 \times 10^{-2}$
T7	$2,5 \times 10^{-3}$
T8	$1,2 \times 10^{-4}$
T9	$1,9 \times 10^{-2}$
T10	$1,8 \times 10^{-2}$
T11	$2,8 \times 10^{-3}$
T12	$2,4 \times 10^{-3}$

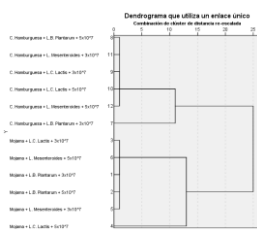
En la tabla 31 se observa el número de microorganismos presentes en las muestras de mojama y hamburguesa a los 15 y 7 días respectivamente, el conteo se lo realizó a una disolución de

10^{-5} . Después del conteo se determinó que el tratamiento con mayor crecimiento de mohos y levaduras fue el T4, el cual es la mojama, la bacteria *L. lactis* con una concentración de 5×10^7 UFC/ml y el que menor crecimiento de mohos y levaduras se encontró fue el tratamiento T8, hamburguesa + *L. plantarum* + 5×10^7 UFC/ml.

Análisis de conglomerados

Figura 13.

Dendrograma para los factores de estudio.



En la figura 13 se muestra un dendrograma mediante un Clúster jerárquico donde se observan las proximidades entre los tratamientos evaluados con respecto a los parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, pérdida de humedad, ceniza, grasa y proteína). Se obtuvo dos estrechas relaciones, la primera

muestra una relación entre los tratamientos hamburguesa + *L. plantarum* + 5×10^7 UFC/ml, hamburguesa + *L. mesenteroides* + 3×10^7 UFC/ml, hamburguesa + *L. lactis* + 3×10^7 UFC/ml, hamburguesa + *L. lactis* + 5×10^7 UFC/ml y hamburguesa + *L. mesenteroides* + 5×10^7 UFC/ml. En la segunda, se muestra una estrecha relación entre los tratamientos Mojama + *L. lactis* + 3×10^7 UFC/ml, Mojama + *L. mesenteroides* + 5×10^7 UFC/ml, Mojama + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml, Mojama + *L. plantarum* + 5×10^7 UFC/ml y Mojama + *L. mesenteroides* + 3×10^7 UFC/ml.

Por otro lado, se muestra que los tratamientos hamburguesa + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml y el tratamiento Mojama + *L. lactis* + 5×10^7 UFC/ml fueron los grupos que menor relación presentaron con respecto a los demás tratamientos, obteniéndose longitudes de línea de unión entre 10 y 15.

Análisis de componentes principales

Tabla 32.

Matriz de correlaciones de los componentes principales evaluados.

Matriz de correlaciones							
	pH	Acidez	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína	
Correlación	pH	1,000	,796	-,180	,041	-,948	,926
	Acidez	,796	1,000	-,261	-,048	-,761	,796
	Humedad	-,180	-,261	1,000	-,363	,105	-,151
	Cenizas	,041	-,048	-,363	1,000	-,119	,155
	Grasa	-,948	-,761	,105	-,119	1,000	-,852
	Proteína	,926	,796	-,151	,155	-,852	1,000

En la tabla 32 muestra que existen 3 correlaciones, la primera se presenta en las variables acidez y proteína con un valor de 0,796, la segunda está dada entre las variables pH y proteína con un valor de 0,926 y la tercera correlación se observó entre las variables pH y acidez con un valor de 0,796. Así también se encontró tres correlaciones negativas La primera se observó entre la grasa y la proteína con

un valor de -0,852, la segunda entre la grasa y el pH con un valor de -0,948 y la tercera entre la acidez y el pH con un valor de -0,796.

Tabla 33.

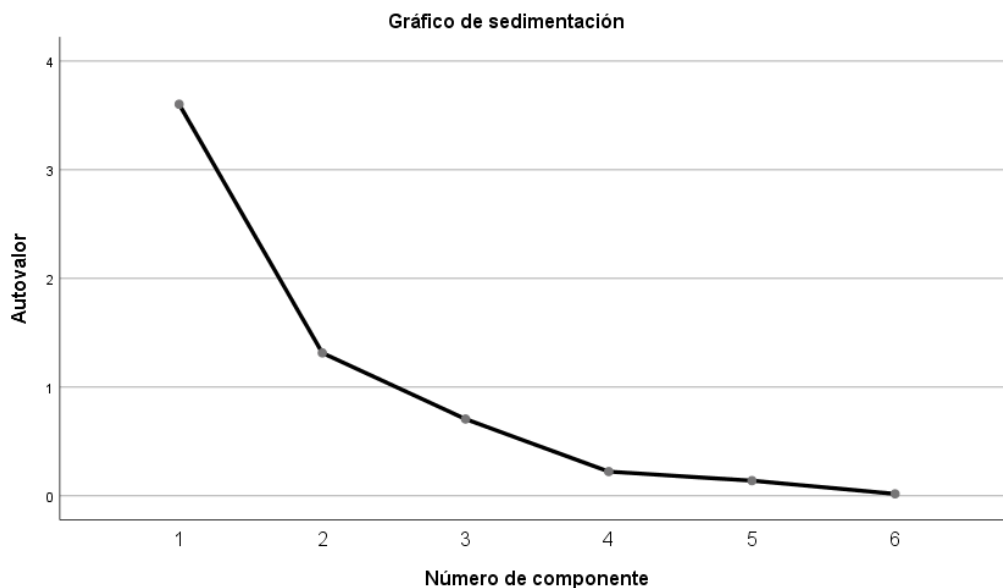
Porcentajes de la varianza total explicada

