

Universidad Nacional Experimental
de los Llanos Occidentales
"EZEQUIEL ZAMORA"



LA UNIVERSIDAD QUE SIEMBRA

VICERRECTORADO
DE INFRAESTRUCTURA Y PROCESOS INDUSTRIALES
ESTADO COJEDES

COORDINACIÓN
ÁREA DE POSTGRADO

**DESARROLLO DE UN EMBUTIDO GENÉRICO A BASE DE PULPA
DE CACHAMA, (*Colossoma x Piaractus*); ESTABLE A CONDICIONES
AMBIENTALES PARA CONSUMO HUMANO**

Autor: Ing. MSc. Miguel Ángel Luque Serrano

Cédula de Identidad: 3917536

Tutor(a): Dra. Marlene del V, Brizuela M

**Universidad Nacional Experimental
de los Llanos Occidentales
“EZEQUIEL ZAMORA”**



La Universidad que siembra

**Vicerectorado de Infraestructura y Procesos
Industriales.
Coordinación de Estudios Avanzados
Doctorado en Ingeniería Agroindustrial**

**DESARROLLO DE EMBUTIDO GENÉRICO A BASE DE PULPA DE
CACHAMA, (*Colossoma x Piaractus*); ESTABLE A CONDICIONES
AMBIENTALES APTO PARA CONSUMO HUMANO**

Autor: Ing. MSc. Miguel Ángel Luque Serrano

Cédula de Identidad: 3917536

Tutor(a): Dra. Marlene del V, Brizuela M

SAN CARLOS, ENERO DE 2023



UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL
DE LOS LLANOS OCCIDENTALES
"EZEQUIEL ZAMORA"
UNELLEZ VIPI COJEDES



ACTA DE PRESENTACIÓN / DEFENSA TRABAJO ESPECIAL DE GRADO, TRABAJO DE GRADO, TESIS DOCTORAL

Nosotros, miembros del jurado de:

Trabajo Especial de Grado	Trabajo de Grado	X	Tesis Doctoral
---------------------------	------------------	---	----------------

Titulado(a):

DESARROLLO DE EMBUTIDO GENÉRICO A BASE DE PULPA DE CACHAMA, (*Colossoma x Piaractus*); ESTABLE A CONDICIONES AMBIENTALES APTO PARA CONSUMO HUMANO

Elaborado por el (la) participante:

Nombres, Apellidos y Cédula de Identidad

Miguel Àngel Luque Serrano. Cédula de identidad 3917536

Como requisito parcial para optar al grado académico de: Doctor, el cual es ofrecido en el programa de: Doctorado en Ingeniería Agroindustrial, del Programa de Estudios Avanzados del Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales de la UNELLEZ –San Carlos, hacemos constar que hoy, **miércoles 25 de enero de 2023** a las **08:00 am**, se realizó la presentación / defensa del mismo, acordando:

- APROBAR LA PRESENTACIÓN / DEFENSA DEL TRABAJO / TESIS.
- APROBAR LA PRESENTACIÓN / DEFENSA DEL TRABAJO / TESIS, OTORGANDO MENCIÓN PUBLICACIÓN.
- APROBAR LA PRESENTACIÓN / DEFENSA DEL TRABAJO / TESIS, OTORGANDO MENCIÓN HONORÍFICA.
- APROBAR LA PRESENTACIÓN / DEFENSA DEL TRABAJO / TESIS, OTORGANDO MENCIÓN PUBLICACIÓN Y HONORÍFICA.

Dando fe de ello levantamos la presente acta, la cual finalizó a las 9:30 am

1.- Jurado Coordinador (a)

Dr. Enrique C. Ávila

C.I: V- 4.927.080 (UNELLEZ)

2.- Jurado Principal

Dra. Marlene del Valle Brizuela Mercado

C.I: V- 10.989.526 (EXTERNO)

3.- Jurado Principal

Dra. María Eugenia Paredes

CI. V: 9.992.733 (UNELLEZ)

Nota: Esta acta es válida con tres (03) firmas y un sello.

Presav.vipi

Presav_vipi

Presav_vipi

AGRADECIMIENTOS

- A mi Dios Todopoderoso por permitirme la fuente de la vida para ir venciendo obstáculos en favor del logro de los objetivos planteados
- A mi ilustre Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora”; a todo el personal académico, empleados, obreros, vigilantes
- A mi tutora, Dra. Marlene Brizuela por el apoyo moral y académico
- A Dr. Juan Fernández Molina y a la Dra. Nahir Carballo por su oportuno apoyo en las diligencias realizadas en pro del logro de este objetivo académico
- A la empresa Deforestaciones San Carlos (DEFORSA), en la persona del Ing. Giovanni Bastidas y el Sr. Joao Leite, por la colaboración prestada en la consecución de la materia prima para la parte experimental de la investigación

A todos muchas gracias...

Ing. Miguel Ángel Luque

DEDICATORIA

- A la memoria de mi querido padre **JOSÉ PORFIRIO LUQUE** (†). Padre ejemplar, el soldado, el maestro, el amigo...el orientador.
- A mí querida madre **ELBA ROSA** (†), a mis hijos: **MIGUEL ÁNGEL, ÁNGEL MIGUEL, LEGNA YASMÍN, MARÍA CLARIBEL Y MIGUEL ALEJANDRO**. A todos mis hermanos...
- A mis queridos nietos: John May, Daniel Alejandro, Vanella, Dianella, Daniel, Christopher y Anthony
- A **MARÍA DEL VALLE**, esposa y amiga incondicional
- Dedicatoria muy especial a todos mis estudiantes, razón de ser de uno como profesor

Ing. Miguel Ángel Luque

INDICE DE TABLAS

Tabla 01.	Prueba piloto preliminar para definir niveles de factores químico acidulante	160
Tabla 02.	Prueba experimental del efecto de dilución con agua destilada (10 ml)	161
Tabla 03.	Rango de prueba de niveles o dosis de los factores experimentales en estudio	161
Tabla 04.	Matriz “D” de diseño de muestreo de tratamientos experimentales. Diseño de Space filling Hípercubo latino, completamente repetido con sus respuestas. Mezcla de aditivos alimentarios químicoacidulantes.	162
Tabla 05.	Matriz “D” de diseño de muestreo de tratamientos experimentales. Diseño de Space filling Hípercubo latino, completamente repetido con sus respuestas.	164
Tabla 06.	Calidad del químicoacidulante experimental (óptimo operativo)	165
Tabla 07.	Calidad del químicoacidulante experimental (óptimo operativo)	166
Tabla 08.	Matriz de diseño de muestreo experimental para la optimización operativa	167
Tabla 09.	Formula encriptada para la optimización de las variables respuestas	172
Tabla 10.	Termino optimizados por análisis de Regresión Screening Ridge requeridos para ajustar los modelos lineales múltiples aditivos de alto orden	179

INDICE DE FIGURAS

Figura 01	Modelo energético redox mitocondrial	23
Figura 02	Impacto del control epigenético	38
Figura 03	Esquema simplificado del proceso de la glucólisis	45
Figura 04	Reino arquea. Arqueas termoacidófilas, halófilas	47
Figura 05	Esquema del Ciclo de Krebs y sus reacciones	49
Figura 06	Transcripción del adenosindisfosfato (ADN)	56
Figura 07	Modelo de regulación de cromatina debido a la modificación de enzimas por metabolitos claves	58
Figura 08	Escala de pH y pOH	66
Figura 09	Determinador de variables involucradas en cambios físico-químicos en alimentos	69
Figura 10	Indicadores del pK para una valoración ácido-base en ácido acético	73
Figura 11	La quimioacidulación del potencial óxido-reducción (POR) en la conservación de alimentos	74
Figura 12	Principio básico del comportamiento del potencial Redox	75
Figura 13	Metamodelo emulador en un proceso de producción de alimentos	80
Figura 14	Glucono-delta-lactona (GDL), grado alimenticio	89
Figura 15	Presentación comercial del ácido láctico	91
Figura 16	Presentación comercial del ácido acético al 5%, grado alimenticio	93
Figura 17	Presentación del ácido fórmico al 85%, grado alimenticio	94
Figura 18	Personal técnico capacitado y entrenado	99
Figura 19	Equipo de medición multifuncional. Medición de variables respuestas	100
Figura 20	Materia prima (cachamas) usadas en el experimento	101
Figura 21	Imagen cachama híbrido (<i>Colossoma x Piaractus</i>)	102
Figura 22	Balanza digital, marca Denver Instrument, modelo XL-100	103
Figura 23	Esquema tecnológico para la obtención de la pulpa de cachama	104
Figura 24	Despulpadora mecánica, marca Yanagiya. Tecnología japonesa	106
Figura 25	Separadora mecánica, marca Yanagiya, 100 ton/h. Modelo YS-100	108
Figura 26	Pulpa de cachama obtenida en el proceso de despulpado mecánico	109
Figura 27	Cutter o cortadora. Efecto de cortado/mezclado/emulsificado	113

Figura 28	Aditivos usados en el experimento	115
Figura 29	Esquema tecnológico para la elaboración del embutido genérico	119
Figura 30	Balanzas digitales	120
Figura 31	Embutidora hidráulica, tipo pistón	121
Figura 32	Plan de cocinado. Tanque de doble camisa	121
Figura 33	Producto terminado, embutido genérico	122
Figura 34	Cachama híbrida	128
Figura 35	Esquema tecnológico para elaborar ensilado químico	133
Figura 36	Molino	134
Figura 37	Ensilado químico, obtenido con residuos del proceso de despulpado mecánico de la cachama	137
Figura 38	Escala de pH y pOH	139
Figura 39	Representación de la torre redox	143
Figura 40	Petrifilm	147
Figura 41	Resultados Ufc/g de microorganismos	148
Figura 42	Términos y análisis del modelo para la respuesta pH	168
Figura 43	Bondad de ajuste del modelo de predicción para la variable respuesta pH	168
Figura 44	Términos y análisis del modelo para la respuesta CE	169
Figura 45	Bondad de ajuste del modelo de predicción para la variable respuesta CE	169
Figura 46	Términos y análisis del modelo para la variable respuesta SDT	170
Figura 47	Bondad de ajuste del modelo de predicción para la variable respuesta SDT	170
Figura 48	Términos y análisis del modelo para la variable respuesta POR	171
Figura 49	Bondad de ajuste del modelo de predicción para la variable respuesta POR	171
Figura 50.	Interfaz del simulador de optimización operativa multifactor-multirespuesta, con un ajuste de 99,25 %.	174
Figura 51	Interfaz del simulador de optimización operativa multifactor-multirespuesta, con un ajuste de 98,73 %.	175
Figura 52	Análisis multivariado de varianza “F”, de la respuesta pH	176
Figura 53	Análisis multivariado de varianza “F”, de la respuesta POR	177
Figura 54	Análisis multivariado de varianza “F”, de la respuesta CB	178
	Gráfico de bondad de ajuste para los modelos lineales, aditivos y de alto orden	180

Figura 55	Valores óptimos determinísticos de las variables independientes (factores) y las variables dependientes (respuestas)	181
Figura 56	Valores de la variable alternativa económico-ambiental	182
Figura 57	Validación del QMAO, creado para el embutido genérico	183
Figura 58	Validación del quimioacidulante creado para el embutido genérico	184
Figura 59	Seguimiento de variables indicadoras (Ufc/g), indicadoras de estabilidad microbiológica	184
Figura 60	Almacenamiento en condiciones ambientales durante 20 días.	185

INDICE GENERAL

RESUMEN	xiv
SUMMARY	xv
INTRODUCCIÒN	1
CAPÍTULO I	5
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
1.1. Descripción ampliada del objeto en estudio	5
1.2. Formulación del problema	9
1.3. Importancia y justificación de la investigación	17
1.4. La modelación y optimización estadístico-matemática en alimentos multi factorial y multiobjetivo	22
1.5. Formulación del problema	24
1.6. Importancia de la investigación	25
1.7. Hipótesis de trabajo	27
1.8. Objetivo general	27
1.9. Objetivos específicos	28
1.10. Alcances y limitaciones	28
1.11. Ubicación geográfica	29
1.12. Institución, investigador	29
 CAPÍTULO II	 30
II. MARCO TEÒRICO. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÒN	30
2.1. Uso de aditivos acidulantes alimentarios orgánicos como conservadores de productos alimenticios (embutidos)	30
2.2. Antecedentes de la investigación	31
2.3. Modelos predictivos usados en la industria de alimentos	32
2.4. Tecnologías emergentes redox en el control del crecimiento y desarrollo microbiológico	36
2.5. Uso de ácidos orgánicos en alimentos de alta humedad de origen pesquero, como estabilizantes biológicos	40
2.6. Uso de los diseños de muestreo estadístico del tipo “Llenado de espacio” (Space filling); Hipercubo latino	40
2.7. Bases Teóricas	41
2.7.1 Generalidades	41
2.7.2 Factores que influyen en la inhibición y activación de reacciones generadoras de energía en la célula	43
2.7.2.1 La glucólisis	43
2.7.2.2 El ciclo de Krebs	47
2.7.2.3 El ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa	51
2.7.2.4. El poder reductor de la pulpa	51

2.7.2.5. La epigenética en el control de procesos o rutas metabólicas en microorganismos	52
2.7.2.6. Respuesta a los procesos epigenéticos de estrés ambiental inducido extracelular	53
2.7.2.7. Modificación extracelular de las histonas	56
2.7.2.8. La función mitocondrial y el efecto del control Redox	57
2.7.2.9. Manipulación tecnológica de variables extremas para el control del crecimiento y desarrollo de microorganismos	59
2.7.2.10. La variable potencial redox extracelular en el control del metabolismo celular	60
2.7.2.11. El potencial redox en el control de procesos metabólicos microbianos	64
2.7.2.12. El pH y los ácidos orgánicos	65
2.7.2.13. Potencial òxido-reducciòn	66
2.7.2.14. Factores que influyen en el comportamiento del potencial redox	71
2.7.2.15. Ácidos bases según Arrhenius	71
2.7.2.16. El pK de un compuesto	71
2.7.2.17. Cambios de pK(a,b); con intervención del medio o sujeto en estudio	72
2.7.2.18. La torre redox del metabolismo celular	75
2.7.2.19. Capacidad reguladora o amortiguadora (buffer) en el medio en estudio	76
2.7.2.20. La conductividad eléctrica (CE) en alimentos de alta humedad	76
2.7.2.21. Sólidos disueltos totales (SDT)	77
2.7.2.22. Conductividad eléctrica y Sólidos disueltos totales	78
2.7.2.23. Modelo algebraico, lineal, aditivo y cuadrático; con interacciones de alto orden	79
2.7.2.24. Diseño de muestreo estadístico robusto para el ajuste de metamodelos de optimización	80
2.7.2.25. Función de deseabilidad multimétrica en la optimización, vía simulación determinista, en el desarrollo de nuevos productos	82
2.7.2.26. Aspectos legales de la investigación	82
	85
CAPITULO III	85
	85
3. Marco metodológico	85
3.1. Fases de desarrollo de la investigación	85
3.1.1. Fase conceptual	86
3.1.2. Fase de planificación y diseño	86
3.1.3. Fase empírica	
3.1.4. Fase de difusión	86
3.2 Procedimiento general para la obtención de la mezcla acidulante y procesamiento para la elaboración de los embutidos genéricos	87
3.3. Prueba piloto	87
	89

3.4. Aditivos acidulantes alimentarios, variables independientes, factores en estudio.	91
3.4.1. Glucono – delta – lactona (GDL)	92
3.4.2. Ácidos lácticos	93
3.4.3. Ácido acético	95
3.4.4. Acido fornico	
3.5. Algoritmo de diseño de muestreo estático experimental de la investigación	95
3.6. Procedimiento para el ajuste de modelos estadísticos lineales, aditivos y de alto orden	97
3.7. Equipos, instrumentos, implemento e insumos, análisis microbiológicos en laboratorio de micro biología	98
3.8. Análisis microbiología e implementos de laboratorio de investigación	98
3.9. Equipos, instrumentos e implementos de laboratorio de investigación	99
2.9.1. Acidez iónica	99
3.9.2. Potencial redox (POR)	99
3.9.3. Conductividad eléctrica (CE) y solidos disueltos totales (SDT)	100
3.9.4. Capacidad Buffer (CB)	101
3.9.5. Acidez titulada total (ATT)	
3.10. Procedimiento experimental (materiales y métodos)	102
3.11. Equipos	102
3.12. Proceso tecnológico para la obtención de la pulpa de cachama híbrido (<i>Colossoma x Piaractus</i>)	105
3.12.1. Etapa I. obtención de la pulpa de cachama	105
3.12.1.1. Descabezado	105
3.12.1.2. Evisceración	105
3.12.1.3. Fileteado	105
2.12.1.4.Lavado	107
.12.1.5. Enfriamiento de los filetes	108
3.12.1.6. Despulpado (separación mecánica de la pulpa)	108
3.13. Deshuesado mecánico	111
3.13.1. Rendimiento y composición de la pulpa	114
3.13.2. Aspectos generales del deshuesado mecánico	115
3.14. Aspectos generales para la elaboración del embutido genérico	115
3.15. Aditivos	116
3.15.1 Aceite Vegetal	116
3.15.2. Sal común (NaCl)	
3.15.3. Azúcar (Sacarosa)	116
3.15.4. Harina de trigo	117
3.15.5. Especies, condimentos y aditivos (ajo molido, pimienta blanca molida)	118
3.15.6. Nitratos y nitritos (sal de cura)	118
3.15.7. Polifosfatos(fosfatos) P ₂ O ₅	119
3.15.8. Eritorbato	120
3.15.9. Sangre de cerdo completa (SCC)	121

3.16. Etapa II elaboración del embutido genérico	121
3.16.1. Pasaje de los ingredientes y aditivos	122
3.16.2. Cortado, mezclado y emulsificado	
3.16.3. Embutido	122
3.16.4. Plan de cocinado	130
3.17. Aprovechamiento de los residuos del proceso de despulpado mecánico de la cachama	130
3.18. Ensilado de pescado preservados en medio ácido	131
3.19. Bioquímica del ensilado de pescado preservado como ácido	133
3.20. Acción enzimática	135
3.21. Elaboración del producto ensilado químico	135
3.22. descripción del esquema tecnológicos	136
3.22.1. Residuos	137
3.22.3. Acidificación y mezclado	137
3.22.4. Licuefacción	
3.22.5. Secado	137
3.22.6 Ensilado	138
3.23. Nuevas alternativas para la investigación cuantitativa diseños Space filling	138
3.24. Variables dependientes, respuestas, variables explicadas	140
3.24.1. Acidez iónica (DH)	143
3.24.2. Potencial Oxido reducción (POR)	144
3.24.3. Acidez titulable (ATT)	144
3.24.4. Capacidad buffer	145
3.24.5. Conductividad eléctrica (CE)	146
2.24.6. Sólido disueltos totales (SDT)	149
3.24.7. Microorganismos indicadores (Ufc/g)	150
3.24.8 Actividad de agua (aw)	151
3.25. Sistema de hipótesis	152
3.26. Hipótesis general	152
3.26.1. Hipótesis estadística	152
3.27. Sistema de variable	152
3.27.1. Variable independientes o factores de estudio (X_1)	152
3.27.2. Variables dependientes o respuestas (Y_1)	153
3.28. Modelo general	156
3.29. Modelos específicos	156
3.30. Fases de la investigación	157
3.31. Delimitación del área de estudio	157
3.32. Diseño de la investigación	157
3.33 Población y muestra	158
3.34. Diseño o técnicas de observación	159
3.35. Pruebas pilotos y diseño estadístico de muestreo del experimento	159
3.36. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	
 CAPITULO IV	 160