Varianza total explicada						
Componente	Autovalores iniciales			Sumas de cargas al cuadrado de la extracción		
	Total	% de varianza	% acumulado	Total	% de varianza	% acumulado
1	3,602	60,042	60,042	3,602	60,042	60,042
2	1,314	21,898	81,940	1,314	21,898	81,940
3	,705	11,757	93,697	,705	11,757	93,697
4	,222	3,701	97,398	,222	3,701	97,398
5	,139	2,312	99,710	,139	2,312	99,710
6	,017	,290	100,000			

La tabla 33 muestra porcentajes de varianza de los 6 componentes evaluados, en donde los componentes con una mayor variabilidad son 1 y 2. En cuanto al % de varianza de cada componente se obtuvo un 60,042% de varianza para el componente 1 y un 21,898% de varianza para el componente 2.

Figura 14.

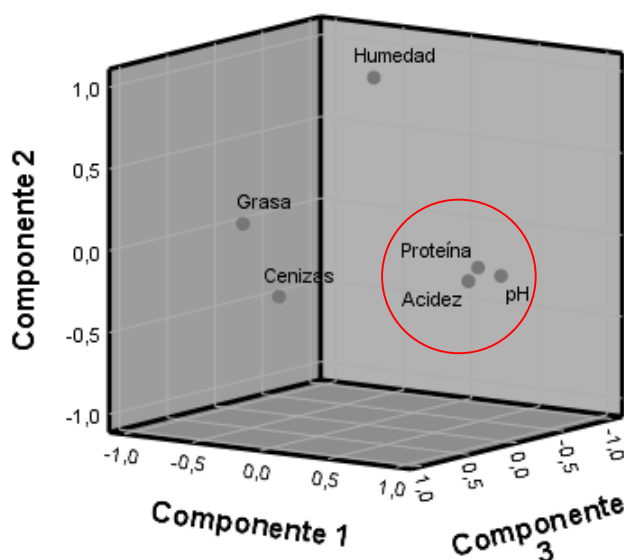
Gráfico de sedimentación de los componentes principales



En la figura 14 se detalla la pendiente que corresponde al nivel de variabilidad de cada una de las variables que conforman cada componente, arrojando que el componente 1 y 2 fueron los que cooperaron a la variabilidad de datos de todas las variables, con autovalores de 3,602 y 1,314 respectivamente; En tanto que en los componentes 5 y 6 fue donde menos variabilidad entre variables se encontró, lo cual permite aseverar que los datos de las variables que conforman estos componentes están correlacionados fuertemente, ya sea de una manera positiva o negativa.

Figura 15.

Gráfico de componentes en espacio rotado mediante Kaiser-varimax



En la figura 15 detalla que tan correlacionadas están las variables entre sí. Se obtuvo una fuerte correlación entre la variable pH, acidez y la proteína. Así también no se obtuvo una correlación entre las variables humedad, grasa y cenizas.

Capítulo V

Discusión

Las enfermedades transmitidas por alimentos ETA son muy relevantes alrededor del mundo en los sistemas de salud pública debido a sus índices de mortalidad. Según un estudio realizado por (Cortés-Sánchez, A. D. J., 2018) el pescado es un alimento muy nutritivo y de fácil deterioro en la cadena alimentaria humana, convirtiéndolo en un potencial riesgo a la salud. Ante esta problemática el uso de BAL es un serio representante en la producción y conservación de alimentos.

En los últimos años se ha acrecentado el consumo de alimentos libres de productos químicos utilizados como conservantes. Para esta problemática se ha demostrado que la función de las bacterias ácido lácticas BAL es de vital importancia, ya que ayudan a la generación, conservación

e inocuidad de los alimentos a través de la producción de metabolitos bioactivos (bacteriocinas) (Cortés-Sánchez, A. D. J. 2018).

Un estudio realizado por (Tenea et al., 2018) donde evaluaron el efecto inhibitor de las sustancias producidas por cepas nativas de *Lactococcus lactis* de frutos tropicales versus un tratamiento de *Salmonella enterica* ATCC 51741 Y *Escherichia coli* ATCC 25922 arrojó una inhibición completa a las 3 h para *E. coli* y de 3 a 7 h para *S. enterica*. Este resultado permite aseverar que las cepas nativas de *Lactococcus lactis* tienen una excelente función bactericida frente a patógenos que comúnmente se encuentran en los alimentos.

Respecto a los tipos de producto mojama y hamburguesa (Factor A)

De acuerdo con los resultados obtenidos en cuanto al pH. Las normas INEN, 2016 establecidas para carne y menudencias comestibles de animales de abasto menciona que el valor del pH se debe encontrar en valores menores a 7 y mayores a 5,5, los valores de pH obtenidos en mojama y hamburguesa son 6,19 y 5,93, los mismos que se encuentran dentro de estos parámetros. Así también en un estudio desarrollado por (Granja Cedeño., 2022) obtuvo valores de pH entre 6,05 a 6,44.

En el caso de la acidez se observaron valores de 0,29% para Mojama y 0,40% para la carne de hamburguesa, en contraste con este parámetro, en el estudio desarrollado por (Granja Cedeño., 2022) en la especie *O. niloticus* obtuvo resultados similares de 0,24% a 0,39%. Mientras que, en la especie *O. mossambicus* obtuvo resultados inferiores de 0,24% a 0,36%. Según un estudio desarrollado por (Cao., et al., 2015) el aumento de los valores de acidez se debe principalmente a la acción de las bacterias ácido lácticas BAL en la formación de ácido acético y ácido láctico que impiden el crecimiento de microorganismos que afectan a la salud de los consumidores de pescado.

Con respecto al porcentaje de humedad se obtuvo valores de 26,23% para Mojama y 27,07% para hamburguesa, estos valores se encuentran por debajo de los valores encontrados por (Neira Mosquera., et al., 2020) en conservas de paiche con valores que van de 45,66% a 63,01%. (Silva et al., 2017) mencionan que los porcentajes de humedad que van de 67% a 80% permiten

conservar las propiedades nutricionales y a conservar la calidad de pescado impidiendo el deterioro del músculo.

En el porcentaje de ceniza se obtuvo valores de 4,74% para la carne de hamburguesa y 4,79% para mojama, estos valores son superiores a los obtenidos en el estudio de (Neira Mosquera., et al., 2020) en conservas de paiche con un valor tope de 1,97%. De igual manera estos valores se encuentran por encima del rango establecido por la FAO (2001) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura de 1,10% a 1,50%.

En cuanto a la grasa según el estudio desarrollado por (Neira Mosquera., et al., 2020) en conservas de paiche obtuvieron valores de 17,02% a 17,16% en relación con el porcentaje de grasa obtenida se obtuvieron diferencias marcadas en cuanto a la carne de hamburguesa con un 27,66% y 14,22% para mojama. Estos valores se encuentran en el parámetro establecido por (Valls., 2007) de 0,2% a 25%.

En caso del parámetro proteína en el estudio desarrollado por (Neira Mosquera., et al., 2020) en conservas de paiche obtuvieron un valor tope de 21,06%, en relación a los resultados obtenidos se obtuvo una diferencia en cuanto al porcentaje de proteínas para la carne de hamburguesa con un 14,64% y 32,32% para mojama. Mientras que según el parámetro establecido por (Valls., 2007) que comprende del 15% al 27% para valores aceptables en proteína bruta para filetes de pescado, la carne de hamburguesa no se encuentra en el mínimo y la mojama sobrepasa los valores de proteína bruta establecidos.

Respecto a los tipos de bacteria *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus Plantarum* (Factor B)

En el parámetro pH se obtuvieron valores de 6,06 para *L. plantarum*, 6,04 para *L. lactis* y 6,07 para *L. mesenteroides*. Estos valores reportados están entre la media de los descritos en la normativa técnica INEN (2013). Por otro lado, en un estudio desarrollado por (Jurado Gálvez., et al., 2009) en inóculos de *S. carnosus* y *L. acidophilus* reportaron que los inóculos alcanzaron un pH de 3,6% y 3,7% en carne molida de cerdo con viabilidades de 1×10^{16} y 1×10^{13} UFC/mL respectivamente.

Con relación a la variable acidez se obtuvieron valores de 0,35% para *L. plantarum*, 0,36% para *L. lactis* y 0,33% para *L. meserentenooides*. Estos valores son superiores a los encontrados por (Muñoz Guzmán., 2022) aplicando *L. lactis* en la conservación de brócoli y calabacín obteniendo valores de 0,13% a 0,19%. La acidez se ve influenciada por la producción de ácidos orgánicos por parte de la bacteria *L. lactis*, ya que al emplear una cantidad elevada de UFC/ml propicia una formación exponencial de los mismos.