4. Presentación, descripción y análisis de datos y resultados	
4.1. Pruebas piloto para la definición o dosis, tipo de ácidos como factores experimentales	162
4.2. Experimentación estadística con mezcla de sustancias quimioacidulantes y ácidos orgánicos	165
4.2.1. Matriz “D” de diseño de muestreo de tratamientos y respuestas medidas, para experimentación estadísticas con la mezcla de los acidulantes	166
4.2.2. Modelamiento del quimioacidulantes modelo lineal múltiple, aditivo, cuadrático con interacciones de alto orden, diseño de muestreo, Space filling optimal	181
4.2.3. Resultados de la modelación operativa	181
4.3. Resultados y discusión	182
4.3.1. Valores óptimos determinantes de los factores y las respuestas	182
4.3.2. Valores óptimos estocásticos de los factores y las respuestas (validación LITA)	183
4.3.3. Variables alternativa económicos – ambiental	183
4.3.4. Valores óptimos estocásticos de los factores y las respuestas (alternativa LITA)	184
4.3.6. Validación del quimioacidulante creado para el embutido genérico	186
4.4. Resultados y discusiones	187
4.5. Conclusiones	188
4.6. Recomendaciones	
Referencias bibliográficas	

**UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL
DE LOS LLANOS OCCIDENTALES “EZEQUIEL ZAMORA”
VICERRECTORADO INFRAESTRUCTURAY PROCESOS INDUSTRIALES.
COORDINACIÓN DE ÁREA DE POSTGRADO**

**Programa de doctorado en 
Ingeniería agroindustrial**

Autor: Miguel Ángel Luque Serrano

Tutor(a): Dra. Marlene Brizuela

Año: 2023

RESUMEN

**DESARROLLO DE UN EMBUTIDO GENÉRICO A BASE DE PULPA DE
CACHAMA, (*Colossoma x Piaractus*); ESTABLE A CONDICIONES
AMBIENTALES APTO PARA CONSUMO**

Ing. MSc. Miguel Ángel Luque Serrano

Esta investigación considera dos componentes básicos, la aplicación de la tecnología de obtención y del procesamiento de pulpa de cachama, para la elaboración de un embutido genérico, tipo emulsión. El segundo componente tendrá un enfoque ingenieril que nos permitirá obtener modelos matemáticos (metamodelo) para predecir las variables respuestas objeto de estudio. Esta es una versión sobre la tecnología de obtención de un embutido genérico a base de pulpa de cachama (*Colossoma x Piaractus*); estable a condiciones ambientales apto para consumo humano. La fórmula y el esquema tecnológico de elaboración fueron estudiados y desarrollados por el autor. La adición directa de una mezcla de tres aditivos acidulantes alimentarios: Glucono-delta-lactona (GDL), ácido fórmico (AF) y ácido láctico (AL) permitieron que el proceso de quimioacidulación se desarrollara de manera más rápida y efectiva, logrando el manejo eficiente de las variables y la estabilización del producto terminado. Se determinaron las respuestas: acidez iónica (pH), el potencial redox (POR), la conductividad eléctrica (CE), los sólidos disueltos totales (SDT), la capacidad buffer (CB), la acidez titulable total (ATT), el conteo bacteriano indicador (Ufc/g) y la actividad de agua (aw). Se optimizó la mezcla de los aditivos acidulantes alimentarios usados, para controlar los factores inductores de los cambios biológicos de los microorganismos en el embutido genérico a base de pulpa de cachama. La investigación se realizó para conocer las múltiples respuestas fisicoquímicas involucradas durante el proceso de estabilidad biológica del embutido, apto para consumo humano, expuesto bajo condiciones ambientales. El análisis estadístico, matemático y operativo permitió determinar una serie de combinaciones de los factores estudiados, para posibles respuestas que satisfagan necesidades a nivel de investigación científica, industrial y de consumidores. Fue utilizando un diseño experimental estadístico Hipercubo latino del tipo (Space filling); típicos de experimentación virtual. Es una investigación experimental exploratoria.

Palabras claves: Cachama, Pulpa de pescado, Embutido, Metamodelo, Space filling

**UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL
DE LOS LLANOS OCCIDENTALES “EZEQUIEL ZAMORA”
VICERRECTORADO INFRAESTRUCTURAY PROCESOS INDUSTRIALES.
COORDINACIÓN ÁREA DE POSTGRADO.**

**Programa de doctorado en 
Ingeniería agroindustrial**

**DEVELOPMENT OF A GENERIC SAUSAGE BASED ON CACHAMA PULP,
(*Colossoma x Piaractus*); STABLE UNDER AMBIENT CONDITIONS
SUITABLE FOR CONSUMPTION**

Autor: Miguel Ángel Luque Serrano
Tutor (a): Dra. Marlene Brizuela
Año: 2023

SUMMARY

This research considers two basic components, the application of technology for obtaining and processing cachama pulp, for the production of a generic sausage, emulsion type. The second component will have an engineering approach that will allow us to obtain mathematical models (metamodel) to predict the response variables under study. This is a version of the technology for obtaining a generic sausage based on cachama pulp (*Colossoma x Piaractus*); stable at ambient conditions suitable for human consumption. The formula and the technological scheme of preparation were studied and developed by the author. The direct addition of a mixture of three food acidulant additives: Glucono-delta-lactone (GDL), formic acid (AF) and lactic acid (LA) allowed the chemoacidulation process to develop more quickly and effectively, achieving management efficiency of the variables and the stabilization of the finished product. The responses were determined: ionic acidity (pH), redox potential (ORP), electrical conductivity (EC), total dissolved solids (SDT), buffer capacity (CB), total titratable acidity (ATT), count bacterial indicator (U_{fc}/g) and water activity (a_w). The mixture of the used food acidulant additives was optimized to control the inducing factors of the biological changes of the microorganisms in the generic sausage based on cachama pulp. The research was carried out to know the multiple physicochemical responses involved during the process of biological stability of the sausage, suitable for human consumption, exposed under environmental conditions. The statistical, mathematical and operational analysis allowed to determine a series of combinations of the factors studied, for possible answers that satisfy needs at the level of scientific, industrial and consumer research. It was using a statistical experimental design Latin Hypercube of the type (Space filling); typical of virtual experimentation. It is an exploratory experimental research.

Keywords: Cachama, Fish pulp, Sausage, Metamodel, Space filling

INTRODUCCIÓN

Este trabajo de investigación toma en consideración en su estructura dos componentes básicos, uno de ellos en cuanto a la aplicación de la tecnología del procesamiento de pulpa de pescado, mediante la estandarización de un proceso tecnológico para la elaboración de un embutido genérico, tipo emulsión, teniendo como ingrediente principal la carne, (pulpa) de cachama híbrido (*Colossoma x Piaractus*). El segundo componente tendrá un enfoque ingenieril que nos permitió obtener modelos matemáticos para predecir las variables respuestas del comportamiento tecnológico de la materia prima usada; adaptando una tecnología aplicada a la elaboración de productos similares

A nivel tecnológico e industrial se han obtenido respuestas de los tipos de carne que clásicamente han sido objeto de procesamiento. Cabe preguntarse entonces: ¿Es posible la aplicación de esos conocimientos logrados hasta ahora por la investigación científica, en carne (pulpa) de pescados de aguas continentales y específicamente en la pulpa de cachama? ¿Será posible la adaptación de esas tecnologías ya estandarizadas en carne de bovinos, cerdos, aves y otros; en carne (pulpa) de cachama con la esperanza de generar respuestas tecnológicamente factibles y satisfactorias?

Para responder a esas interrogantes se ha planificado y propuesto este trabajo de investigación de carácter experimental y exploratorio con el firme propósito de evaluar experimentalmente la respuesta de la tecnología de obtención de un producto tipo emulsión a base de pulpa de cachama; (embutido genérico).

Para ello se realizó esta investigación experimental exploratoria, de carácter estocástico en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), experimental, exploratorio y determinístico en computadora, introduciendo el uso de un diseño de muestreo de llenado de espacio: “Space filling”, en el ajuste de superficies

de respuestas, dado lo económico en el número de tratamientos distintos y eficiente por su excelente distribución espacial.

Este trabajo de investigación tuvo como objetivo la elaboración de un embutido genérico a base de pulpa de cachama, estable a condiciones ambientales apto para consumo humano, bajo un diseño experimental estadístico robusto, como son los diseños de muestreo de superficie de respuesta óptimas, Hipercubo latino, del tipo de llenado de espacio, (Space filling optimal), diseño experimental adecuado para evaluar varios factores simultáneamente a diferentes niveles cada uno, para la generación de modelos matemáticos, hasta de segundo orden para predicción de las variables respuestas objeto de estudio, usando el programa “Statistical Analysis System” (SAS). Luego los modelos matemáticos fueron evaluados, ajustados y validados; y se representaron en gráficas de superficie de respuesta y de contornos para determinar los óptimos matemáticos, operativos y los niveles de deseabilidad.

Para conservar el embutido producido, sin refrigeración el estudio se planteó crear una mezcla de un aditivo químico acidulante alimentario orgánico eficiente (QMA), con la finalidad de preservar bajo condiciones ambientales el embutido genérico desarrollado, a base de Glucono-delta-lactona, ácido fórmico y ácido láctico; esto, debido a su alta percibibilidad, por su alto valor nutritivo y alta humedad; que en el manejo y conservación cotidiana genera graves problemas, conflictos y pérdidas cuantiosas.

El uso de una mezcla acidulante con aditivos alimentarios, tienen un papel decisivo en la obtención y estabilización de productos cárnicos procesados, aptos para consumo humano, entre ellos los embutidos crudos y cocidos. Los aditivos acidulantes alimentarios poseen propiedades que les permiten ejercer múltiples funciones en el proceso de elaboración de productos derivados de la pulpa de pescado. Aquí se estudian las funciones y los beneficios tecnológicos de la Glucono-delta-lactona, (GDL); el ácido fórmico, (AF) y el ácido láctico, (AL); en el desarrollo de nuevos productos

cárnicos seguros y estables a condiciones ambientales sin necesidad de hacer uso de métodos alternos de conservación como la refrigeración, que contribuyan a satisfacer las características sensoriales y tecnológicas esperadas por los consumidores.

La característica principal de este tipo de embutidos es que son productos de un alto contenido de humedad relativa, ricos en valor nutritivo y muy propenso a la degradación de sus propiedades organolépticas, debido a la presencia de microorganismos putrefactivos bajo las condiciones de manejo a que están sometidos.

Para dilucidar esta problemática es necesario mencionar sus causas. Una de ellas es su poca estabilidad microbiológica aún bajo condiciones de refrigeración. Tradicionalmente, la conservación de embutidos crudos se ha logrado mediante la fermentación de los azúcares agregados como aditivos en las formulaciones, y que son usados como sustratos por las bacterias ácidos lácticos, (BAL); que están presentes en la carne de forma natural, o pueden ser añadidas como cultivos iniciadores.

Sin embargo, la adición directa de aditivos acidulantes alimentarios, como la Glucono-delta-lactona (GDL), el ácido fórmico y el ácido láctico; permitieron que el proceso de conservación se desarrollara de manera más rápida, logrando el manejo tecnológico y la manipulación más eficiente de las variables respuestas e intervinientes de interés que fueron estudiadas, como son: acidez iónica (pH), el potencial redox (POR), la conductividad eléctrica (CE), los sólidos disueltos totales (SDT), la capacidad buffer (CB), la acidez titulable total (ATT) y el contaje bacteriano indicador en función del tiempo (Ufc/g). Se optimizó la mezcla de los aditivos acidulantes alimentarios a usados, ya que puede tener un impacto negativo de las propiedades organolépticas en el producto final debido a una manipulación no controlada de las variables independientes y dependientes inherentes al proceso.

La investigación de esta problemática se realizó por el interés de conocer las múltiples respuestas fisicoquímicas y microbiológicas involucradas durante el proceso

de obtención y conservación del embutido genérico, apto para consumo humano a base de pulpa de pescado, (cachama híbrida), su calidad y estabilidad microbiológica final, mantenido bajo condiciones ambientales; temperatura, humedad relativa, actividad de agua, valor de pH, potencial oxido-reducción, entre otras variables a considerar.

La metodología o estrategia que se planteó para lograr los objetivos preestablecidos en esta investigación de carácter experimental y exploratoria, bajo condiciones controladas en laboratorio, fue utilizando un diseño experimental estadístico Hipercubo latino del tipo llenado de espacio, (Space filling); típicos de experimentación virtual. Es una investigación experimental exploratoria, con un carácter estocástico por tomar mediciones en el sitio de experimentación en tiempo real, bajo condiciones controladas, con procesamiento experimental probabilístico y un carácter determinístico pues se realizaron simulaciones virtuales en computadora. Dicho diseño o arreglo de muestreo/tratamientos del tipo llenado de espacio, denominados, (Space filling).

Se empleó un tópico de interés vigente en el diseño estadístico experimental, como es la modelación robusta de parámetros, (β_{ijk}); con optimización vía simulación, mediante la resolución de sistemas de ecuaciones, para procesos de control de la variabilidad de la estabilidad microbiológica y la calidad, en la elaboración de un alimento, (embutido genérico); sometido a la influencia de múltiples factores de procesamiento y manejo, que generarán múltiples respuestas de calidad, en forma conjunta y simultánea.

El diseño del tipo Hípercubo latino, permitió modelar y optimizar vía simulación de Derringer-Süich, la mezcla de los aditivos acidulantes alimentarios: GDL y los ácidos orgánicos fórmico y láctico, que fueron los factores o variables independientes, en sus respectivas mezclas y la concentración de uso, (niveles); en la determinación de la mezcla para estabilizar microbiológicamente el embutido genérico a base de pulpa de pescado (cachama); que puede ser almacenado a condiciones ambientales, sin sufrir daño aparente en un tiempo prudencial.

CAPITULO I

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La redacción del planteamiento del problema en esta investigación se realizó siguiendo las instrucciones de Hernández, Fernández y Baptista (2010), los cuales recomiendan estructurarlo en tres secciones, 1. Descripción ampliada del objeto de estudio, 2. Formulación del problema y 3. Descripción de la importancia, basado en su justificación.

1.1. Descripción ampliada del objeto en estudio

En un proceso de elaboración de alimentos, y específicamente en el área de fabricación de embutidos para consumo humano a base de pulpa de pescado, (cachama híbrido); el producto terminado y su calidad final, depende de variados factores:

- a) Intrínsecos, propios de la composición de la materia prima usada, (ingredientes); de la cantidad y calidad de los aditivos usados
- b) Extrínsecos e intervinientes, referidos a las condiciones de manejo postcosecha de la materia prima usada
- c) Múltiples factores, referidos a las variables inherentes del proceso, como también las variables intervinientes y
- d) De su calidad o estabilidad microbiológica como producto terminado, apto para el consumo humano.

Este estudio se planificó con la finalidad de crear una mezcla de un aditivo acidulante alimentario a base de Glucono-delta-lactona (GDL), ácido fórmico (AF) y ácido láctico (AL), para preservar en el tiempo sin necesidad de un método alternativo de conservación como la refrigeración, para un embutido genérico a base de pulpa de cachama híbrido, (*Colossoma x Piaractus*); productos de alta perecibilidad, por su alto valor nutritivo, alta humedad, alta actividad de agua, etc; Vitalis (2013). Para ello, se plantea la hipótesis de crear una mezcla de un aditivo acidulante alimentario que estabilice microbiológicamente al producto terminado. En consecuencia, se investigó

la optimización matemática y operativa de este proceso, mediante el ajuste de modelos matemáticos; Deng, Hung and Lin (2015).

Para una investigación de carácter virtual y estocástica; Roshan, Evren and Shan (2015), recomiendan que es deseable crear modelos matemáticos explícitos; que permitan visualizar y estudiar la forma e influencia de cada factor en estudio, de cada término del modelo, de sus interacciones o sinergia y simular el conjunto de respuestas del proceso en forma simultánea; permitiendo esto asumir el control estadístico del proceso a través de manipulaciones simultáneas de cada factor del proceso, (simulación del proceso).

Esta investigación tiene un carácter prospectivo, experimental y exploratorio, bajo condiciones controladas en laboratorio, típico de experimentación virtual, con un carácter estocástico por tomar mediciones en el sitio de experimentación en tiempo real y procesamiento experimental probabilístico de carácter determinístico pues se realizarán simulaciones virtuales en computadora. Dichos diseños o arreglo de muestreo/tratamientos del tipo Llenado de espacio, (Space filling); estarán basados en un diseño del tipo Hiper cubo latino.

Los siguientes autores Kujawski (2014), Piffly y Stadlober (2015), Waite y Woods (2015), muestran que para poder crear modelos matemáticos complejos, de alto orden, robustos y con alta capacidad predictiva, se debe planificar y ejecutar una investigación bajo diseño experimental estadístico robusto, como son los diseños de muestreo de superficie de respuesta óptimas del tipo de llenado de espacio, (Space filling optimal); al respecto, la revisión de literatura en la Deep Web y la revisión realizada por Vining, KulaHCI and Pedersen (2015), muestran poca utilización de estos en el área de elaboración de matrices en alimentos.

Mediante este trabajo se introdujo su uso, como diseños novedosos para la generación del perfil de respuestas del proceso de obtención de una mezcla de aditivos

acidulantes alimentarios optimizado en su composición y en su poder estabilizante microbiológico y en la elaboración de un embutido genérico a base de pulpa de cachama de materia orgánica comestible, perecedera, de alta humedad; útil en el proceso de elaboración, manejo, conservación y comercialización de productos alimenticios, (embutidos), altamente perecederos, estable a condiciones ambientales. En un proceso tanto artesanal como industrial para la elaboración de embutidos, su calidad final es multiobjetivo, incluye múltiples respuestas físicas, químicas, fisicoquímicas y microbiológicas, así como múltiples respuestas de aceptación; SAS JMP versión 8, (2010).

El diseño del tipo Hípercubo latino permite modelar y optimizar vía modelación de Derringer-Süich, la mezcla de los aditivos acidulantes alimentarios, constituida por: GDL y los ácidos orgánicos fórmico y láctico, en la formulación de una mezcla de aditivos acidulantes alimentarios para estabilizar microbiológicamente un embutido genérico a base de pulpa de pescado, (cachama). El metamodelado, es un tema fundamental en el campo del manejo de bases de datos. Al aplicarlo en el desarrollo de aplicaciones informáticas permite diseñar un modelo de datos, (el metamodelo); con la capacidad de generar otros modelos de información.