En el caso del parámetro Humedad se obtuvieron valores de 28,83% para *L. plantarum*, 25,73% para *L. lactis* y 25,38% para *L. meserentenooides*. Según una investigación desarrollada por (Chávez., 2015) establece que el contenido máximo de humedad es de 75,84%, comparando con los resultados obtenidos se demuestra que estamos dentro de lo establecido por dicho autor.

Para la variable ceniza se obtuvieron valores de 4,63% para *L. plantarum*, 4,82% para *L. lactis* y 4,84% para *L. meserentenooides*. Estos valores son superiores al rango que ofrece la (FAO., 2001) de 1,02% a 1,50%.

En el parámetro grasa se observaron valores de 21,27% para *L. plantarum*, 20,61% para *L. lactis* y 24,93% para *L. meserentenooides*. Según un estudio realizado por (Chávez., 2015), se obtuvieron valores superiores al porcentaje máximo de grasa establecido de 17% para el paiche.

En la proteína se observaron valores altos de 25,11% para *L. plantarum*, 20,44% para *L. lactis* y 24,90% para *L. meserentenooides*. De acuerdo con (Neira M., et al., 2020) en la elaboración de conservas de paiche obtuvieron un valor tope de 21,06%, siendo los mejores valores obtenidos por las bacterias *L. plantarum* y *L. meserentenooides*.

Respecto a las concentraciones 5×10^7 UFC/ml y 3×10^7 UFC/ml (Factor C)

En este estudio los valores de pH obtenidos fueron alrededor de 6,05 y 6,06 en las dos concentraciones 5×10^7 UFC/ml y 3×10^7 UFC/ml. Valores que están por debajo de lo reportado por (Granja Cedeño., 2022) quien presenta valores tratados con 10,15% y 20% de cloruro de sodio y BAL obtuvo valores superiores a los reportados en el día 10 con valores entre 6,09 a 6,23, concordando con la normativa técnica (INEN., 2013).

En el caso de los valores de acidez fueron de 0,34 % para una concentración de 5×10^7 UFC/ml y de 0,35% para una concentración de 3×10^7 UFC/ml, en relación con el estudio realizado por (Granja Cedeño., 2022) con tratamientos tratados con 10,15% y 20%, donde obtuvo valores similares de acidez de 0,34% a 0,39%. Según el estudio de (Rodríguez., et al., 2009) los valores de acidez controlan el estado de deterioro del pescado, aportando que a menor acidez mayor es la rancidez del pescado.

De acuerdo con los valores de humedad obtenidos de 27,71% para la concentración de 3×10^7 UFC/ml y 25,58% para la concentración de 5×10^7 UFC/ml. Se obtuvieron resultados inferiores en relación con la investigación de (Granja Cedeño., 2022) con tratamientos tratados con 10,15% y 20% de BAL al día 10, donde obtuvo valores de 73,66% a 76, 74% y de igual manera se contrasta con los resultados de la investigación de (Mera., 2015).

En la variable cenizas, se obtuvo valores de 4,67% para la concentración de 5×10^7 UFC/ml a 4,85% para la concentración de 3×10^7 UFC/ml, estos valores se encuentran sobre el rango establecido por la FAO (2001) que va de 1,02% a 1,50%. Así también difiere de los valores obtenidos por (Granja Cedeño., 2022) de 1,03% a 1,45%.

En el parámetro grasa se obtuvo valores de 20,81% para la concentración de 3×10^7 UFC/ml a 21,06% para la concentración de 5×10^7 UFC/ml. Estos valores concuerdan con el valor nutritivo aceptable de pescado de 0,2% a 25% de grasa establecido por (Valls., 2007). Así como se muestra una variación en los valores de (Granja Cedeño., 2022) en la variable grasa con valores de 4,04% con el 20% de cloruro de sodio con BAL, 3,45% con el 10% de cloruro de sodio con BAL y 4,73% con el 15% de cloruro de sodio con BAL.

En el caso del parámetro proteína se obtuvo valores con una diferencia significativa de 21,83% para la concentración de 5×10^7 UFC/ml a 25,14% para la concentración de 3×10^7 UFC/ml. Estos resultados son superiores al rango encontrado por (Contreras y Cardiles., 2013) de 16,5% a 18,4%. Sin embargo, se encuentra en el parámetro establecido por (Valls., 2007) de 15% a 39%.

Respecto a la interacción A*B*C (Tipos de productos* Concentraciones* Tipo de bacteria)

En el pH se observó una diferencia significativa entre los tratamientos, se obtuvo un valor mayor de pH en los siguientes tratamientos (**a0b2c0**) Mojama + *L. mesenteroides* + 3×10^7 UFC/ml,

con un valor de 6,21. Por otro lado, se obtuvo un menor valor para los tratamientos **(a1b0c0)** hamburguesa + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml con una media de 3,75.

En el caso de la acidez titulable se encontró una diferencia significativa entre los tratamientos, obteniendo un mayor valor de media para el tratamiento **(a0b0c0)** Mojama + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de media correspondiente a 0,45%. Por otra parte, se obtuvo un menor valor de media para el tratamiento **(a1b2c1)** hamburguesa + *L. meserentenoides* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 0,24%. Según (Parra., 2010) la acidez involucra directamente la formación de ácidos orgánicos como ácido acético y ácido láctico por parte de las bacterias ácido lácticas BAL.

En los resultados de humedad se obtuvo un mayor valor de media para el tratamiento **(a1b0c0)** hamburguesa + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml con una media de 36,20%. Así también, se obtuvo un menor valor de media para el tratamiento **(a0b2c1)** Mojama + *L. meserentenoides* + 5×10^7 UFC/ml con un valor de 24,12%. Según (Chávez., 2015) el tope máximo para la humedad del paiche está en 74,85%, al cotejar los valores obtenidos con los del autor se demuestra que los valores están dentro del rango establecido.

En los valores de cenizas se obtuvo un mayor valor de media para el tratamiento **(a0b1c0)** Mojama + *L. lactis* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 5,50%. Por otro lado, se obtuvieron dos valores con un menor valor de media correspondientes a los tratamientos **(a0b0c0)** Mojama + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml y **(a1b1c1)** hamburguesa + *L. lactis* + 5×10^7 UFC/ml con un valor de media de 4,42%. Según Neira Mosquera et al (2020) en un estudio de conservas de paiche el valor tope para la ceniza es de 1,97%, por lo cual al comparar los valores obtenidos con los del autor se observan valores superiores que también no son lo recomendable por la FAO (2001).

En la variable grasa total el tratamiento **(a1b2c1)** y hamburguesa + *L. meserentenoides* + 5×10^7 UFC/ml presentó el porcentaje más alto de grasa con 29,29% y el tratamiento **(a0b1c1)** Mojama + *L. lactis* + 5×10^7 UFC/ml obtuvo el porcentaje menor de grasa con un valor de 11,98. Estos valores se encuentran dentro del rango establecido por (Valls., 2007) de 0,2% a 25%.

En el parámetro proteína, el tratamiento **(a0b2c0)** y Mojama + *L. meserentenoides* + 3×10^7 UFC/ml presentó el porcentaje de proteínas más alto con un valor de 38,38%, mientras que el tratamiento **(a1b1c1)** hamburguesa + *L. lactis* + 5×10^7 UFC/ml, presentó el porcentaje de

proteínas más bajo con un valor de 13, 81%. Estos resultados sobrepasan y faltan para comparar con los valores establecidos por (Contreras y Cardiles., 2013) de 16,5% a 18,4%.

Capitulo VI

Conclusiones

Respecto a los tipos de producto C. hamburguesa y Mojama (Factor A)

La elaboración de distintos productos a partir del paiche, se lo realizó con una técnica de salazón que consiste en deshidratar la carne con sal para que la conservación de este se prolongue por más tiempo.

En base a los distintos análisis fisicoquímicos realizados a la carne de hamburguesa y mojama, se pudo determinar que los valores en cuanto a las variables de pH son 6,19 y 5,93, acidez

con 0,40% y 0,29%, y grasa con 14,22% y 27,66%, para mojama y hamburguesa respectivamente cada uno de los valores, siendo estos datos reportados, óptimos para la bioconservación de productos cárnicos de paiche (*Arapaima gigas*) con bacterias ácido lácticas (BAL).

Respecto a los tipos de bacteria *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus plantarum* (Factor B)

Analizando los resultados, se obtuvieron los siguientes valores de pH en cada una de las bacterias, 6,06 para *L. plantarum*, 6,04 para *L. lactis* y 6,07 para *L. meserentenoides*, los cuales están dentro del rango según (Jurado Gálvez., et al., 2009). La acidez se ve influenciada por la producción de ácidos orgánicos, los cuales se obtuvieron valores de 0,35% para *L. plantarum*, 0,36% para *L. lactis* y 0,33% para *L. meserentenoides*, están ligeramente por arriba del promedio según (Jurado Gálvez., et al., 2009), esto es debido al aumento de la producción de ácido orgánicos.

Los valores obtenidos de humedad y proteína están dentro de los rangos, siendo estos: 28,8% para *L. plantarum*, 25,73% para *L. lactis* y 25,38% para *L. meserentenoides* en el caso de humedad y 25,11% para *L. plantarum*, 20,44% para *L. lactis* y 24,90% para *L. meserentenoides* para los valores de proteína. A diferencia de los resultados obtenidos en ceniza y grasa, siendo 4,63% para *L. plantarum*, 4,82% para *L. lactis* y 4,84% para *L. meserentenoides* y de 21,27% para *L. plantarum*, 20,61% para *L. lactis* y 24,93% para *L. meserentenoides*, respectivamente para cada uno de los parámetros.