Se plantea abordar un tema de interés vigente en el área del diseño estadístico experimental, como es la modelación robusta de parámetros y optimización vía simulación, para procesos de control de la variabilidad de calidad en la elaboración de una matriz alimento, sometido a múltiples factores de proceso, que influyeran múltiples respuestas de calidad; esto debido a que este tipo de procesos, requiere utilizar diseños estadísticos robustos y económicos, que permitan ajustar modelos robustos para simulación, Rodríguez (2012); todo esto, en razón de que el control de un proceso en tiempo real debe permitir diseñar una ley de control invariante, para establecer un control correctivo, que mantenga el proceso dentro del sistema de referencia, para que finalmente se pueda implementar un control estabilizante, tratando que el sistema se mantenga en el punto de ajuste.

La problemática anterior y las recomendaciones de la literatura permitieron definir el objetivo de estudio de esta investigación, el cual es “crear una mezcla de un aditivo acidulante alimentario orgánico para estabilizar microbiológicamente un embutido genérico a base de pulpa de pescado (cachama), que se mantenga en el tiempo apto para consumo humano, bajo condiciones ambientales, usando una mezcla optima de Glucono-delta-lactona, y los ácidos orgánicos fórmico y láctico”; optimizando operativamente su eficiencia de estabilización en los embutidos obtenidos, mediante investigación experimental bajo diseño de muestreo estadístico del tipo de Llenado de espacio (Space filling), ajustando modelos polinomiales aditivos (para tres factores), del tipo:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + X_1 X_2 X_3 + \epsilon_i$$

Basado en el estudio de Johnson, Montgomery, Jones y Parker (2010), De Anderson y Whitcomb (2014), para esta investigación se seleccionó un diseño “Hípercubo latino”, por ser uno de los más eficientes dentro del grupo de diseños virtuales del tipo Space filling; debido que: 1. Son cercanamente optimal y se ejecutan bien en el ajuste de modelos polinomiales de alto orden, con mínimos cuadrados ordinarios, 2. Tienen baja varianza de predicción en el ajuste de modelos polinomiales, con mínimos cuadrados ordinarios y 3. Los diseños óptimos ofrecen tres ventajas sobre los diseños experimentales subóptimos: los diseños óptimos reducen los costos de experimentación al permitir estimar modelos estadísticos con menos ejecuciones o unidades experimentales. Los diseños óptimos pueden acomodar múltiples tipos de factores, como procesos, mezclas y factores discretos.

Los diseños se pueden optimizar cuando el espacio de diseño está limitado, por ejemplo, cuando el espacio de proceso matemático contiene configuraciones de factores que son prácticamente inviables (por ejemplo, debido a problemas de seguridad); si es aumentado el diseño con nuevos tratamientos.

En (https://en.org/wiki/Optimal_design)

1.2. Formulación del problema de investigación

Todos los productos embutidos son altamente perecederos a condiciones ambientales, excepto los embutidos fermentados o madurados. Poseen alto contenido de humedad, alto valor nutritivo, alta actividad de agua, que requieren para su conservación adición de conservantes o bacteriostáticos que desde hace tiempo están siendo cuestionados, regulados y prohibidos; y/o por el gasto adicional de energía por almacenamiento en refrigeración.

El manejo, la conservación y el mantenimiento de estos productos acarrearán pérdidas económicas debidas al deterioro, mala praxis por desconocimientos tecnológicos y de comercialización. Esto implica, culturizar o educar a los consumidores e invertir en investigaciones para la creación de nuevas tecnologías para el desarrollo de nuevos productos. Ahora bien, es lógico pensar que al tratar estos alimentos con mezclas de aditivos acidulantes alimentarios optimizadas, estos podrán almacenarse a condiciones ambientales sin refrigeración y sin sufrir daños putrefactivos.

El ámbito de estudio de esta investigación se corresponde con el área de tecnología e ingeniería de los alimentos, tomando como objeto de estudio la creación de una mezcla de un aditivo acidulante alimentario optimizado para la estabilización microbiológica de un embutido genérico muy perecedero; obtenido, manejado, conservado y comercializado bajo condiciones ambientales, como sujeto de estudio, generar conocimientos respecto a la estabilización microbiológica de ese tipo de producto terminado. Hoy día, en Venezuela, en el marco del desarrollo de la seguridad agroalimentaria sustentable, se deben generar investigaciones que contribuyan a la producción de alimentos procesados, estables durante su obtención, manejo, conservación y comercialización, que al momento del consumo presenten condiciones higiénico-sanitarios aceptables, sin ningún tipo de riesgo potencial al consumidor.

Esto significa la generación de una tecnología propia o en su defecto la adaptación de tecnologías ya consolidadas en especies industrializadas, (bovinos, cerdos, aves,

etc); lo cual plantea un reto tecnológico, mentalidad productiva responsable de los productores, responsabilidad social empresarial y responsabilidad social gubernamental, para cooperar así con la oferta de productos comestibles que la sociedad civil cada día demanda.

Se deben definir los parámetros de calidad y el manejo inducido de las variables respuestas pertinentes que le permita a los industriales y consumidores mantener dicho producto bajo condiciones ambientales, sin refrigeración; y como consecuencia de ello lograr una estabilidad microbiológica, que permita el consumo del embutido sin problemas de deterioro debido a la putrefacción.

La pulpa de pescado, siendo éste el ingrediente principal en la elaboración del embutido genérico, la Norma Covenin 3086-1994, la define como: "...músculo de pescado de una o varias especies, libre de espinas, escamas y piel, obtenido por extrusión, deshuesado mecánico o fileteado y molido...". En el proceso de fabricación, cuando dicho proceso lo requiera se pueden incorporar aditivos con funciones estabilizantes, texturizantes y mejoradoras de las propiedades organolépticas tales como crioprotectores, (polifosfatos de sodio o potasio, sacarosa, sorbitol); y mejoradores de textura como almidones. Los requisitos o criterios microbiológicos que dicha norma exige sólo radican en el riesgo admitido, que especifica: *Aerobios, mesófilos* ($1,0 \times 10^6$ y $1,0 \times 10^7$ Ufc/g) y *Escherichia, coli* (11-500 NMP/g).

La composición química de la pulpa de pescado como ingrediente principal y del producto terminado (embutido), es de gran alto valor nutritivo y energético, de utilidad para consumo humano; y a estos aplicando tecnologías ya existentes en otros rubros, como es la aplicación de mezclas de aditivos acidulantes alimentarios, se prevé el manejo inducido de los factores que afectan el crecimiento bacteriano, que permitan estabilizarlos y conservarlos por un tiempo prudencial, sin refrigeración, de allí la utilidad de esta tecnología y la necesidad de desarrollar proyectos de investigación en esta área (García, 2005., Luque, 2012, Avila, 2013, Ramírez y Latoucht, 2014); y específicamente en esta investigación, donde se valida el poder estabilizante de una

mezcla de aditivos acidulantes alimentarios optimizados, en el desarrollo de un nuevo producto.

Según García (2008), la microbiología y su efecto sobre la tecnología en el procesamiento de la carne es extensa, pues interviene una gama muy amplia de agentes donde juegan papel fundamental las bacterias, pero también son muy importantes los hongos, (mohos y levaduras).

El deterioro evidente, (putrefacción) es un grave problema en el procesamiento, la elaboración, la comercialización y vida útil en anaquel de los embutidos cárnicos, traduciéndose esta en desmejora de las propiedades organolépticas y en pérdidas económicas al respecto considerables. Por consiguiente, el deterioro de los embutidos a base de pulpa de pescado, objeto de este estudio es más acentuado, dado que el pescado y específicamente su pulpa, posee una flora bacteriana muy variada y en su contenido va a estar presente un complejo enzimático altamente proteolítico que induce a un franco deterioro, cuando las condiciones de manejo y los factores que afectan al crecimiento bacteriano están dentro del rango de desarrollo óptimo, Suzuki (1987).

Por ello se estudiaron las variables intrínsecas del sujeto de estudio que a criterio propio y en función de los estudios ya realizados, como también por los conocimientos bibliográficos revisados, deben ser manipuladas para lograr una estabilidad microbiológica en la conservación y comercialización de esos embutidos, que induzca o permita alargar su vida útil de anaquel, en condiciones ambientales.

Al presentarse el deterioro del producto terminado, (embutido genérico); bajo condiciones ambientales, sin refrigeración, este se traduce en una anomalía donde se manifiestan signos y síntomas, propios de dicho deterioro. La población de la investigación la constituyen todos los embutidos cárnicos; y la muestra poblacional, los embutidos elaborados a base de pulpa de pescado. La unidad funcional o experimental de análisis la constituyen las unidades elaboradas tratadas con la mezcla

de aditivos acidulantes alimentarios optimizados, establecida de acuerdo al diseño experimental seleccionado para tal fin.

Las bacterias de la putrefacción, son aquellas que causan deterioro en el alimento (cárnico) y que generalmente no causan problemas de salud al consumidor porque su acción de deterioro sobre el alimento produce cambios de color, olor, sabor, aspecto; que determinan el rechazo por parte del consumidor, García O (2008).

La medida de las variables acidez iónica o (pH), potencial oxido reducción (POR), acidez titulable total (ATT), capacidad buffer (CB), sólidos disueltos totales (SDT), conductividad eléctrica (CE) y contaje bacteriano indicador putrefactivo (Ufc/g); de una sustancia alimenticia determinada sugiere la posibilidad de clasificar estos sistemas en base a su intensidad, para definir qué parte del metabolismo respiratorio de los microorganismos putrefactivos está funcionando aceleradamente, y cuál está funcionando lentamente o se detuvo eventualmente. Por ejemplo, a valores de (POR) cercanos a (-700 milivoltios); la cadena respiratoria (fosforilación oxidativa), funcionará muy lentamente, eventualmente cesará y se acumulará adenosindisfosfato (ADP) y fósforo inorgánico (Pi) y estos inhiben las enzimas claves del ciclo de Krebs y de la glucólisis, inhibiéndose ambos; y así eventualmente, se detiene el metabolismo respiratorio celular.

Definida la situación problemática, el objeto, el sujeto y el ámbito de estudio, así como la unidad funcional de análisis y de muestreo, en esta investigación se planteó responder las siguientes interrogantes, respecto a la determinación y validación de una mezcla de aditivos acidulantes alimentarios optimizado de alto poder estabilizante microbiológico; acidulante constituido por la mezcla de GDL, ácido fórmico y ácido láctico, Ávila (2019). Luego, basado en la formulación del problema, esta investigación, se planteó responder las siguientes interrogantes:

¿Esta investigación permitirá crear una mezcla de un aditivo acidulante alimentario optimizado que estabilice el embutido genérico elaborado, de alta humedad, muy

perecedero que pueda almacenarse bajo condiciones ambientales sin refrigeración, por largos periodos? ¿Se podrá simular en forma robusta la estabilidad microbiológica del embutido genérico, que satisfaga simultáneamente las siguientes restricciones y condiciones de calidad: que minimice (Y_1): acidez iónica ($\text{pH} < 3,33$), minimice (Y_2): potencial redox (POR target: $-50; +50$ mV), maximice (Y_3): capacidad buffer, (CB), minimice (Y_4): acidez titulable total (ATT), maximice (Y_5): conductividad eléctrica, ($\text{CE} < 600$), maximice (Y_6): minimizar sólidos disueltos totales ($\text{SDT} < 350$), minimice (Y_7): contaje bacteriano indicador, minimice (Y_8): actividad de agua.

El diseño de muestreo estadístico económico del tipo Hipercubo latino (Space filling), para tres factores experimentales, ¿permitirá ajustar un modelo de simulación multi polinomial aditivo robusto? ¿Las herramientas tecnológicas de manipulación de variables extracelulares y las metodologías de optimizado operativo vía simulación determinista multiobjetivo, modulando la deseabilidad de calidad con funciones de reglas difusas multivalente; permiten desarrollar un quimioacidulante para lograr de manera eficiente, la estabilización biológica de un embutido genérico a base de pulpa de cachama, de alta humedad, sometido a condiciones ambientales, sin refrigeración, apto para consumo humano?

¿Mediante el “Simulator SAS JMP, versión 8”, se permitirá resolver vía simulación computarizada el sistema de ecuaciones multipolinomiales de alto orden, que satisfaga simultáneamente condiciones de calidad multiobjetivo de máxima estabilidad microbiológica en el tiempo, con mínimo potencial redox, mínimo pH, mínima acidez titulable total, máxima capacidad buffer, máxima conductividad eléctrica, máximo sólidos disueltos totales, mínimo contaje bacteriano indicador, al obtener una mezcla óptima de aditivos acidulantes alimentarios?

¿Cuál será la mezcla óptima matemática y operativa en función de los niveles de los aditivos acidulantes alimentarios: Glucono-delta-lactona, (GDL) en polvo, ácido fórmico en estado líquido y ácido láctico en estado líquido también; que generarían la

mayor estabilidad microbiológica en el embutido genérico a base de pulpa de cachama, que pueda ser mantenido a condiciones ambientales sin ningún indicio de deterioro en un tiempo prudencial?

Estos autores Derringer (1994), Aros et al. (2011), Anderson y Whitcomb y Kujawski (2014), Piffl y Stadlober (2015), establecen que en el área de investigación en tecnología e ingeniería de los alimentos para la elaboración de un proceso o producto de diseño óptimo se ha convertido en la búsqueda de una solución versátil entre múltiples especificaciones o deseabilidades de calidad, que requieren satisfacerse simultáneamente; sometido a múltiples restricciones de factores tecnológicos y de ingeniería. Las especificaciones que se cumplieron entran en conflicto y desaparece el concepto de “diseño óptimo” convencional, y se evoluciona al concepto de “optimización operativa”, ya que se tiene un problema de optimización multiobjetivo-multifactorial, en los que no existe una única solución sino un conjunto de soluciones en las que cada una tiene sus ventajas frente a las demás, pero donde ninguna es mejor en todos los aspectos.

Para las condiciones de optimización descritas anteriormente, en última instancia es el investigador el que debe presentar y buscar por vía simulación una o varias posibles situaciones que aporten soluciones al problema planteado. El compromiso de solución planteado en la optimización matemática y operativa, requiere el diseño de un modelo de simulación o sistema de ecuaciones, bajo un diseño de muestreo robusto, como son los diseños del tipo virtual (Encinia y Garza, 2002, Rodríguez, 2012 y Georgiou et al. 2014).

Por ello, bajo estas condiciones, Kujawski (2014), Georgiou et al. (2014) y Yong Tan (2014), exhortan utilizar métodos de optimización vía simulación para el tratamiento de restricciones y la utilización de simuladores con interfaz gráfico, en la toma de decisiones; al respecto, los softwares Statistical Analysis System y John's Macintosh Program (JMP versión 8 2014); MathWorks y Phoenix Integration (2014),

recomiendan utilizar las herramientas de análisis y visualización de soluciones, como son los simuladores con visualización gráfica interactivas de perfiles de respuesta, modulados con perfiles de calidad; que resuelven el sistema de ecuaciones complejas, utilizando el algoritmo de deseabilidad de Derringer y Süich (1980).

En lo referente al modelado multipolinomial (metamodelo) y la simulación computacional de eventos o procesos complejos, proveen una poderosa herramienta para comprender sus mecanismos, pronosticarlos e interactuar para modular su comportamiento; este proceso denominado “Optimización vía Simulación” (OvS), es un campo emergente que utiliza técnicas de análisis y optimización, usando módulos de la simulación computarizada, que integra la resolución simultánea de inecuaciones, modulados con modelos de calidad; y visualización gráfica del conjunto de modelos para cada respuesta y de los resultados emulados Gaudiana, (2015).

La optimización vía simulación se ha convertido en una poderosa técnica para el análisis y optimización de sistemas complejos. Así, se implementa un metamodelo de simulación para encontrar el conjunto de parámetros de ajuste que optimiza la salida del simulador. El uso de un metamodelo se hace para facilitar la tarea de optimización, que implica encontrar la mejor configuración de parámetros de entrada (coeficientes regresores de las variables controlables del sistema), con el fin de optimizar las múltiples funciones objetivos, (SAS JMP versión 8, 2012a; Cervantes, 2012; MathWorks, 2014; Phoenix Integration 2014; Gaudiana, 2015).

En cuanto al conocimiento del problema planteado sobre la estabilización microbiológica y conservación de productos de alta humedad perecederos, muestran que la tecnología de inducir, modificar o restringir los factores de crecimiento de bacterias putrefactivas, específicamente el potencial redox y el pH conjuntamente con el resto de las variables respuestas, mediante mezclas de aditivos acidulantes alimentarios optimizados, generan efectos adicionales como lo es la modificación de rutas metabólicas, que es una potente alternativa en la estabilización microbiológica y

conservación de productos alimenticios inestables por su perecibilidad a condiciones ambientales, alternativas que son de fácil desarrollo y de bajos costos (Ramírez y Latoucht, 2014).

Ahora bien, debido a la falta de investigaciones, desarrollo y adaptación de tecnologías, que son factibles de observar en el mundo real y objetivo, pueden adoptarse en situaciones propias de la producción de alimentos en nuestra región, nuestro país y más allá de la frontera, (Luque 2012, Ávila 2013, Ramírez y Latoucht, 2014).

La existencia de algunas experiencias sobre investigaciones en conservación de sustratos proteicos provenientes de alimentos muy perecederos de origen animal empleando ácidos, que según Machín (1986); Pérez (1995), Luque (2012), Ávila (2013), Ramírez y Latoucht (2014); indican que el uso de los aditivos acidulantes alimentarios optimizados, es una tecnología prometedora, dado los excelentes resultados encontrados en sus investigaciones.

Las primeras experiencias que se realizaron usando ácidos minerales como son el ácido clorhídrico, sulfúrico o fosfórico, se hicieron en ensilado químico, pero estos, usados solos, demostraron ser malos preservadores, Disney et al., (1977). Sucesivamente se demostró que al usar mezclas de ácidos se podía obtener un buen producto terminado, como mezclas de ácidos orgánicos (p. ej. fórmico, propiónico, acético, cítrico, láctico, entre otros); con ácidos minerales o usando ácidos orgánicos solos (Machín, 1986; Pérez, 1995, Luque, 2012, Ávila, 2013 y Ramírez y Latoucht, 2014).

Por otro lado, hay que hacer notar que los diseños “Space filling” son tan eficientes en la distribución espacial de los tratamientos, que repetir la experimentación virtual, posiblemente se generaría multicolinealidad, por ello, los diseños Space filling:

- a) No requieren puntos replicados, ya que la difusión de los puntos del diseño están distribuidos a la menor distancia posible entre dos puntos vecinos más cercanos y
- b) Distribuye los puntos de manera uniforme en el espacio, la “misma” distancia entre cada punto vecino más cercano. Estas ventajas permiten trazar (ajustar); casi cualquier tipo de modelo.

SAS JMP versión 8 (2012), MathWorks (2014) y Phoenix Integration (2014), muestran que los métodos, (Diseños Space filling); más comunes que se implementan en softwares comerciales para generar estos tipos de diseños, son.