Respecto a las concentraciones 5×10^7 UFC/ml y 3×10^7 UFC/ml (Factor C)

De acuerdo con los distintos análisis realizados a la carne de hamburguesa y mojama, se pudo determinar que las concentraciones de 5×10^7 UFC/ml obtuvo mejores valores en las variables de acidez con 0,34%, grasa con 21,06% y proteína con 21,83%, siendo estos valores óptimos en el caso del parámetro acidez para controlar el estado de deterioro del pescado.

Los valores de acidez y grasa estuvieron dentro de los parámetros en la investigación de (Granja Cedeño., 2022); para acidez fueron de 0,34% y 0,35% y en grasa entre 20,81% y 21,06%, por otro lado, los análisis realizados para humedad, ceniza y proteína que no están dentro de los rangos obtenidos por (Granja Cedeño., 2022); para humedad, los valores obtenidos fueron de 27,71% y 25,58% mientras que los rangos de la investigación de Granja fue de 10,15% y 20%, en el caso de

ceniza los valores obtenidos fueron de 4,67% y 4,85% mientras que los rangos de la investigación de Granja fue de 1,02% y 1,5%

Para el análisis microbiológico, se concluye que los tratamientos que se utilizaron en solución bacteriana al 5×10^7 UFC/ml y 3×10^7 UFC/ml el crecimiento de mohos y levaduras fue mínimo después de la aplicación.

Por lo tanto, analizados los resultados se llega a la conclusión que se rechaza la hipótesis alternativa y se acepta la nula, determinando que las concentraciones que se aplicaron no generan diferencia significativa al momento de la aplicación de las bacteriocina

Respecto a la interacción A*B*C (Tipos de productos* Concentraciones* Tipo de bacteria)

De acuerdo con los análisis fisicoquímicos realizados a los productos cárnicos; los mejores tratamientos para cada uno de los análisis fueron: al analizar el pH, el mejor tratamiento fue **(a0b2c0)** mojama + *L. mesenteroides* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 6,21, teniendo una media entre 6,05 a 6,44 (Sulistiani y Handayani., 2018).

Después de obtener los resultados de los análisis en acidez titulable, si bien, estuvo por debajo de la media (10,15% y 20%) (Valls., 2007), el mejor tratamiento fue **(a0b0c0)** Mojama + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 0,45%.

En los resultados de humedad, se obtuvo un mayor valor de media para el tratamiento **(a1b0c0)** hamburguesa + *L. plantarum* + 3×10^7 UFC/ml el cual fue de 36,20%, aunque está por debajo de la media, siendo de 73,66% a 76, 74% (Granja Cedeño., 2022).

En los valores de cenizas se obtuvo un mayor valor de media para el tratamiento **(a0b1c0)** Mojama + *L. lactis* + 3×10^7 UFC/ml con un valor de 5,50%, aunque los valores están muy por encima de la media obtenida por (Granja Cedeño., 2022) entre 1,03% a 1,45%.

En la variable de grasa total, el tratamiento **(a1b2c1)** hamburguesa + *L. meserentenoides* + 3×10^7 UFC/ml presentó el porcentaje más alto de grasa con 29,29%. Comparando con los valores obtenidos, que fue de 0,2% a 30% de grasa establecido por (Valls., 2007).

En el parámetro de proteína, el tratamiento **(a0b2c0)** Mojama + *L. Meserentenoides* + 3×10^7 UFC/ml presentó el porcentaje de proteínas con un valor de 38,38%, encontrándose en el parámetro establecido por (Valls., 2007) de 15% a 39%.

Recomendaciones

Según los tipos de producto evaluados mojama y carne de hamburguesa se recomienda la aplicación de bacterias ácido lácticas: *L. plantarum*, *L. mesenteroides* y *L. lactis* en los dos productos cárnicos, debido a que los valores de acidez fueron de 0,29 % para mojama y 0,40% para hamburguesa, impidiendo el crecimiento de microorganismos que afecten la salud de los consumidores.

En cuanto a los tipos de bacterias utilizadas se recomienda la utilización de la bacteria *L. plantarum*, considerando que los resultados del efecto bioconservante son mejores que los reportados por *L. mesenteroides* y *L. lactis*, ya que al compararlo con otras investigaciones refleja valores de proteína, Ph y acidez superiores a los reportados.

Con respecto a las concentraciones aplicadas en este estudio es recomendable aplicar la concentración de 3×10^7 UFC/ml, debido a que reporta valores de 6,06 para pH y 25,14% para

proteína elevados a los encontrados en la concentración 3×10^7 UFC/ml, lo que favorece al control del estado de deterioro de pescado, puesto que los valores de pH contribuyen a la conservación del pescado.

Capitulo VII

Bibliografía

- Avdalov N (2014) Beneficios del consumo de pescado. DINARA – INFOPECA. Montevideo
- Axelsson, L. T. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. En: Salminen, S., Von Wright, A., Ouwehand, A. (Eds.), Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. 3rd rev. and exp. Ed. Marcel Dekker, Inc., New York, pp.1-66
- Barrera, F., & Almeyra, B. (2010). Efecto de la densidad de siembra en el crecimiento de juveniles de Paiche (*Arapaima gigas*) en estanques de la Estación Pesquera Ahuashiyacu.
- Berra, T. (2004). Freshwater fish distribution. Academic Press, Florida, USA
- Campos Baca, L. (2001). Historia biológica del paiche o pirarucu (*Arapaima gigas*, cuvier) y bases para su cultivo en la Amazonía, Iquitos-Perú.

Cao, R., Liu, Q., Chen, S., Yang, X., & Li, L. (2015). Application of Lactic Acid Bacteria (LAB) in freshness keeping of tilapia fillets as sashimi. *Journal of Ocean University of China*, 14(4), 675–680. doi:10.1007/s11802-015-2682-1.

Carvajal-Vallejos, F. M., Van Damme, P. A., Cordova, L., & Coca, C. (2011). La introducción de *Arapaima gigas* (paiche) en la Amazonía boliviana. *Los Peces y Delfines de la Amazonía Boliviana: Hábitats, Potencialidades y Amenazas*, ed. Paul A Van Damme, Fernando M Carvajal-Vallejos, and Jorge Molina Carpio, 367-396.

Carolsfeld J, Perez RT, Aranibar SMM, Luján RM, Souza DG, Vendramini AAL, Surringe B, Orster I (2014) Contenido nutricional de especies de pescado del Norte Amazónico Boliviano. Ood Security, Fisheries And Aquaculture In The Bolivian Amazon. IDRC project 106524-003 Research Outputs - 4.5.2. Canada.

Chavez, T. (2015). Valor agregado de *Arapaima gigas* (Paiche): obtención de conserva tipo sólido en salmuera y aceite vegetal. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Iquitos.

Contreras, O., & Cardiles, C. (2013). EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE FILETES DE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) MARINADOS EN FRÍO (4°C). UNIVERSIDAD DE CARTAGENA. CARTAGENA DE INDIAS.

Cortés-Sánchez, A. D. J. (2018). BIOCONSERVACIÓN, ALIMENTOS Y PESCADO. *Agro Productividad*, 11(11). <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i11.1276>

de Paula, A. T., Jeronymo-Ceneviva, A. B., Todorov, S. D., & Penna, A. L. B. (2015). The two faces of *Leuconostoc mesenteroides* in food systems. *Food Reviews International*, 31(2), 147-171.

FAO. (27 de Septiembre de 2001). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. www.fao.org: <http://www.fao.org/fishery/topic/12253/es>

Fernández, E. E. (2000). Microbiología e inocuidad de los alimentos. 1 a ed. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. pp. 43-60

Ferraris Jr., J. (2003). Family Arapaimatidae. p. 31-32. In: Reis, R.E., S.O. Kullander & C.F. Ferraris Jr. (Eds.). Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America. EDIPUCRS, Porto Alegre, Brasil

Fouchi, V., Emma Rosalía, & Pio M, F. (2021). Bacteriocins, A Natural Weapon Against Bacterial Contamination for Greater Safety and Preservation of Food: A Review. *Curr Pharm Biotechnol*, 22(2), 216-231. 10.2174/1389201021666200704145427.

Garcia, C., Paternina, G. S. A., & Villadiego, A. M. D. (2010). Producción de ácido láctico por vía biotecnológica. *Temas agrarios*, 15(2), 9-26.

Gonzales Molina, L. (2018). Cultivo experimental del Paiche (*arapaima gigas*) en ambiente controlado del Laboratorio Costero IMARPE - Huacho. *REPOSITORIO DIGITAL IMARPE*.
<https://hdl.handle.net/20.500.12958/3307>

Herrera, R. R., Preciado, G. M., Chávez, J. A. M., Castro, J. A. O., EscalanteMinakata, P., González, C. N. A., & Junquera, V. I. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y ciencia*, 21(59), 64-70.

Granja Cedeño, A. M. (2022). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (Mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de carne de dos especies de tilapia: Negra (*Oreochromis mossambicus*) y roja (*Oreochromis niloticus*) considerando dis (Repositorio Dspace ed.). <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/28892>

INEN. (2013). PESCADO FRESCO REFRIGERADO O CONGELADO [Norma núm. 183]. Quito.

INEN. (2016). CARNE Y MENUENCIAS COMESTIBLES DE ANIMALES DE ABASTO. REQUISITOS [Norma núm. 2346]. Quito.