1. El “Embalaje en Esfera Optimal dentro de un Cube” (Sphere-Packing Optimal Inside of a Cube)
2. El Hípercubo latino, (Latin hypercube)
3. El Uniforme (Uniform design)
4. El Potencial mínimo, (Minimum potential)
5. El de Máxima Entropía (Maximum entropy)
6. El Gauss IMSE optimal, (Gaussian Process IMSE Optimal)
7. El de llenado rápido flexible, (Fast flexible filling); sin embargo, hay refinamientos de estos, que lo hacen mucho más eficientes, como son los enfoques de Audze-Eglaisn y de Van Keulen, y los diseños Depth, Piffl and Stadlober (2015).

1.3. Importancia y justificación de la investigación

El aporte práctico y tecnológico que esta investigación genera como perspectiva, es generar un producto terminado, (embutido genérico); a base de pulpa de cachama, cuya estabilidad microbiológica se verá controlada por el conocimiento, uso y manipulación de las variables intrínsecas de la matriz de elaboración del producto terminado, como factores limitantes del crecimiento y multiplicación de bacterias putrefactivas, propias de dicho producto y del entorno del espacio de elaboración; y por la modificación inducida de esas variables, mediante el uso de una mezcla de aditivos acidulantes alimentarios, constituida por Glucono-delta-lactona (GDL); ácido fórmico y ácido láctico.

¿...Hacia dónde deben ir las investigaciones...? El uso de ácidos como aditivos orgánicos acidulantes alimentarios para el control del desarrollo y crecimiento de microorganismos, últimamente se ha retomado utilizando mezclas de ácidos, como es el caso de investigaciones en ensilado químico de residuos animales y vegetales. Está vigente el desarrollo de acidulantes comerciales y algunos experimentales, utilizando mezclas de ácido cítrico, acético, fórmico, láctico; entre muchos otros. Usar la mezcla más económica, la mezcla más amigable, la que posea mayor poder controlador, aquella mezcla que proporcione el potencial redox más cercano a potenciales extremos negativos, es decir potenciales hacia (-750 milivoltios, donde la cadena respiratoria de los microorganismos indeseables se vuelve de lenta y se acumula ADP y Pi, y estos ejercen control sobre la glucólisis y el ciclo de Krebs, de manera tal, que dejaría de funcionar su metabolismo respiratorio o trabajaría muy lentamente. Avila (2013)

El producto terminado podrá permanecer un tiempo prudencial en anaquel bajo condiciones ambientales, sin que se genere daño microbiológico alguno en sus propiedades organolépticas que lo hagan no apto para consumo humano, específicamente por la presencia de bacterias putrefactivas y hongos; siendo un producto muy perecedero y de alto contenido de humedad. En esencia se pretende así a ayudar a la generación de reacciones químicas y una ruta metabólica positiva, que estabilicen al producto terminado. Como valor teórico, se establece que los resultados trascienden hasta la sociedad civil, ya que se estará generando un producto de consumo masivo, con gran valor proteínico, cuyas condiciones de manejo y manipulación serán diferentes a las comúnmente usadas en ese ámbito.

Con referencia a la utilidad metodológica, se apoyó en la generación de modelos operativos, viables de optimización estadístico-matemática, usando simuladores interactivos visuales comerciales; así como una técnica operativa de procesos tecnológicos. En cuanto a la factibilidad para la investigación, se asegura la gestión propia para obtener los recursos financieros, humanos, materiales y de espacio físico que posee el Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales y

específicamente el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos, (LITA); con sus respectivos antecedentes, formación e investigaciones, que aseguran la viabilidad del proyecto de investigación.

Según el Plan General de Líneas de Investigación asociadas al doctorado en Ingeniería Agroindustrial, la investigación es vinculante con el numeral dos (2): Desarrollo de nuevos productos.

En cuanto a la justificación por requerimientos académicos institucionales, el objeto del estudio de esta investigación está contemplado en las áreas y líneas de investigación de estudios de postgrado (Programa de Estudios Avanzados) de la Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora”, (UNELLEZ); el cual establece como políticas la formación y capacitación de profesionales de cuarto y quinto nivel en las diferentes ramas del saber en concordancia con los últimos avances de la ciencia y la tecnología.

Respecto a la conveniencia, esta investigación permite dar valor agregado a productos derivados de la cachama, como también a otras especies de aguas continentales y marinas. Por otro lado, aporta conocimientos y amplía la variedad de diseños económicos, robustos en la modelación y optimización vía simulación sobre la variabilidad de calidad de procesos y productos.

La relevancia social y el efecto socioeconómico, permitirá a la sociedad aprovechar un recurso alimenticio, que actualmente sólo es aprovechado de manera fresca. La comunidad investigadora tendrá disponible la información y los conocimientos para optimizar procesos y productos, en forma rápida y económica; donde además de la producción artesanal y/o industrial, se pueda hacer experimentación virtual, para construir modelos sustitutos deseados, utilizando otros diseños o usando el mismo, el cual se puede aumentar, adicionando tratamientos y redimensionar un nuevo experimento en laboratorio.

Así mismo, se induce a estabilizar el embutido genérico, altamente perecedero, de alta humedad, dándole valor agregado, que podrá ser consumido luego de permanecer a condiciones ambientales, incrementando así su vida útil y disminuyendo costos por efectos de preservación.

La tecnología para generar una mezcla de un aditivo acidulante alimentario, permitió aprovechar este recurso y utilizarlo en nuestro propio beneficio, el cual puede usarse para formular y elaborar nuestros propios productos, tanto convencionales como no convencionales, elaborados con tecnología artesanal, semi-industrial o industrial; no sólo en el área de productos cárnicos y de origen pesquero, sino también en otras áreas del desarrollo agroindustrial.

Las implicaciones prácticas, permiten desarrollar procesos de modelación y de optimización vía simulación, tomando en consideración la variabilidad de las respuestas de calidad del producto terminado, con experimentación y simulación económica en laboratorio. El valor teórico de los resultados de esta investigación, permite conocer el comportamiento multifactorial de las variables involucradas en el proceso de elaboración de un embutido genérico, a base de pulpa de cachama, constituido por material orgánico de alta humedad; así como la relación entre ellas; que llena parte del vacío de conocimientos respecto a la creación y uso de aditivos acidulantes alimentarios orgánicos y a la utilización de diseños virtuales de “Llenado de espacio” en experiencias de laboratorios.

Respecto a la utilidad metodológica, en la investigación, se implementa la utilización de diseños experimentales de “Llenado de espacio” (Space filling), que son económicos en cuanto al número de tratamientos, y son altamente eficientes en experimentación física en laboratorio.

Los aspectos legales de esta investigación, se fundamentan según las necesidades definidas por la Constitución de la República Bolivariana de Venezuela, (1999); en su

Título VI, del Sistema Socio Económico; Capítulo I, del Régimen Socio Económico y la función del estado en la Economía.

Artículo 305: "...El Estado promoverá la agricultura sustentable como base estratégica del desarrollo rural integral y en consecuencia, la seguridad alimentaria de la población, entendida como la disponibilidad suficiente y estable de alimentos en el ámbito nacional y el acceso oportuno y permanente a éstos por parte del público consumidor. La seguridad alimentaria deberá alcanzarse desarrollando y privilegiando la producción agropecuaria interna, entendiéndose como tal la proveniente de las actividades agrícolas, pecuarias, pesqueras y acuícolas. La producción de alimentos es de interés nacional y fundamental al desarrollo económico y social de la Nación..."

Esta investigación se justifica, ya que está enmarcada en el Plan General de Investigación de la UNELLEZ 2008-2012, dentro del área y líneas de investigación: ciencias del agro y ambientales, específicamente la línea de investigación, seguridad agroalimentaria; y en el área ingeniería, arquitectura y tecnología: "Modelado, Optimización y Simulación de Sistemas"; y "Tecnología y Procesos Industriales". Desde el punto de vista estratégico, la UNELLEZ mantiene en esta área, los lineamientos nacionales para la seguridad agroalimentaria, siempre considerando al hombre y a su entorno como un todo que debe estar en equilibrio.

Por otro lado, la factibilidad técnica de observar y medir las variables de investigación de manera objetiva en el sitio de experimentación, facilita la posibilidad de simular pruebas de validación de datos y respuestas generadas. La novedad metodológica está basada en: uso de un diseño experimental con matriz de muestreo de tratamiento virtual, análisis de datos y razonamiento didáctico de resultados con análisis multifactorial de modelación de relaciones de causalidad, generando un sistema emulador que permite simular condiciones de trabajos futuros y optimización con modelos lineales, de ecuaciones de datos referenciales, de una mezcla de aditivos acidulantes alimentario, no convencionales.

Visto los planteamientos anteriores y con la revisión de literatura, aun usando la Deep web, no se detectó el uso de diseños virtuales, aplicados a la experimentación en laboratorio de alimentos; por ello, en la investigación se planteó, usar y evaluar la eficiencia de un diseño de muestreo virtual del tipo “Llenado de espacio”, un Hípercubo latino, en el ajuste de modelos de simulación (modelo lineal múltiple cuadrático de alto orden), para las respuestas medidas para cada ecuación. Los modelos matemáticos generados, permiten simular el proceso en función de los factores sometidos a estudios.

1.4. La modelación y optimización estadística-matemática en alimentos multifactor-multiobjetivo

Al respecto, en base a la revisión bibliográfica, se puede definir que:

1. No se utilizan herramientas informáticas de computación inteligente para la optimización multifactorial y multiobjetivo de procesos de conservación de alimentos (bien tecnológicos o modelos redox moleculares); tal como diseños experimentales eficientes, metamodelación estadística, ni simulación estadística, modulada con iteraciones (Kembro, et al., 2012; Avila y Rivas, 2019). Por ejemplo, Kembro, et al. (2012); construye 25 ecuaciones diferenciales ordinarias, para modelar la energética mitocondrial, utilizando factores extracelulares, flujos respiratorios y el potencial redox; un modelo estadístico para simular el comportamiento del proceso descrito en la figura 01, siguiente.

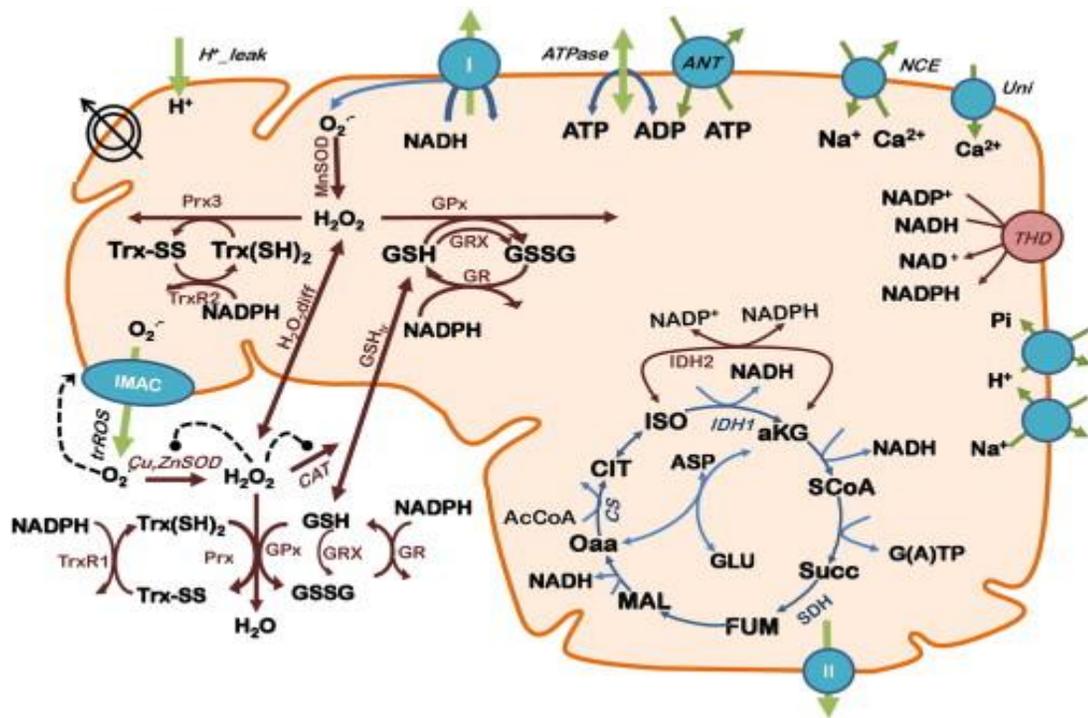


Figura 01. Modelo energético-redox mitocondrial

Fuente: Kembro, et al. (2012)

2. Existen pocos y deficientes estudios en lo que respecta a modelación molecular de proteínas, para el acoplamiento molecular de moléculas de señalización redox; esto para la representación de las estructuras de los fenoles, empleando programas informáticos como el Chem Draw Professional, El programa Chem3D, que permite la optimización de la geometría de los mismos, utilizando el método de mecánica molecular, (en inglés Merck Molecular Force Field). (Kembro, et al., 2012; Stokes, et al., 2020).

3. Escasa la utilización de modelación molecular de las proteínas de señalización redox para estudiar sus estructuras tridimensionales. (Kembro, et al., 2012; Avila y Rivas, 2019; Stokes, et al., 2020).

4. No se utilizan programas para el estudio de acoplamiento molecular, como por ejemplo los programas AutoDock y AutoDockTools, los cuales son de libre y gratuito acceso. (Kembro, et al., 2012; Avila y Rivas, 2019; Stokes, et al., 2020).

5. No se utilizan programas para visualizar las interacciones hidrofobias y por puente de hidrogeno de los complejos compuestos químicos ni bioquímicos, pudiéndose usar el programa Ligplot. (Kembro, et al., 2012; Avila y Rivas, 2019; Stokes, et al., 2020).

Sobre las deficiencias anteriores, se puede concluir que los estudios sobre el control del desarrollo y crecimiento microbiano, se recomienda implementarse a través de aplicación de combinaciones de múltiple barreras, como son, aplicación de electroterapia de choque, mezclas de ácidos orgánicos, mezclas de polifenoles, mezclas de sales y mezclas de azúcares; todo ello con el objeto de modular el potencial de óxido reducción, la conductividad eléctrica, los sólidos disueltos totales moleculares; con el fin de modular la señalización molecular metabólica en la activación/inhibición de rutas metabólicas, fundamentalmente rutas del metabolismo respiratorio Avila (2022).

1.5. Formulación del problema

La esencia de la investigación, se refiere a los efectos deteriorativos sobre los productos cárnicos derivados de especies industrializadas como también de especies de pescados de aguas continentales y de origen marino; cuando estos son sometidos a condiciones ambientales o su método de conservación (bajas temperaturas: refrigeración); se ve afectado por deficiencias del suministro de energía eléctrica de la zona; problema que requiere ser resuelto. Por tanto, la investigación formula como estrategia para contribuir en la solución del problema: “La creación de un quimio acidificante-acidulante orgánico robusto”, que se formula y elabora con una mezcla de GDL y de ácidos orgánicos (fòrmico y láctico); aprovechando también cuando en la matriz en la elaboración del alimento (embutido) se mezcla con aditivos específicos usados en el proceso de elaboración, que actúan como conservantes: sal, azúcar, sal de cura (mezcla 90% de NaCl y 10% de nitratos y nitritos), fosfatos, eritorbatos, especias, condimentos, aditivos; aprovechando la sinergia de todos sus componentes en conjunto.

El quimio acidificante-acidulante robusto, actúa en la estabilización de la actividad

de los procesos energéticos y metabólicos del producto terminado y los microorganismos que se desarrollan en él, con alto valor nutritivo y alta humedad, que permita su almacenamiento al ambiente sin refrigeración y sin biocidas; según lo exhortan, Botello y col. (2010); Chalamaiyah y col. (2012); Luque (2012); Fernández y col. (2013); Suarez (2018). Sin embargo, para esto, Avila y Rivas, 2019, muestran que hay deficiencias de DICs (Datos, Información y Conocimientos) en cuanto a efectos de las mezclas de ácidos orgánicos y otros agentes conservantes, sus dosis, eficiencia y productividad.

A tal efecto, la investigación explora bajo diseño experimental (diseños de muestreo estadístico mixto dual optimal: Hípercubo latino, mezclas de ácidos orgánicos y, se modela el comportamiento de las variables: acidez iónica (pH), potencial redox (POR), Capacidad buffer (CB), Acidez titulable total (ATT), conductividad eléctrica (CE), sólidos disueltos totales (SDT), contaje bacteriano (Ufc/g).

A través del contexto de la investigación, se definió los siguientes ejes del estudio:

1. Desarrollo del esquema tecnológico básico para la manipulación de variables extracelulares, basado en experimentación estocástica del proceso de elaboración y conservación de alimentos
2. El desarrollo de metamodelos de experimentación determinística” y,
3. La optimización operativa del proceso vía simulación determinística multiobjetivo, modulando la deseabilidad de calidad.

La población muestral (los embutidos genéricos elaborados) y la unidad funcional de análisis fue 250 gramos c/u, fueron elaborados según formulación y esquema tecnológico diseñado, calculado y ejecutado según lo ya preestablecido.

1.6. Importancia de la investigación

La estrategia de los resultados de la investigación, permiten aprovechar la manipulación de variables extracelulares, embutido genérico a base de pulpa de cachama, que al estabilizarlos; se la dará valor agregado y se pueden almacenar o

manipular a las condiciones ambientales propias de zonas tropicales, sin gasto de energía (refrigeración), ni uso de biocidas. Evitándose las pérdidas debido al deterioro, causado por el desarrollo, crecimiento y multiplicación de microorganismos “no deseables”.

El alcance y proyección (relevancia social) que tiene la investigación y sus resultados estará referida a que, se dispone con los resultados logrados de una tecnología de conservación de embutidos escaldados; que aumenta el grado de sustentabilidad de los procesos agroindustriales.

Como consecuencia de la investigación, benefician a,

1. En primer lugar, las grandes agroindustrias, la mediana y pequeña agroindustria, la producción artesanal; con los resultados obtenidos, ahora disponen de un aditivo alimentario que puede ser incluido en las formulaciones, para la elaboración de derivados cárnicos y productos a base de pulpa de pescados, con miras a su estabilización cuando se manipulan y conservan bajo condiciones climáticas propias de la región tropical
2. En segundo lugar las plantas agroindustriales y los productores en general, una vez comprobada la eficiencia de la tecnología derivada, podrán almacenar sus productos, sin método alternativo de conservación.
3. La sociedad en general, bajo estas condiciones puede evitar el gasto de energía (refrigeración) en procesos de conservación, para productos de este tipo
4. Mayor margen de rendimiento económico de comercialización, ya que al disponer de un embutido estabilizado, se puede almacenar a largo plazo al ambiente, sin gasto de energía adicional.