Jay, J. M. (2000). Microbiología moderna de los alimentos. 4ª ed. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 19-27, 106-108, 441-475

Jurado Gálvez, H., Montalvo Rodríguez, C., Ramírez Toro, C., & Bolivar, G. (2009). EFECTO DE BIOCONSERVACIÓN DE CARNE MOLIDA DE CERDO, TIPO HAMBURGUESA CON *Lactobacillus acidophilus* cepa ATCC 4356 y *Staphylococcus carnosus* NRRLO2. *Asociacion Colombiana de Ciencia y Tecnologia en Alimentos*, 16(16). <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/90>

Leveau, J. Y., Bouix, M. (2000). Microbiología industrial: Los microorganismos de interés industrial. Ed. Acribia. Zaragoza, España. pp. 167-187, 206, 227-242.

Loredo Reynaga, R., Villafám, S., Montellano, S., & Carvajal-Vallejos, F. (2011). Contenido Nutricional de la carne de paiche (*Arapaima gigas*) en Bolivia.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. (2004). Brock. Biología de los Microorganismos. 10a ed. Ed. Prentice Hall. Madrid, España. pp. 122, 352, 400-402, 991.

Maia Luz, R. A. (2016). Cultivo do Pirarucu (*Arapaima Gigas*) em cativeiro: Técnicas de manejo, reprodução, seleção e acasalamento. *Repositorio Institucional Universidade Federal do Ceará*. <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/34787>

Mera, C. (2015). 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*). Quevedo, Ecuador: Universidad Técnica Estatal de Quevedo

Monroy, M., Castro, T., Fernández, F. J., Mayorga, L. (2009). Revisión Bibliográfica: Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. *ContactoS*, 73: 63-72.

Mora Peñaflor, N., & García Guerrero, A. (2007). Susceptibilidad de bacterias ácido lácticas (BAL) frente a diversos antibióticos.

Muñoz Guzman, J. P. (2022). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas de la fermentación discontinua de quinua blanca y roja (*Chenopodium quinoa*) para la bioconservación de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) y calabacín (*Cucurbita pepo*). fff. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/32556>

Neira Mosquera, J. A., Plua Montiel, J. A., Sánchez Llaguno, S. N., & Giler Coello, E. K. (2020, Julio 16). Características bromatológicas, físicas y organolépticas de conservas de paiche (*Arapaimas gigas*) en aceite de sacha inchi (*Plukenetia huayllabambana*), ajonjolí (*Sesamum indicum*) y maní (*Arachis hypogaea*). *Ingeniería e Innovación*, 9(1).

Nugroho, A. D. W., Kleerebezem, M., & Bachmann, H. (2020). A Novel Method for Long-Term Analysis of Lactic Acid and Ammonium Production in Non-growing *Lactococcus lactis* Reveals Pre-culture and Strain Dependence. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 580090. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.580090>.

Pinchi Pinedo, Z. R. (2017). Técnicas de procesamiento primario de la especie nativa paiche (*Arapaima gigas*).

Rodríguez, D., Barrero, M., & Kodaira, M. (2009). Evaluación física y química de filetes de bagre (*Pseudoplatystoma* sp.) salados en salmuera empacados al vacío y almacenados en

refrigeración. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(2), 206-213.

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222009000200014&lng=es&tlng=es.

Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017). *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9, 111-122.

Silva, A., Rocha, P., Fonseca, F., Costa, C., dos Santos, J., & Carvalho, N. (2017). Alterações microbianas dos produtos de pescados curados. *Revisão PUBVET*, 11, 646 -743

Song, A. A. L., In, L. L., Lim, S. H. E., & Rahim, R. A. (2017). A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory. *Microbial cell factories*, 16(1), 1-15.

Tenea, G. N., Hurtado, P., & Ortega, C. (2018). Efecto inhibitor de sustancias producidas por cepas nativas de *Lactococcus lactis* de frutas tropicales frente a patógenos alimentarios. *Preventive Nutrition and Food Science*, 23(3), 260-268. DOI: 10.3746/pnf.2018.23.3.260

Valls, J. (2007). Métodos Físicos y Químicos para la Evaluación de la Calidad y Frescura de los Recursos y Productos Marinos. Sección Tecnología de Productos Pesqueros, https://www.researchgate.net/publication/307634229_Metodos_Fisicos_y_Quimicos_para_la_Evaluacion_de_la_Calidad_y_Frescura_de_los_Recursos_y_Productos_Marinos.

Verdezoto Quinatoa, D. C. (2017). *Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas (BAL) presentes en el mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) trinitario y nacional* (Bachelor's thesis, Quevedo: UTEQ).

ZAPATA, S., MUÑOZ, J., RUIZ, O. S., MONTOYA, O. I., & GUTIÉRREZ, P. A. (2009). Aislamiento de *Lactobacillus plantarum* LPBM10 y caracterización parcial de su bacteriocina. *Vitae*, 16(1), 75-82.