Las implicaciones prácticas de los resultados de la investigación, además, la tecnología a desarrollar permite extender su aplicación a cualquier embutido de origen orgánico (animal); aplicado para consumo humano. El valor teórico de los resultados de la investigación, es que contribuye en llenar parte del vacío vigente de DICs (Datos,

Información y Conocimientos), sobre las dosis requeridas de mezclas de ácidos, aplicados a derivados cárnicos y pesqueros, sus efectos biológicos y su efectividad de conservación. Los DIC`s generados servirán para apoyar la teoría del control fisiológico del metabolismo respiratorio de los microorganismos, a través del control y manipulación de las variables implícitas en el producto elaborado. Aquí, se conoce aún más el comportamiento de las variables “ácidos orgánicos” “sus mezclas” y las relaciones funcionales de control de las variables respuesta en estudio.

De tal manera que con el análisis de los datos e información, se puede generar conocimiento e ideas y recomendaciones para investigaciones futuras. La utilidad metodológica de los resultados de la investigación, permiten desarrollar una metodología de conservación propia, específica e integrada de secuencia de eventos estocásticos y determinísticos, aplicados en la optimización de procesos en el desarrollo de nuevos productos.

Por otro lado, el beneficio es colectivo, en el contexto intrauniversitario y extrauniversitario, pues se logran construir arreglos estadísticos de muestreo de tratamientos experimentales robustos; que permiten simultáneamente su uso tanto en experimentación estocástica como determinística. Se generan herramientas que permiten construir modelos estadísticos complejos, para explicar y optimizar procesos biológicos, vía simulación, modulado con funciones de deseabilidad.

1.7. Hipótesis de trabajo

Este proceso de investigación estocástico y determinista, nos condujo a crear una mezcla óptima quimioacidulante, que permite la estabilización de derivados cárnicos y pesqueros, de alta humedad, con gran valor nutritivo; que pueden almacenarse al ambiente sin refrigeración y apto para consumo humano.

1.8. Objetivo general

Desarrollar un embutido genérico a base de pulpa de cachama híbrido (*Colossoma x Piaractus*); estable a condiciones ambientales para consumo humano.

1.9. Objetivos específicos

Para lograr el objetivo general, se plantearon como complemento los siguientes objetivos específicos:

Elaborar las unidades de análisis (embutido genérico), a base de pulpa de cachama, según formulación y esquema tecnológico de elaboración.

Caracterizar los aditivos acidulantes alimentarios a usar en la mezcla, Glucono-delta-lactona (GDL), ácido fórmico (AF) y ácido láctico (AL).

Determinar los niveles mínimos y máximos de la mezcla de los aditivos a usar en el experimento (Glucono-delta-lactona, ácido acético y ácido láctico), en base a pruebas pilotos.

Optimizar las mezclas de los aditivos acidulantes alimentarios: GDL, ácido fórmico y ácido láctico; que simultáneamente maximice las respuestas de calidad deseables como estabilizante microbiológico en el embutido producido.

Validar la mezcla optimizada de los aditivos acidulantes alimentarios, en el producto desarrollado (embutido genérico), durante el almacenamiento sin refrigeración. Vía simulación estocástica y determinista, evaluando cambios temporales de las variables respuestas en función de las características de calidad deseables e indeseables.

1.10. Alcances y limitaciones de la investigación

El alcance y las limitaciones de aplicabilidad de los datos generados, modelos y resultados obtenidos en el desarrollo de esta investigación, estos solo son válidos: para la mezcla del aditivo acidulante alimentario utilizando (GDL, ácido fórmico y ácido láctico), en el rango y dosis determinadas, probadas y validadas; y bajo las condiciones experimentales diseñadas y ejecutadas.

Sin embargo, las pruebas experimentales de validación y la efectividad de la mezcla del aditivo acidulante alimentario en el embutido genérico de alta humedad, altamente perecedero, debe ser efectiva, para estabilizar microbiológicamente el producto objeto de estudio. En cuanto al alcance y extrapolación de aplicabilidad de los datos, tenemos:

1. Los modelos estocásticos obtenidos, pueden generalizarse, en experimentación virtual, con la creación de nuevos modelos, (metamodelos sustitutos).
2. Los resultados de la aplicación de la mezcla de aditivos acidulantes alimentarios creada, se pueden generalizar, en otros productos derivados de la pulpa de pescado y/o similares. Si se requiere generalizar más la aplicabilidad de la mezcla en estudio, se deben realizar pruebas experimentales adicionales específicas.

1.11. Ubicación geográfica

Esta investigación se realizó en San Carlos estado Cojedes, en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), del Programa Ciencias del Agro y del Mar del Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales, Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora”, (UNELLEZ).

1.12. Institución, investigador

Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora” (UNELLEZ), Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales, (VIPI); Programa de Estudios Avanzados, (PRESAV); San Carlos estado Cojedes-Venezuela. Ing. MSc. Miguel Ángel Luque Serrano, cédula de identidad N° 3917536; docente, investigador y extensionista del Programa Ciencias del Agro y del Mar, adscrito al Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales (VIPI), de la Ilustre Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora” (UNELLEZ).

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.

2.1. Uso de aditivos acidulantes alimentarios orgánicos como conservadores de productos alimenticios (embutidos)

Aquí, se describen hechos científicos basados en experiencias, investigaciones, teorías y bases legales, que apoyan y contribuyen al desarrollo de una metodología de creación de una mezcla quimioacidulante, usando una mezcla de GDL y los ácidos fórmico y láctico, aplicando herramientas de diseño de muestreo estadístico experimental en investigaciones estocásticas y para la experimentación determinística, mediante el uso de computación inteligente con optimización operativa de procesos metabólicos redox extracelular.

Las experiencias obtenidas y revisadas sobre la modularidad natural del metabolismo celular de bioprocesos, con manejo de factores extracelulares, en la activación/inhibición de rutas metabólicas, fundamentalmente del metabolismo respiratorio de los microorganismos que pudieran estar presentes en el producto desarrollado; se hace aplicando el quimioacidulante para modificar las rutas metabólicas a conveniencia mediante el control y manipulación de variables, y muy particularmente el potencial redox y el pH intra-extracelular.

Luego, aplicando procedimientos en experimentación inteligente, utilizando algoritmos de diseños de muestreo estadístico robustos, en investigación dual (estocástica y determinística), en procesos tecnológicos en el área de alimentos. Cuando hacemos mención a modelos determinísticos nos referimos a aquellos modelos donde los datos se conocen con certeza, es decir, se supone que cuando se analiza un modelo generado, se tiene disponible toda la información necesaria para la toma de decisiones.

Seguidamente, se presentan aplicaciones de herramientas estadísticas de metamodelación multifactor-multiobjetivo de procesos metabólicos y, finalmente el

empleo de herramientas estadísticas de optimización vía simulación, con funciones estadísticas de deseabilidad de calidad modulada con multimétrica; usando simuladores de plataformas con interfaz interactiva de softwares estadísticos comerciales, que permiten el seguimiento, aseguramiento y control del proceso metabólico, en tiempo real.

Posteriormente, se inscriben fundamentos teóricos, que soportan los fundamentos de la investigación, referidos a enfrentar la problemática planteada (problema, objeto y sujeto de estudio), referido a la problemática de conservación de materia orgánica, muy perecedera, de gran valor nutritivo y de alta humedad.

Dado que el proceso de esta investigación nos permitió crear una sustancia quimioacidulante (mezcla de GDL y ácidos orgánicos) como conservante de alimentos perecederos; este se inicia con una investigación documental contemporánea para precisar qué hay divulgado respecto con los fundamentos de la manipulación de las rutas metabólicas moleculares de la actividad propuesta, con los métodos, técnicas y herramientas de lo que se pretende hacer, con soporte y fundamentación de cada una de las actividades de las fases de la investigación.

El uso de aditivos acidulantes alimentarios orgánicos, ha tenido poco uso en nuestro país a nivel de productos alimenticios, sin embargo, existen aproximaciones de su empleo en el desarrollo de nuevos productos para consumo animal, que en esencia vienen a constituir el desarrollo de nuevas tecnologías muy similares a las que se desarrolló en esta investigación.

2.2. Antecedentes de la investigación

Para iniciar con este tópico, se realizó una búsqueda documental de fuentes de datos, información y conocimientos sobre productos similares de mezclas de aditivos acidificantes quimioacidulantes, para conservación de productos alimenticios a base de materia orgánica, húmedos de origen animal; lo que aseguró que no existe un producto

formula u obtenido con un proceso tecnológico como el creado, mediante esta investigación.

En la búsqueda a través de fuentes bibliográficas e internet, no se detectó alguna patente relacionada con el quimioacidulante orgánico, optimizado estocásticamente con diseño de muestreo estadístico robusto y determinista. Al respecto, se encontraron tres (03) patentes de versiones de conservantes químicos, que usan mezcla de ácidos orgánicos permitidos y otros no permitidos, que además incorporan sustancias prohibidas (biocidas), no aptas para consumo humano. Productos comerciales que llevan por nombre, Silage Mediterráneo, Promyr NF, Kofasil Ultra y GrasAAT, son productos comerciales para conservación de material vegetal fundamentalmente pastos y forrajes húmedos.

2.3. Modelos predictivos usados en la industria de alimentos

Los modelos predictivos empleados en microbiología de alimentos tuvieron su primer impulso en la predicción de la vida útil de los productos de la pesca (Olley y Ratkowsky, 1973). Desde entonces han sido aplicados específicamente en la industria de la carne, tanto para predecir tiempos de alteración como para la estimación objetiva de las prácticas higiénico-sanitarias. Gill et.al (1998). Los modelos secundarios más usados en microbiología predictiva aplicados para determinar la influencia de distintos factores limitantes son los denominados o realizados bajo la Metodología de Superficie de Respuesta. En esencia, son modelos de regresión lineal múltiple que relacionan los parámetros microbiológicos primarios con términos lineales, cuadráticos e interacciones de los factores limitantes del crecimiento. Y los modelos terciarios son sistemas de ecuaciones multiobjetivo, generando un modelo para cada respuesta y se pueden usar como modelos de simulación con ayuda de la inteligencia artificial. Hui, et.al (2006).

El uso de ensilaje de orujo crudo de aceituna como alimento para pequeños rumiantes en Chipre: una revisión [2000]. Hadjipanayiotou, M. (Agricultural Research

Institute, Nicosia (Cyprus)); este artículo es una revisión de la investigación y los ensayos de campo realizados en Chipre entre 1993 y 1997 con el objetivo de evaluar el valor nutritivo del orujo crudo de aceituna, el subproducto que queda después de la extracción del aceite de oliva de las aceitunas. El ensilado de orujo crudo derivado del proceso de la aceituna de solo o con otros subproductos agroindustriales y residuos animales resultó en un almacenamiento prolongado en muy buenas condiciones. El subproducto ensilado, que contenía alrededor del 10,5 por ciento de aceite (base MS), era muy agradable al paladar.

Vale la pena recalcar, que si existiere alguna no detectada, la investigación en curso es válida, ya que las patentes de productos comerciales, su composición en cuanto a sus ingredientes, como también sus dosis de aditivos no se presentan ni se conocen a la luz pública. Para el caso de este estudio, se desarrolla un quimioacidulante; generando una mezcla de GDL y de ácidos orgánicos (fòrmico y láctico), comestible, para lo cual se determinan las dosis optimas de cada componente usado; que para efectos de esta investigación, se denomina en lo adelante (QMA).

Según Avila (2022), tanto la Comunidad Europea (CE) como en (USA), para aprobar un estabilizante acido a base de materia orgánica, solo exigen medir: pH, metano, butirato, amonio, clostridios, absorción, digestibilidad, presión osmótica, todos en condiciones aerobias y en condiciones anaerobias. Normativa poco rigurosa y, como es en general para normas de marcas comerciales no muestran sus dosis de cada componente ni explican el fundamento molecular de los procesos bioquímicos ni fisiológicos del uso de los aditivos incorporados en el control de (variables extracelulares indicadoras de potenciales cambios fisicoquímicos y microbiológicos).

Puede observarse que no incluyen las variables: potencial redox, conductibilidad eléctrica, capacidad buffer, ni solidos disueltos totales moleculares; que son variables o parámetros externos indicadores del control de variables fisicoquímicas, bioquímicas y fisiológicas del desarrollo de actividades de modificación de las propiedades

organolépticas propias de los alimentos a consecuencia de proliferación de microorganismos putrefactivos; estas son variables claves que ejercen control molecular sobre las actividades metabólicas. Así, a través del control inducido de la activación/inhibición de las actividades del metabolismo celular, sobre todo en procesos claves como el desarrollo, crecimiento, la proliferación, la diferenciación e incluso en la sobrevivencia celular; ya que como consecuencia la mezcla obtenida y aplicada al embutido, se modifica el sustrato donde se incorporó, (activa o inhibe).

Un ejemplo claro lo constituye el sistema del metabólico respiratorio, como el de las NADH oxidasas y NADPH oxidasas y en general las enzimas inductora de activación/inhibición de las actividades de las mitocondrias, bien en forma directa (halosterismo/retroaccion). Siendo el halosterismo el proceso en el que la unión de un compuesto a un sitio topológicamente distinto del centro activo de una proteína afecta a la actividad de la misma, generalmente por provocar un cambio conformacional. Ejemplo, la modificación del ADN_m (ADN mitocondrial) permitiendo controlar la expresión génica fenotípica diferencial de intermediarios metabólicos, sin modificar el ADN nuclear, ni extra nuclear.

Al respecto, los referentes de interés que aportan a la investigación sobre uso de ácidos orgánicos en la estabilización biológica de materia orgánica con alta humedad, alto valor nutritivo y muy perecedero, se muestran a continuación:

García (1999); Luque (2012); Ávila (2013); Ramírez y Latoucht (2014) y Ruiz (2015), encontraron excelentes resultados en el ensilado químico a base de materia orgánica perecedera (residuos de y pescados infravalorados), al mejorar la estabilidad de conservación en almacenamiento bajo condiciones ambientales, sin refrigeración. García (2005) y Luque (2012), obtuvieron ensilados químicos de residuos generados en el proceso de despulpado mecánico de la cachama híbrido (*Colossoma x Piaractus*), optimizando estadísticamente el proceso, obteniendo una mezcla de residuos generados en el proceso de despulpado de cachama; (cabezas, vísceras, piel, escamas, espinas, huesos, etc). Estos fueron molidos, agregándole 2,51 % de ácido fórmico al 85%, a una

temperatura de operación de 36,3 °C y en 23,9 horas se obtuvo un ensilado estable, con un pH de 4,34 unidades.

Por otro lado, Lee et al., (2002), estudiando el efecto de los ácidos cítrico y ácido acético, señalan que ambos ácidos tienen propiedades antimicrobianas, son efectivos contra patógenos diferentes. El ácido cítrico es más efectivo contra bacterias Gram positivas (+), como *Clostridium, perfringens*; mientras el ácido acético es más efectivo contra bacterias Gram negativas (-), como la *Salmonella spp* y *Echerichia, coli*. La combinación de ambos no muestra sinergismo o antagonismo.

Sobre la estabilización microbiológica y conservación de productos, residuos y subproductos, muestran que la aplicación de la tecnología con mezclas de aditivos acidulantes orgánicos con efectos adicionales de bactericida y fungicidas es una potente alternativa en la conservación de estos productos orgánicos inestables, son de fácil desarrollo y de bajo costo, por ello su viabilidad logística posible.

Sin embargo, su aplicación a nivel artesanal, semi-industrial e industrial es deficiente, debido a la falta de investigación, desarrollo y/o adaptación de estas tecnologías. Es necesario planificar, desarrollar, ejecutar y poner en práctica investigaciones que sean factibles en el mundo real y objetivo, para adaptarlas a situaciones propias y típicas de la región de los Llanos Occidentales, área de influencia de la Universidad “Ezequiel Zamora”; (Luque, 2012; Ávila, 2013; Ramírez y Latoutch; 2014, Ruiz, 2015).

En cuanto al uso de ácidos orgánicos, Woolford (1975) y McDonald et al., (1991), encontraron que los ácidos sórbico y benzoico muestran una fuerte actividad antibiótica; al respecto Driehuis et al. (1996) y Oude Elferink et al., (1999), encuentran que el género *Lactobacillus* es un inhibidor muy eficaz del proceso de deterioro aeróbico, esto parece explicarse principalmente por la capacidad que posee para

degradar bajo condiciones anaeróbicas, el ácido láctico en ácido acético y 1,2-propanodiol, lo cual causa a su vez una disminución muy significativa del número de levaduras presentes.

Las primeras experiencias en Venezuela se realizaron con pescado en 1984 en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Central de Venezuela (UCV), trabajando con ensilados químicos de pescados infravalorados para aprovechar la abundante fauna acompañante del camarón, capturado con redes de arrastre en la zona oriental del país, Bello (1987). Este ensilado se elaboró con el 60% de los residuos frescos y molidos, a la cual se añadió ácido fórmico con una concentración del 85%. Se agregó al 3,5 % en función del peso de los residuos molidos, controlando el tiempo y la temperatura ambiente del ensayo, Luque (2006)

2.4. Tecnologías emergentes redox en el control del crecimiento y desarrollo microbiológico

La sobrevivencia en presencia ácido orgánicos extracelulares y ocasionalmente intracelulares induce al estrés ácido extracelular y es intensificado por la presencia de ácidos grasos de cadena corta (de 2 a 6 átomos de carbono, siendo los principales el ácido acético [acetato], el propiónico [propionato y el butírico [butirato]), altas concentraciones de los cuales son producidos como sub productos de fermentación por la microflora existente.

Estos ácidos débiles impregnan la membrana celular en forma no dissociada (sus sales), de esta forma permean dicha membrana y entran a la célula y al disociarse dentro del citoplasma (eventualmente en el citosol de los orgánulos), entregan protones y deprimen el potencial redox interno, así como la entrega de una correspondiente cantidad del anión ácido a lo interno celular. La extensión de este proceso está determinada por el potencial transmembrana, que es más pronunciada en un ambiente enriquecido con ácidos orgánicos extracelular, fundamentalmente en forma de sales.

Por lo tanto, los ácidos orgánicos (solo sales o sus esteres) penetran en la membrana e intensifican el estrés de acidez extracelular y eventualmente la intracelular (Kirkpatrick, et al., 2001). Fundamentación que debe considerarse en función del pKa de cada sustancia usada para generar la mezcla quimioacidulante. El acetato y el formiato son los principales productos de fermentación de bacterias y levaduras. Por debajo de pH 7,0 y a potencial redox muy bajo, el equilibrio cambia a lactato. Cuando se aporta una sobre oferta extracelular de acetato o formiato, por retroacción y halosterismo retarda el crecimiento de algunas especies de bacterias.

Posteriormente, Peng, et al., (2015), mostró que el acetato a un potencial redox de (-138 mV) y el formiato a un potencial redox de (-160 mV), puede ser usado como sistema tecnológico epigenético para el control del potencial redox, en la activación/inhibición. Siendo la epigenética un campo de investigación que ha experimentado un '*boom*' en los últimos años gracias al avance en las técnicas que facilitan su estudio. Se centra en los cambios producidos en el DNA e histonas que modifican la estructura de la cromatina sin afectar a la secuencia de nucleótidos pero produciendo cambios en la expresión génica.

En <http://commonfund.nih.gov/epigenomics/figure.aspx> (National Institutes of Health)

Las histonas son un grupo de proteínas básicas de pequeño tamaño presentes en las células eucariotas, involucradas en el empaquetamiento del ADN formando la fibra de cromatina. Las histonas se unen al ADN, ayudan a dar su forma a los cromosomas y ayudan a controlar la actividad de los genes. Existen cinco familias que se clasifican en histonas del core (H2A, H2B, H3, H4) e histonas linker (H1). Existen diversas modificaciones de las histonas: metilación, acetilación, ADP-ribosilación, ubiquitinación, citrulación y fosforilación. Siendo las histonas un tipo de proteínas que se encuentra en los cromosomas. Obsérvese la figura...

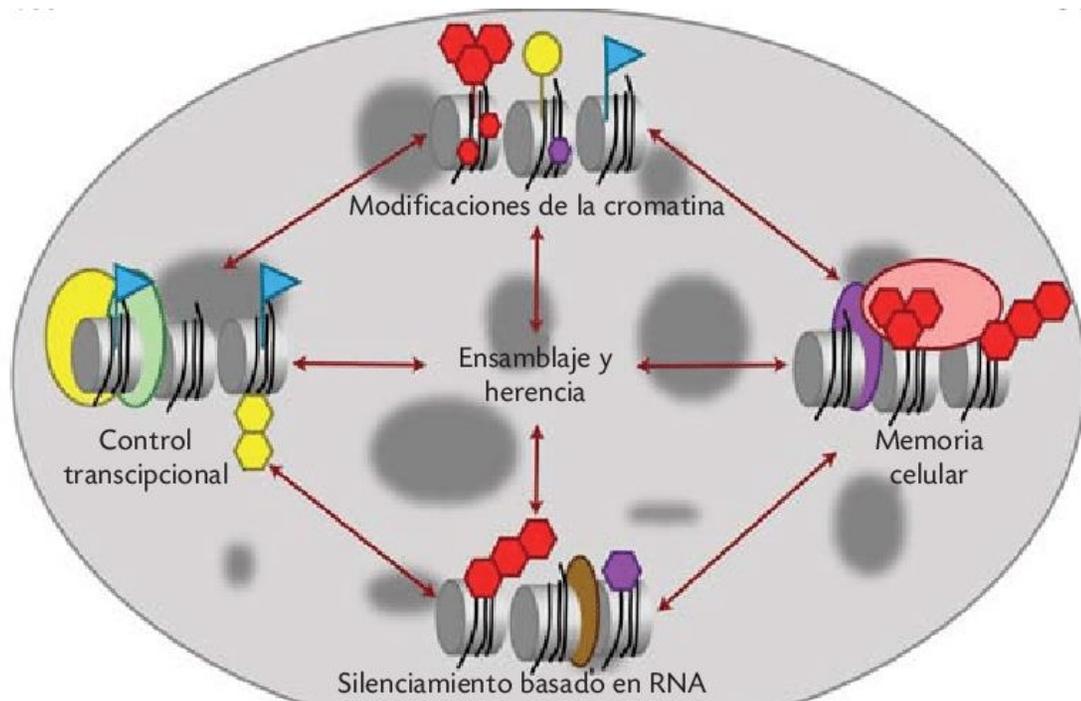


Figura 02. Impacto del control epigenético: las modificaciones bioquímicas del ADN (metilación, hexágonos pequeños) y las histonas (metilación, hexágonos grandes), acetilación (triángulos) y fosforilación (círculos), ocurren como respuesta.
Fuente: <https://www.researchgate.net/figure>

El término epigenética fue acuñado por C.H. Waddington en 1942 para referirse al estudio de las interacciones entre los genes y el ambiente que se producen en los organismos. El biólogo lo definió como el estudio de todos los eventos que llevan al desenvolvimiento del programa genético del desarrollo o el complejo proceso de desarrollo que media entre genotipo y fenotipo. Se refiere al estudio de los factores que, sin corresponderse a elementos de la genética clásica, juegan un papel muy importante en la genética moderna interactuando con estos. En biología, la epigenética es el estudio de los cambios fenotípicos estables que no implican alteraciones en la secuencia del ADN. El prefijo griego “epi”, en epigenética implica características que están "sobre" o "además de" la base genética tradicional.

El potencial redox extracelular y las otras variables consideradas (pH, conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales, capacidad buffer, contaje bacteriano),

coadyuvan a activar/inactivar la homeostasis redox intracelular y el metabolismo; en consecuencia, controlan los perfiles de los productos de degradación microbiológica, de tal manera que estas variables aunados al factor ambiental extracelular proporciona una alternativa para el monitoreo y control de estos procesos metabólicos. Mostrando esta investigación en el impacto del potencial redox en la expresión epigénica de biosíntesis de proteínas y metabolismo respiratorio. Lográndose utilizar el potencial redox como estrategias de control para aumentar la eficiencia de producción de sustancias ácidos lácticos (Liu, et al., 2012).

Por otro lado, los experimentos patentados sobre materia vegetal, no aseguran periodos de vida largos; ni miden, ni controlan el potencial redox (POR), la conductividad eléctrica (CE), ni los sólidos disueltos moleculares totales (SDT); que son parámetros indicadores fundamentales de cambios fisicoquímicos y microbiológicos de control de cambios metabólicos sobre la modularidad natural del metabolismo celular de microorganismos.

Discusión y aporte Luque (2022), en ensilado biológico con lactobacilos lácticos, la fermentación genera ácido láctico y es este quien controla el potencial redox-pH, que hacen que las bacterias y hongos deteriorativos reduzcan o se detengan la velocidad de las reacciones de la cadena respiratoria. Avila y Rivas (2019), recomiendan ahorrarse el proceso de cultivo biológico y agregar el ácido láctico directamente en dosis proporcionalmente altas, para una estabilización casi instantánea. El ensilado biológico tiene el consiguiente inconveniente de que el ácido láctico está presente en bajas dosis y es consumido posteriormente por microorganismos, quedando desprotegido el material orgánico en el mediano y largo plazo.

Al respecto se detecta que en la gran mayoría de investigaciones sobre conservación de alimentos, no se estudian las variables que en definitiva son los indicadores básicos de la capacidad de cambios fisicoquímicos y microbiológicos que pueden

activar/inhibir las rutas o actividades metabólicas de los microorganismos putrefactivos presentes en dichos alimentos (embutido).

Sin embargo, por ser dichos aportes de investigación científica pura, muy precisa en procesos específicos moleculares, presenta la deficiencia de la no exploración multivariada, y no se usan los métodos estadísticos de optimización multiobjetivo, multifactoriales, donde se sometan a simulación con la generación y expresión de metamodelos, modulados; de allí el interés del desarrollo de esta tesis.

2.5. Uso de ácidos orgánicos en alimentos de alta humedad de origen pesquero, como estabilizante biológico

En base la revisión bibliográfica preliminar sobre el deterioro, daño, pérdida y extinción de la calidad de vida útil y, del desarrollo de tecnologías sobre conservación de productos terminados derivados de origen animal o pesquero usando tecnología de control redox extracelular; también se detecta en la literatura que se aplica un solo ácido y no se aplican mezclas, que se pueden obtener mediante el uso de herramientas estadísticas robustas de optimización.

En consecuencia, en nuestro país, se han desarrollado experiencias e investigaciones en la Universidad Nacional Experimentales de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora”, Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales -UNELLEZ-VIPI- y las más pertinentes son, Luque (2012) y Avila y Rivas, (2019) y, en otra fuentes, se detectaron, Suarez y col. (2018); Bausson y Sánchez, (2018), Banco Mundial (2018), CEPAL (2019) y Bertelsmann Stiftung, (2019).

2.6. Uso de los diseños de muestreo estadístico del tipo “Llenado de espacio” (Space filling), Hipercubo latino

En lo que respecta a la co-optimización de procesos multirespuesta, multifactoriales, ajustándolos a modelos lineales aditivos con términos cuadráticos e interacciones de alto orden, deben usarse softwares estadísticos especializados. Avila (2012); muestra

un procedimiento didáctico para realizar este proceso en el software JMP (John's Macintosh Program) versión 8 (2010), encontrándose un ejemplo de aplicación de esta metodología, Avila (2014).

El software John's Macintosh Program (JMP versión 8, 2013), expone las perspectivas y el contexto del uso típico de los diseños de muestreo Space filling, asumiendo que, en una situación real, un investigador, dispone de un modelo matemático con excelente bondad de ajuste de un proceso y cuando se conoce el rango de prueba válido para los factores experimentales (X_{ijk}).

En cuanto a utilización de diseños de muestreo estadísticos robustos como los de llenado de espacio (Space filling), y de métodos avanzados de optimización vía simulación acotadas con funciones de deseabilidad y modulada con reglas difusas, son eficientes. Entre las investigaciones exploratorias que aportan DICs a esta investigación, pueden citarse: Machín (1986), Toledo y Col. (2007), Ruiz (2015), Ramírez y Latouchet (2014), Ruiz (2015) y Avila y Rivas (2019).

Ramírez y Latouchet (2014), Ruiz (2015) y Avila y Rivas (2019), en investigaciones exploratorias, utilizan diseños de muestreo estadísticos robustos en la investigación de mezclas de ácidos orgánicos comestibles para la estabilización biológica de residuos orgánicos animal. Los resultados permitieron almacenar residuos orgánicos húmedos animal al ambiente microaerófilo, sin deterioro aparente; contribuyendo estos DICs a la investigación en curso, aportando valores medidos de los ácidos usados. Sin embargo, no adicionan sales, ni azúcares como efectores de control biológico.

2.7. Bases teóricas

2.7.1. Generalidades. (Términos básicos)

Productos alimentarios, todas las materias primas no nocivas, en sentido absoluto o relativo que con o sin valor nutritivo, puedan ser utilizadas en la alimentación.

Alimento conservado, son los que después de haber sido sometidos a tratamientos

apropiados, se mantienen en las debidas condiciones higiénico-sanitarias para el consumo humano durante un tiempo variable. **Alimentos perecederos**, son los que por sus características, exigen condiciones especiales de conservación en sus periodos de almacenamiento y transporte. **Alimento alterado**, todo alimento que durante su obtención, preparación, manipulación, almacenamiento o tenencia y por causas no provocadas deliberadamente, haya sufrido variaciones en sus caracteres organolépticos, composición química o valor nutritivo, que su aptitud para la alimentación haya quedado anulada o sensiblemente disminuida, aunque se mantenga inocuo. Código Alimentario Español (1992).

La manipulación de variables inducidas extracelulares (epigenética) en la estabilización biológica de productos alimenticios reside fundamentalmente en el control del metabolismo celular de los microorganismos (deteriorativos o putrefactivos), fundamentalmente en el control desde lo extracelular de la actividad mitocondria-retículo sarcoplásmico y, la epigenética más factible y sustentable es la adición de compuestos extracelular comestibles (ácidos con actividad redox o bases con actividad redox) que modulen el potencial redox extracelular y sus consecuencias redox intracelulares, en la activación/inhibición del metabolismo respiratorio; fundamentado en los procesos de señalización molecular epigenéticos (Anexo 1), procedimientos recomendados por Avila y Rivas, 2019; Domínguez, 2019).

Sin embargo, una adecuada gestión epigenética requiere conocer en forma holística y compleja, las rutas metabólicas o rutas del metabolismo energético celular microbiano. Las mitocondrias, requieren potenciales redox intracelulares mayores a 750 mV hasta 1220 mV para que haya respiración aeróbica; si este potencial redox (mV) es modificado y mantenido a potenciales mucho menores positivos, cercanos a cero o negativos, pues la actividad de las P450 NADPH reductasa y las P450 oxidasas (captadoras de oxígeno y generadoras de poder reductor), se verá afectada, y así la producción de Adenosintrifosfato (ATP), provocando un control inhibitorio del metabolismo respiratorio.

El Adenosindisfosfato (ADN) mitocondrial codifica varias proteínas involucradas en la producción de energía celular y en los procesos de fosforilación oxidativa. Por lo tanto, el entorno que rodea la mitocondria y el ADN mitocondrial están expuesto al daño oxidativo y a gestiones epigenéticas, producido por los radicales libres generados por el metabolismo respiratorio y por tratamientos extracelulares. Si a esto se le añade el hecho de que el material genético de las mitocondrias no está protegido por histonas como lo está el ADN nuclear, y que los mecanismos de reparación de daños el ADN mitocondrial son poco eficientes en las mitocondrias, se obtiene como resultado que la tasa de mutación aumenta hasta ser 10 veces mayor que la del genoma nuclear; esto es bueno en tratamientos antimicrobianos, mas no así en animales o humanos (EcuRed, 2018).

Este principio está dentro de próximas investigaciones de ser aplicado en ingeniería epigenética metabólica, tanto en humanos como en animales y en conservación de alimentos (Domínguez, 2019). Por ello, para el avance en el desarrollo de nuevos productos en alimentos basados en esta tecnología, es indispensable el conocimiento de cada fase del metabolismo respiratorio celular y su fisiología integrada para poder descubrir en cada etapa del proceso fisiológico, las posibilidades o alternativas tecnológicas extracelular para su gestión epigenética eficiente (Avila y Rivas, 2019; Domínguez, 2019; Núñez, et al. 2021)

Al respecto, a continuación se describen las rutas y etapas claves del metabolismo respiratorio celular en la producción de energía en forma de ATP y que se requieren conocer detalladamente para poder crear estrategias tecnológicas lógicas y eficientes en el área de conservación de alimentos.

2.7.2. Factores que influyen de la inhibición y activación de reacciones generadoras de energía en la célula

2.7.2.1. La glucólisis

Los cambios que puede experimentar la célula dependen esencialmente de los compuestos fosfatos ricos en energía y de los mecanismos que intervienen en su síntesis

y degradación, siendo la glucólisis uno de los procesos implicados. Mediante una serie de reacciones y acción enzimática la energía química potencial de la molécula de glucosa es utilizada en la síntesis de ATP. Mediante la oxidación aeróbica la glucosa es completamente oxidada a CO₂ por conversión a ácido pirúvico y oxidación del ácido pirúvico a CO₂ por el Acetil coenzima A, según el ciclo del ácido tricarboxílico y su correspondiente fosforilación White et.al., (1964) citado por Price (1976). La glucólisis es el proceso de convertir la glucosa en piruvato y generar pequeñas cantidades de ATP (energía: 3,75 Kcal/g en condiciones estándar) y NADH (poder reductor).

Es por ello, que una intervención extracelular de un sustrato, puede cambiar las condiciones naturales fisiológicas y activar/reprimir otras rutas alternativas no comunes como se muestran en la figura 03, siguiente. Así, las restricciones termodinámicas y biofísicas restringen las alternativas bioquímicas que están abiertas a la evolución, y sugieren que la vía existente de glucólisis y gluconeogénesis puede manipularse extra celularmente para cambiar su ruta habitual y ejercer un mayor control microbiológico (Court, et al., 2015). La glucólisis es la ruta metabólica encargada de oxidar la glucosa con la finalidad de obtener energía para la célula. Consiste en 10 reacciones enzimáticas consecutivas que convierten a la glucosa en dos moléculas de piruvato, el cual es capaz de seguir otras vías metabólicas y así continuar entregando energía al organismo.

Esta ruta se realiza tanto en ausencia como presencia de oxígeno. El tipo de glucólisis más común es la vía de Embden-Meyerhof y una glucólisis alternativa es la de Entner-Doudoroff, que son exclusivas de un número reducido de microorganismos carentes de la ruta Embden-Meyerhof; esto es debido fundamentalmente a deficiencias de enzimas, entre ellas la fosfofructoquinasa-1 (PFK-1: EC 2.7.1.11), la enzima clave fundamental de la glucólisis (cambio en la energía libre de $-14,2$ kJ/mol, por lo que es irreversible). Es una enzima alostérica compuesta de cuatro subunidades y controlada por varios activadores (altos niveles de ADP, altos niveles de NADH⁺ y bajos niveles de ATP) e inhibidores (bajos niveles de ADP y bajos niveles de NADH⁺ y altos niveles

de ATP). La PFK-1 cataliza la fosforilación de la fructosa-6-fosfato con gasto de una molécula de ATP para formar fructosa-1,6-bisfosfato y ADP (Papagianni, 2012).

La glucólisis es la vía principal del metabolismo de la glucosa (y de otros carbohidratos, ver figura 03). Ocurre en el citosol de todas las células, y puede funcionar tanto de forma aerobia como anaerobia, según la disponibilidad de oxígeno y de la cadena de transporte de electrones y, por tanto, de la presencia de mitocondrias. El primer paso en la glucólisis es la conversión de glucosa en glucosa 6-fosfato (G6P) mediante la adición de un fosfato, un proceso que requiere una molécula de ATP para obtener energía y la acción de la enzima hexoquinasa. La glucólisis se produce en el citoplasma de células animales, vegetales y en algunos microorganismos.

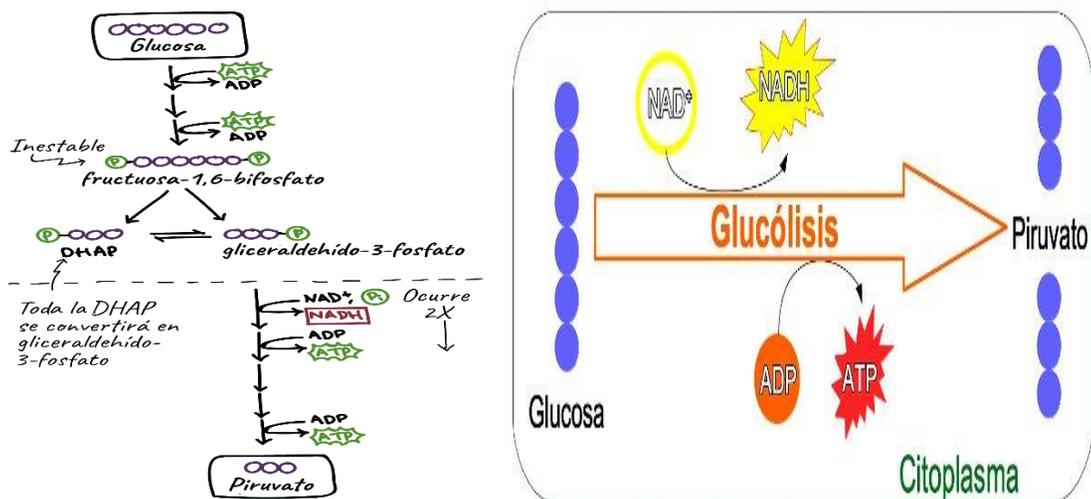


Figura 03. Esquema simplificado del proceso de la glucólisis

Fuente: <https://www.significados.com/glucolisis/>

La regulación alostérica o por retroacción de la glucólisis se regula enzimáticamente en los tres puntos irreversibles de esta ruta metabólica (enzimas claves). Esta tecnología debe desarrollarse para lograr beneficios de conservación y económicos en la producción de alimentos altamente percederos.

La fosfofructoquinasa-1 es la enzima principal de la regulación de la glucólisis, actúa como una clave de acceso, si está activa cataliza muchas reacciones y se obtiene más fructosa-1,6-bisfosfato, lo que permitirá a las enzimas siguientes transformar mucho piruvato. Si está inhibida, se obtienen bajas concentraciones de producto y por lo tanto se obtiene poco piruvato. Esta enzima es controlada por regulación alostérica: por un lado se activa por concentraciones elevadas de ADP y AMP, inhibiéndose en abundancia de ATP y citrato (por esta última experiencia es que se usa la adición de citrato en alimentos), y por otro se activa en presencia de un regulador generado por la que es la fructosa-2,6-bisfosfato, que no es un metabolito ni de la glucólisis ni de la gluconeogénesis, sino un regulador de ambas vías (Papagianni, 2012).

El Adenosintrifosfato: inhibe esta enzima pues si hay una alta concentración de ATP entonces la célula no necesita generar más. Citrato: si la concentración de citrato es alta el Ciclo de Krebs va más despacio de lo que el sustrato (acetil-CoA) llega para degradarse, y la concentración de glucosa será más alta. En el Ciclo de Krebs se produce mucho NADH y FADH₂, para que funcionen se han de reoxidar en la cadena de transporte electrones creando gradiente de protones, si el gradiente no se gasta las coenzimas no se reoxidan y el Ciclo de Krebs se detiene. El Adenosinmonofosfato y el Adenosin monofosfato: la alta concentración de estas moléculas implica que hay una carencia de ATP, por lo que es necesario realizar glucólisis, para generar piruvato y por ende energía.

Cualquier factor del entorno que afecte la estructura cuaternaria de las proteínas de la membrana y cualquier factor que afecte el potencial transmembrana; afectan la actividad global del metabolismo respiratorio. La membrana plasmática de las células es impermeable a la glucosa. Para llevarla dentro de ella utiliza transportadores especiales, de tal manera que el transporte de la glucosa a través de las membranas biológicas requiere de proteínas transportadoras específicas. El transporte de la glucosa, así como de otros solutos, a través de la membrana celular puede dividirse en dos grandes tipos, el transporte activo y el transporte pasivo. En bacterias el sistema

más extendido y eficiente de transporte de azúcares es el sistema fosfotransferasa. Por ello, cualquier efecto sobre las proteínas de membranas, sobre la conformación de la membrana o sobre el potencial transmembrana, afectara la entrada de sustratos y en consecuencia afectara el metabolismo respiratorio (Papagianni, 2012).

2.7.2.2. El ciclo de Krebs

El ciclo de Krebs (ciclo del ácido cítrico o ciclo de los ácidos tricarboxílicos) es una sucesión de reacciones bioquímicas, que forma parte de la respiración celular, donde es liberada energía almacenada a través de la oxidación del Acetil-CoA derivado de carbohidratos, lípidos y proteínas en dióxido de carbono y energía química en forma de ATP. En la célula eucariota, el ciclo de Krebs se realiza en la matriz mitocondrial. En las células procariotas (no tiene el núcleo celular diferenciado mediante una membrana: bacterias y arqueas) llevan a cabo la respiración celular en el citoplasma o en las superficies de membranas internas de las células. Las arqueas y las bacterias son procariontes, seres vivos unicelulares cuyo material genético no está encerrado en un compartimiento intracelular, ver figura 04. Inicialmente las arqueas eran consideradas bacterias, y de hecho se las conocía como arqueobacterias. El Ciclo de Krebs fue descubierto por Hans Adolf Krebs en 1937.



Figura 04. Reino arquea. Arqueas termoacidòfilas, halófilas

Fuente: <https://cerebromedico.com/ciclo-krebs/>

El ciclo de Krebs proporciona precursores de ciertos aminoácidos, así como el agente reductor NADH que se utiliza en numerosas reacciones bioquímicas. Su importancia central para muchas vías bioquímicas sugiere que es uno de los primeros componentes establecidos del metabolismo celular (ChemEvol, 2020). El objetivo del Ciclo de Krebs es la producción de NADH y FADH, compuestos necesarios para la formación de ATP en la cadena respiratoria.

La función básica del ciclo de Krebs no es producir ATP, el ciclo de Krebs se encarga de liberar grandes cantidades de electrones y protones que serán transportados hacia la cadena respiratoria a través del NAD^+ . En resumen del **ciclo de Krebs** o del ácido cítrico, es una serie de reacciones que toman acetyl CoA y produce dióxido de carbono, NADH, FADH₂ y ATP. El ciclo del ácido cítrico, también conocido como el ciclo de Krebs o el ciclo TCA, es una serie de reacciones químicas para liberar la energía almacenada a través de la oxidación del Acetyl-CoA derivado de los carbohidratos, las grasas y las proteínas, como puede observarse en la figura 05.

Parrales López, Hugo Daniel. 2021. «Ciclo De Krebs». Cerebro Medico.

En <https://cerebromedico.com/ciclo-krebs/>

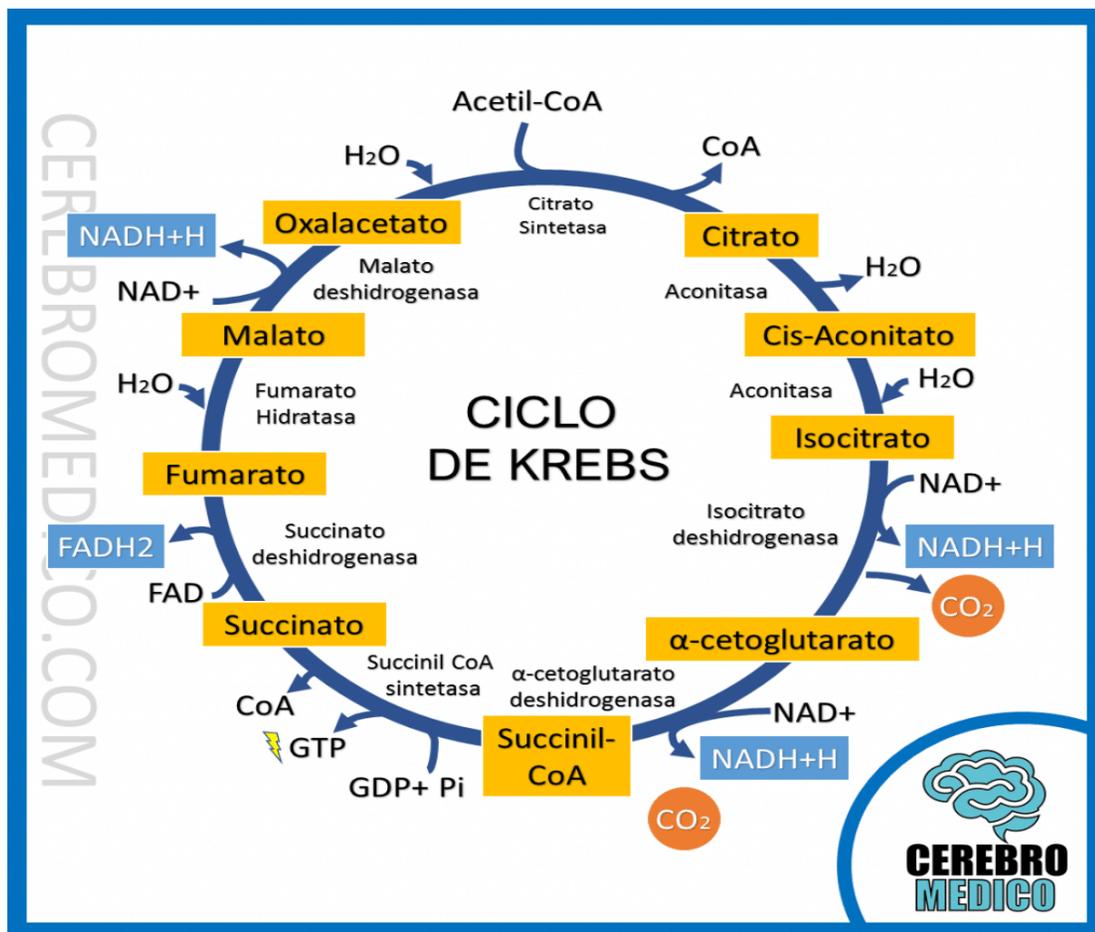


Figura 05. Esquema del ciclo de Krebs y sus reacciones

Fuente: <https://cerebromedico.com/ciclo-krebs/>

En total se generan diez (10) reacciones en el Ciclo de Krebs pero únicamente ocho (8) enzimas. De tal forma que algunos autores consideran que en realidad solo ocurren ocho (8) reacciones. Hay que acotar que las primeras enzimas realizan 2 reacciones cada una, por lo que son 10 reacciones en total. En organismos que utilizan oxígeno para respirar, el ciclo de Krebs es parte de la vía catabólica que realiza la oxidación de glúcidos, ácidos grasos y aminoácidos hasta producir CO_2 , liberando energía en forma utilizable ATP y poder reductor.

En <https://es.khanacademy.org>

El metabolismo oxidativo de glúcidos, lípidos y proteínas frecuentemente se divide en tres etapas, de las cuales el ciclo de Krebs supone la segunda. En la primera etapa, los carbonos de estas macromoléculas dan lugar a acetil-CoA, e incluye las vías catabólicas de aminoácidos (p. ej. desaminación oxidativa), la beta oxidación de ácidos grasos y la glucólisis. La tercera etapa es la fosforilación oxidativa, en la cual el poder reductor (NADH_2 , NADPH_2 y FADH_2) generado se emplea para la síntesis de ATP según la teoría de producción de energía celular (ChemEvol, 2020).

El ciclo de Krebs también proporciona precursores para muchas biomoléculas, como ciertos aminoácidos. Por ello se considera una vía metabólica, catabólica y anabólica al mismo tiempo (ChemEvol, 2020). Muchas de las enzimas del ciclo de Krebs son reguladas por retroalimentación negativa, por unión alostérica del ATP, que es un producto de la vía del metabolismo respiratorio y un indicador del nivel energético de la célula.

Entre estas enzimas, se incluye el complejo enzimático de la piruvato deshidrogenasa que sintetiza el acetil-CoA necesario para la primera reacción del ciclo a partir de piruvato (mediante una reacción irreversible), procedente de la glucólisis o del catabolismo de aminoácidos. También las enzimas citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa, que catalizan las tres primeras reacciones del ciclo de Krebs, son inhibidas por altas concentraciones de ATP y frena este ciclo (ChemEvol, 2020). Algunas enzimas son también reguladas negativamente cuando el nivel de poder reductor de la célula es elevado. El mecanismo que se realiza es una inhibición competitiva por producto (por NADH) de las enzimas que emplean NAD^+ como sustrato. Así se regulan, entre otros, los complejos piruvato deshidrogenasa y citrato sintasa (ChemEvol, 2020).

Las principales vías de producción de energía a nivel de la célula (ATP celular) son la glucólisis, el ciclo del ácido cítrico (TCA) y la fosforilación oxidativa. El control coordinado de estos tres procesos regula la síntesis de ATP. El control de la

fosforilación por la relación de acción de masas del ATP depende del aporte preciso de electrones en la cadena transportadora. Esto a su vez depende de la relación $[NADH]/[NAD^+]$ que se conserva elevada por la acción de la glucólisis y el ciclo de Krebs. Este control coordinado se lleva a cabo mediante la regulación de las reacciones enzimáticas propias del control de la glicólisis y las enzimas claves del ciclo de Krebs (piruvato deshidrogenasa, citrato cintasa, isocitrato deshidrogenasa y α -cetoglutarato deshidrogenasa).

2.7.2.3. El ciclo del ácido cítrico y fosforilación oxidativa

Esto comprende una serie de reacciones que tiene lugar en las mitocondrias. Comprende la combinación de una molécula de Acetil colina A. Como resultado de este ciclo se producen tres moléculas de NADH y una de FADH por cada molécula Acetil-CoA metabolizada. Hui, et.al (2006)

2.7.2.4. Poder reductor de la carne

La oxidación de sustratos, particularmente glucosa por acción de enzimas trae una constante disponibilidad de coenzimas con capacidad reductora como la NAD (Nicotin Amida Dinucleòtido), que intervienen manteniendo el hierro de los pigmentos mioglobina y hemoglobina en estado reducido. Hasta el momento en que los sustratos oxidables estén presentes en la carne (pulpa de pescado), pero a partir de su terminación y que han sido totalmente usados, el poder reductor de la carne se pierde, influenciando este proceso el color de la carne y sus derivados. García, (2008)

2.7.2.5. La epigenética en el control de procesos o rutas metabólicas en microorganismos

En epigenética, los investigadores han estudiado estos mecanismos epigenéticos, que incluyen procesos moleculares como la metilación de ADN, modificaciones de las histonas y los ARN no codificantes como el ARN mitocondrial, que permiten la activación o la represión de los genes jugando un papel relevante en los numerosos

procesos biológicos, en respuesta a cambios ambientales extracelulares; todo esto es el área de influencia de estudio de la epigenética.

Diferentes alteraciones de los patrones epigenéticos de las cientos de células diferentes (en una misma especie) tienen importantes consecuencias fisiológicas y son un componente central en el desarrollo de muchos cambios metabólicos celulares. Se ha demostrado, que si una especie no trae consigo la información genética específica para una determinada adaptación, pues no podrá expresarla bajo ninguna circunstancia y de allí lo fundamental de las diferencias entre especies y las diferencias dentro de la misma especie.

Así, entonces las tecnologías epigenéticas, es un área de investigación relacionada con el estudio de la expresión génica, sin modificar la secuencia del ADN, en función de cambios ambientales extracelulares inducidos. Es muy común en alimentos decidir la valoración del pH de un sustrato, sin considerar la valoración del potencial redox y su interacción. No se considera tampoco la interacción con la conductividad eléctrica y los sólidos disueltos total moleculares. Además dejando de lado las interacciones y respuesta global a la composición del medio. Ha habido además un enclaustramiento sobre la relación aerobiosis/anaerobiosis como los responsables únicos de cambios del potencial redox y; que es esto y el pH quien dirige el crecimiento y desarrollo de microorganismos.

Mediante la informática (inteligencia artificial, computación inteligente), se ha ido demostrando que muchos antiguos investigadores de la biología y evolución de las especies de vida como Lamarck (Jean-Baptiste de Lamarck: 1744-1829), Darwin (Charles Robert Darwin: 1809-1882) y Wallace (Alfred Russel Wallace: 1823-1913), que con mucha observación científica ambiental, produjeron y acertaron muchos principios, con mucho razonamiento lógico difuso, aun con sus errores y aciertos.

Estos preceptos están cambiando rápidamente, fundamentalmente con el apoyo del desarrollo de tecnologías de la informática, del diseño de muestreos estadísticos experimentales robustos, de programas informáticos de simulación, modulados con funciones de reglas difusa multimétrica y sistemas de visualización interactivas. Todo en forma y en tiempo real para realizar experimentación determinista con datos estocásticos obtenidos en laboratorios y en tiempo real; que permiten realizar experimentos complejos, con alta cantidad de variables y con distintas deseabilidades de respuestas (Avila y Rivas, 2019; SAS JMP Pro 15, 2019; SAS JMP Genomics, 2019; Álvarez, 2021).

2.7.2.6. Respuesta a los procesos epigenéticos de modulación de genes en respuesta al estrés ambiental inducido extracelular

La epigenética se ha definido como el estudio de los mecanismos que regulan la expresión de los genes sin una modificación en la secuencia del ADN ni del núcleo (99% del ADN: define el genotipo) ni de los orgánulos (1% del ADN: define el fenotipo). Es decir, que la epigenética refiere el estudio de genética no mendeliana fenotípica que es requerida para el control del conjunto de reacciones químicas y demás procesos que modifican la actividad del ADN pero sin alterar su secuencia y, que son heredables. Esto establece el precepto de que los genes se expresan en respuesta a las condiciones ambientales e influyen en la genética fenotípica de los organismos (Iridoy, et al., 2017; Berger, et al., 2009).

Los factores genéticos que son determinados por el ambiente celular extracelular (en lugar de la herencia), intervienen en la determinación de la ontogenia (etapas de desarrollo de un organismo y que igualmente interviene en la regulación heredable de la expresión génica fenotípica sin cambios en la secuencia de nucleótidos. (Iridoy, et al., 2017; Berger, et al., 2009). Como ejemplo se puede citar, la modificación de histonas: incluye acetilación, metilación y fosforilación. También hay que indicar que la célula no puede sintetizar los orgánulos de la nueva expresión; por ello, además de la información que contiene el ADN, una célula necesita información epigenética en

forma de al menos una proteína característica en la membrana del orgánulo que se quiera sintetizar. Esta información se transmite desde la membrana de los progenitores a la de la progeie en forma del propio orgánulo.

Del mismo modo, aunque las modificaciones epigenéticas no implican en el proceso un cambio en la secuencia de nucleótidos del ADN, sino que consisten en un cambio en la expresión y función de los genes, la selección natural igualmente a partir del resultado biológico de dicha expresión de genes, actuará sobre el proceso epigenético y sobre el organismo que lo manifieste.

La influencia de la variable respuesta potencial redox se produce cuando un sistema biológico se altera en respuesta a cambios físicos o químicos (extracelular y/o intracelular). Un cambio químico en el nivel de especie moleculares como las de oxígeno reactivo en particular o al cambio en el estado redox de un grupo sensible como una pareja de ditiol-disulfuro (Rhee, 2006; D'Autreaux y Toledano, 2007; Fourquet et al., 2008; Janssen-Heininger et al., 2008; Finkel, 2011).

Cuando se manipulan condiciones como los cambios químicos, como son la introducción de aditivos ácidos alimentarios o sus mezclas, que modulan el potencial redox extracelular, alteran el potencial redox intracelular y modifican el mecanismo de señalización redox celular; alterando moléculas que captura oxígeno, modificando moléculas de captura y transporte de energía (ADP oxidasas, NADPH oxidasas, entre otras); que finalmente controlan el metabolismo respiratorio (Duchen, 2004; Murphy, 2009a; Murphy, 2009b; Collins, et al. 2012; Avila y Rivas, 2019; Ai Lab, 2019). Todo basado fundamentalmente en que la función de diferentes proteínas puede controlarse mediante la oxidación reversible de aminoácidos, particularmente cisteína y metionina; donde los aminoácidos cisteína son los sensores más importantes dentro de las moléculas sensibles a redox (Wang, et al. 2012).

Tratamientos tecnológicos de conservación aplicados, como la temperatura, la presión osmótica (solutos), niveles de oxígeno, niveles de dióxido de carbono, de monóxido de carbono, entre otros, genera cambios en la señalización redox celular. Por ejemplo, la temperatura modifica la estructura cuaternaria de las moléculas de proteínas, de las enzimas y de la membrana celular; reduciendo su capacidad de reacción y de señalización redox (Ai Lab, 2019).

Por ello es importante conocer los fundamentos bioquímicos y fisiológico de cómo se producen y modulan las señales redox mitocondriales, los mecanismos por los cuales las señales redox pueden alterar la función mitocondrial; que permitan introducir factores extracelulares y así poder introducir procedimientos que permitan controlar el metabolismo celular, en algún sentido deseado. Por ejemplo ajustar potencial redox en valores grande positivos (>850 mV hasta 1.220 mV) permite funcionar adecuadamente el sistema enzimático que captura oxígeno (oxigenasa en la cadena respiratoria de la mitocondria) y otros transportan electrones en distintos orgánulos, y así puede discurrir la cadena de señalamiento redox celular necesaria para que ocurra el metabolismo respiratorio. Al respecto, experiencias indican que induciendo cambios de POR con adición extracelular de ácidos o sus mezclas, generando potenciales redox de $+100$ mV, cero o valores negativos, inhiben la actividad de la cadena respiratoria (Avila y Rivas, 2019; Ai Lab, 2019).

Las mitocondrias han mostrado ser un importante aspecto de señalización del potencial redox generado por la cadena respiratoria y otros mecanismos metabólicos centrales dentro de ellas (Balaban et al., 2005; Finkel, 2011; Murphy, 2009a). Además, la matriz mitocondrial es fundamental para el metabolismo, ya que la fosforilación oxidativa, el ciclo del ácido cítrico, tienen lugar allí. Las mitocondrias tienen papeles clave en la homeostasis y la detección de oxígeno (Duchen, 2004; Murphy, 2009a; Murphy, 2009b). En consecuencia, las mitocondrias son el núcleo de muchos procesos biológicos, y las señales redox hacia y desde este orgánulo ayudan a integrar la función mitocondrial con la de la célula.

Las diversas modificaciones que se pueden inducir a nivel celular, sin modificar la secuencia del ADN, la expresión y desarrollo de una determinada célula variará. Estas modificaciones darán identidad a la célula. Si bien son estables, pueden ser modificadas mediante estímulos externos. Los patrones de metilación se pueden heredar y transmitir a futuras generaciones. Tanto la metilación de ADN como la modificación de histonas y los ARN mitocondrial están sometidas a una estrecha autorregulación. (Luger, et al., 1997). Figura 06. La cromatina es el material de que están compuestos los cromosomas, y consiste en ADN y proteínas. Las histonas son las proteínas más abundantes. Su función es la de empaquetar el ADN, organizarlo de forma que permanezca dentro del núcleo.

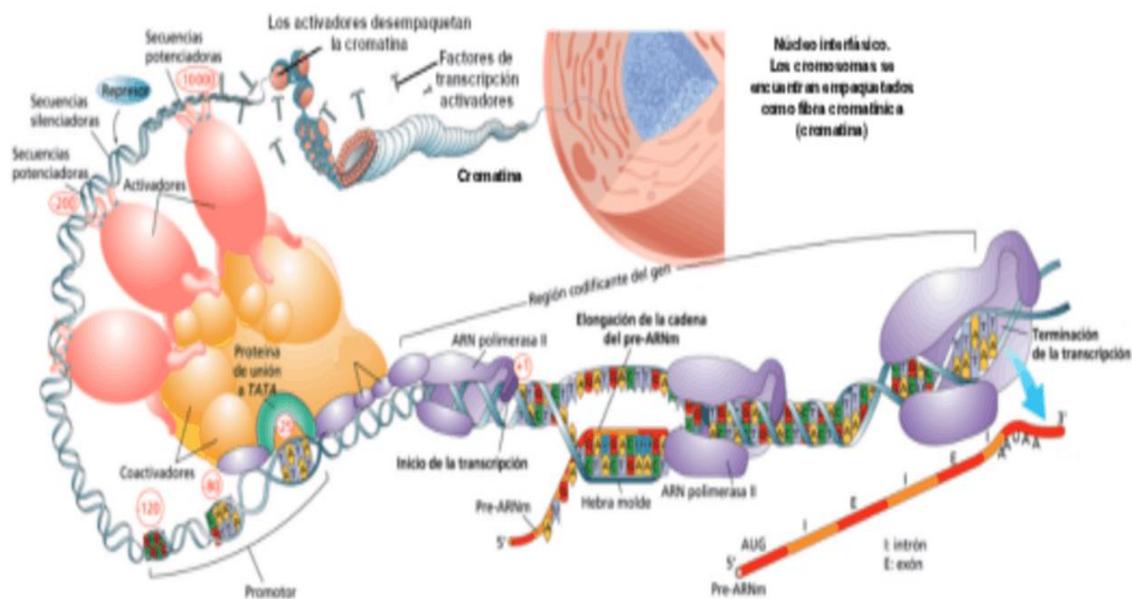


Figura 06. Transcripción del Adenosintrifosfato (ADN)

Fuente: Vaníková, et al. (2019)

2.7.2.7. Modificación extracelular de las histonas

En el nucleosoma (unidad fundamental de la cromatina: formados por proteínas histonas y pares de bases nitrogenadas de ADN; citosina, adenina, guanina), cada una

de las histonas, altamente conservadas, contiene un dominio globular estructurado, que interactúa con las otras histonas y el ADN. Las histonas poseen unas colas flexibles que sobresalen de la superficie lateral del nucleosoma. Las colas flexibles son muy básicas y son los sustratos para numerosas modificaciones extracelulares y más de 6 tipos de modificaciones: metilación, acetilación, fosforilación, ubiquitinación, biotilación, sumoilación e isomerización de la prolina, el número de posibles combinaciones es extraordinariamente elevado (Karlić, et al., 2010; Mazzio and Soliman, 2012).

2.7.2.8. La función mitocondrial y el efecto del control redox

Las mitocondrias son orgánulos que llevan a cabo una serie de procesos metabólicos importantes, como la oxidación de ácidos grasos, el ciclo del ácido cítrico y la fosforilación oxidativa. Sin embargo, este orgánulo multitarea también genera en forma normal especies reactivas de oxígeno, necesarias como moléculas de señalización redox. Este tipo de deterioro o desbalance de la actividad mitocondrial puede conducir a una mayor producción de ROS y una espiral descendente resultante que atrofia la capacidad mitocondrial y, por ende deterioro y muerte celular.

Esto es útil en el control de microorganismos de salud pública y deteriorativos de productos agroindustriales; porque la acumulación de mitocondrias disfuncionales está relacionada con el envejecimiento y muerte celular. En consecuencia, el control del potencial redox extracelular celular y el de estos orgánulos es importante para mantener la homeostasis celular adecuada. Si la mitocondria es sometida a estrés externo, como por ejemplo, la aplicación de ácidos y sales, para el control de potencial redox y potencial osmótico celular; la mitocondria deja de funcionar y las células perecen o entran en letargo (Shen, et al., 2011).

Existe una creciente evidencia de que las modificaciones extracelulares están involucradas en los mecanismos de control (activación/inhibición) de rutas metabólicas celulares y del crecimiento y desarrollo celular. Este tipo de control se cruza e

interactúa con muchas de las vías o rutas metabólicas; siendo de gran importancia las rutas del estrés oxidativo; que incluso controla la apoptosis celular, que se traduce en un tipo de muerte celular en la que una serie de procesos moleculares en la célula conducen a su muerte. Este es un método que el organismo usa para deshacerse de células innecesarias o anormales. Así que cualquier factor externo que modifique el potencial redox celular (milivoltios), podría controlar la epigenética celular y por tanto sus características fenotípicas (Pfeilschifter, et al., 2003; Cyr and Domann, 2011).

Estos autores, muestran que la aplicación extracelular con ácidos orgánicos o sus mezclas, sus sales y/o sus esteres, modifican el potencial redox y ejercen control sobre la señalización redox y finalmente modifican la velocidad de reacción del metabolismo respiratorio, este o no presente el oxígeno; resultados que proporcionan nuevos conocimientos sobre el papel de los ácidos orgánicos aplicado extracelularmente en la regulación de la señalización celular redox. Por ejemplo una célula funcional estrictamente aeróbica en un medio con abundante oxígeno disponible, pero un medio con un potencial redox entre 0 y 250 mV, es incapaz de ejecutar la cadena respiratoria; con sus eventuales consecuencias en el ciclo de Krebs y en la glucólisis. (Ver figura 07).

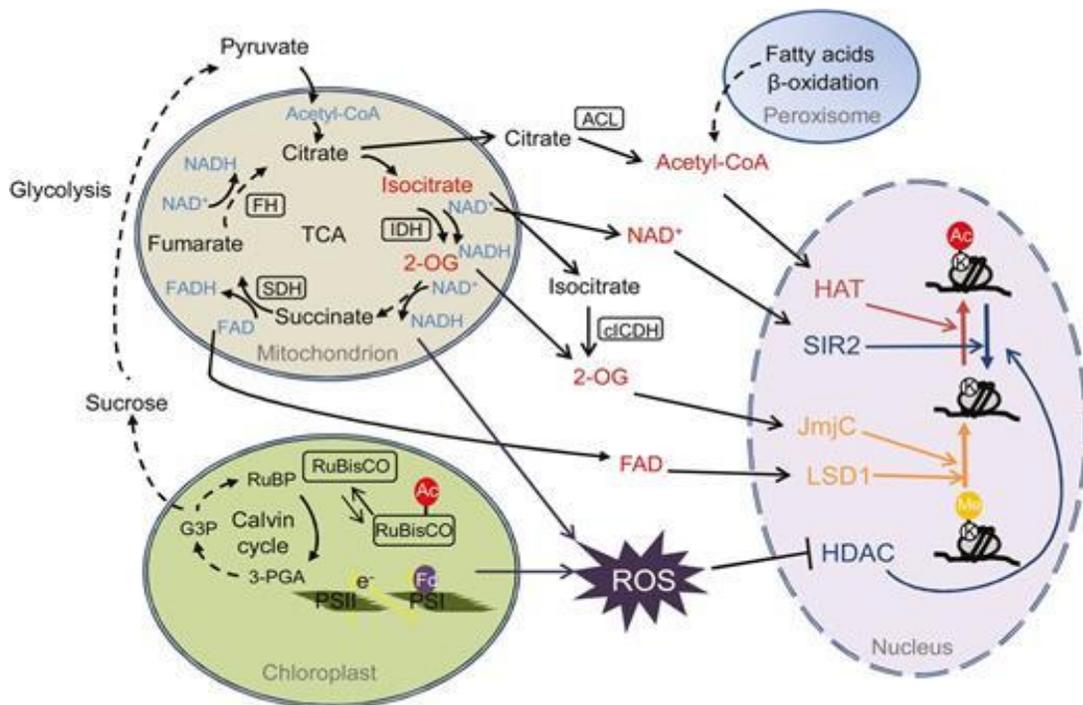


Figura 07. Modelo de regulación de cromatina debido a la modificación de enzimas por metabolitos claves

Fuente: Piletič and Kunet (2016)

La importancia clave del acetil-CoA, compuesto clave que forma parte de numerosas rutas metabólicas, tanto anabólicas como catabólicas. Así, esta enzima acetil coenzima A en las vías catabólicas, es una molécula clave en: descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico. El ácido pirúvico sufre una descarboxilación oxidativa en el complejo piruvato deshidrogenasa de la matriz mitocondrial, antes de entrar al ciclo de Krebs, y un grupo carboxilo es eliminado en forma de dióxido de carbono, quedando un grupo acetilo (-CO-CH₃) con dos carbonos que es aceptado por la coenzima A y se forma acetil-CoA, que es, por tanto, un compuesto clave entre la glucólisis y el ciclo de Krebs. Esta reacción es imprescindible para que la oxidación de los glúcidos (glucógeno, glucosa) continúe por la vía aerobia (ciclo de Krebs, cadena respiratoria: fosforilación oxidativa). De este modo puede aprovecharse toda la energía contenida en dichos nutrientes, con obtención de una cantidad máxima de ATP.

La capacidad celular microbiana de responder y adaptarse a estrés ambiental extracelular es la clave para el funcionamiento, el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos. La detección de estos cambios y el procesamiento de la respuesta están a cargo de circuitos moleculares de señalización redox en la célula que detectan, amplifican e integran señales externas en una respuesta específica (Machado y Valencia, 2020).

2.7.2.9. Manipulación tecnológica de variables extracelulares para el control del crecimiento y desarrollo de microorganismos en alimentos

Los microorganismos se pueden encontrar en una diversidad de ecosistemas, lo que es consistente con su capacidad de adaptarse y esto es función de adaptabilidad metabólica, a entornos muy variables. Entre los diversos parámetros que caracterizan estos ambientes extracelulares, están, la temperatura, el pH, el potencial de óxido reducción, la actividad del agua, presencia de solutos osmófilos, capacidad buffer, la conductividad eléctrica, los sólidos moleculares disueltos totales; que son muy importante, de medir y controlar; cuando se requiere estudiar y ejercer control microbiológico de sistemas complejos como una matriz para elaborar productos cárnicos y derivados del pescado.

Para ello, ya se han abordado estudios relacionados con el impacto de estrés oxidativo en el crecimiento y desarrollo de microorganismos. Pero, siempre ha sido asociado solo con la presencia o no de oxígeno y; por ello, los efectos de óxido reducción sobre microorganismos ha limitado los estudios, quedando muchos excelentes estudios inconclusos, debido a la no medición del potencial de óxido reducción, la actividad del agua, la conductividad eléctrica, ni de los sólidos disueltos totales (Dave and Shah, 1997; Rödel and Scheuer, 2000; Redox Martin, et al., 2013; Avila y Rivas, 2019; Machado y Valencia, 2020).

2.7.2.10. La variable potencial redox extracelular en el control del metabolismo celular

Los procesos de oxidación y reducción del metabolismo celular, se refieren al intercambio de electrones entre sustancias y/o enzimas y, es el potencial de óxido-reducción (POR) quien modula la velocidad de estos procesos fisicoquímicos. Donde el elemento que pierde electrones se denomina oxidado, y el que gana, reducido. Muchos microorganismos crecen y se desarrollan a POR positivos. En ese grupo, están casi todos los mohos, levaduras oxidativas y muchas bacterias, principalmente las deteriorantes o putrefactivas de alimentos, como son las *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, entre otras); siempre y cuando la cadena respiratoria disponga de oxígeno (Anderson, et al., 2019).

Por otra parte, otro grupo de microorganismos crecen y se desarrollan a POR cercanos a cero. En ese grupo están algunas bacterias patogénicas, como el *Clostridium botulinum*. Algunas bacterias se desarrollan mejor en condiciones un poco reducidas, como los lactobacilos, *Streptococcus*, *S. Typhi* y *S. Paratyphi A, B y C*; siempre y cuando no se dispongan de oxígeno o esté en condiciones de micro aerobio (Anderson, et al., 2019).

Algunas bacterias pueden desarrollarse bien en ambas condiciones, éstas son las llamadas facultativas. Este grupo puede funcionar en condiciones de micro aeròfilas (Anderson, et al., 2019).

Es de recordar que en algunos microorganismos (denominados anaerobios estrictos u obligados: fundamentalmente bacterias); al realizar el metabolismo aerobio violento, la producción de los ROS y no tener las enzimas desintoxicantes, se mueren y por tanto no crecen en condiciones aerobias ni micro aerobia, por ejemplo el *Clostridium difficile* es un bacilo grampositivo formador de esporas, “anaerobio estricto”; fundamentalmente debido a que no poseen enzimas citocromo oxidasa la cual pertenece a la cadena transportadora de electrones donde el oxígeno es el último aceptor de electrones. Es catalasa y peroxidasa negativo.

El anaerobio obligado o estricto sintetiza ATP por otras vías, como lo son la respiración anaerobia y la fermentación. La respiración anaerobia no utiliza oxígeno molecular sino otras moléculas inorgánicas, como sulfatos, nitratos, dióxido de carbono, manganeso, hierro o mercurio, e incluso algunos organismos usan el fumarato, un aceptor electrónico orgánico (Anderson, et al., 2019).

Al respecto, por qué, el oxígeno es mal llamado veneno metabólico en los microorganismos anaerobios estrictos, porque al respirar violentamente aeróbicamente los subproductos reactivos (radicales libres) los mata, ya que carecen de enzimas como la citocromo oxidasa, la catalasa, la peroxidasa y superóxido dismutasa, que son enzimas depuradoras que degradan los subproductos radicales libres, que alteran la actividad de enzimas, alteran la expresión de información génica, perturban la señalización inductora celular del control del metabolismo celular y la peroxidación de los lípidos de las membranas celulares; conduciendo al microorganismo a la muerte (Anderson, et al., 2019).

Apostillas Avila (2022), obsérvese en lo anterior sobre microorganismos denominados estrictamente anaeróbicos, es común leer que ellos no utilizan el oxígeno para respirar; sin embargo se sabe que ellos poseen el sistema de respiración aeróbico completo y son capaces de aceptar oxígeno, de hecho si hay oxígeno, lo hacen en forma muy violenta; sin embargo, no son capaces de desintoxicarse de los subproductos reactivos como los peróxidos celulares (radicales libres); entonces se auto envenenan; así, entonces, el oxígeno no es el veneno, si no los subproductos del proceso respiratorio aeróbico. En contraste, está el grupo que puede funcionar, crecer desarrollarse (formar biomasa) en ambas condiciones, por ejemplo puede funcionar como fermentador y/o como productor de algún ingrediente activo (Ayala, et al. 2014).

Ávila y Rivas (2019), muestran la controversia de la literatura en cuanto a la tradición de clasificar los microorganismos según el tipo de metabolismo respiratorio, solo por la presencia o no de oxígeno (aerobios, micro aerobios y anaerobios estrictos);

esto es un “reduccionismo” que está cambiando, olvidando que realmente además de la presencia o no del oxígeno se requieren condiciones redox adecuadas y presencia o no de metabolitos efectores, la sola presencia de oxígeno no asegura su uso en la cadena respiratoria; por tanto los autores proponen una clasificación que utilice criterios mixtos de presencia y nivel de oxígeno y de la condición redox global de la matriz en proceso (matriz alimento, matriz suelo, entre otras).

Criterio que es más útil en ingeniería metabólica, donde se usan razonamientos holísticos y compuestos múltiples en forma conjunta para modular reacciones metabólicas, que pueden o no requerir la presencia de oxígeno para el metabolismo respiratorio celular; ya que el oxígeno es requerido fundamentalmente en las actividades de la cadena respiratoria en la mitocondria y algunas reacciones oxidativas; pero lo cual requiere potenciales redox por encima de ~ 820 mV.

El potencial redox (POR, mV); puede estimarse con la ecuación de Nerst en soluciones puras; pero en condiciones de una matriz alimento, donde hay una gran diversidad y cantidad de ingredientes, especias, condimentos y aditivos interactuando en forma multivariada, hay problemas de cálculo y falla la ecuación (Avila, 2019); por lo que para cada matriz alimento en investigación, debe ajustarse un modelo propio. En condiciones de una matriz alimento, hay efectos de tamponado, de reacciones colaterales y del oxígeno; por ejemplo, la presencia de ácidos monovalentes alteran el potencial redox 30 mV por unidad de pH, los ácidos divalentes 57,7 mV y los ácidos de valencia superior hasta 120 mV. Todo esto en soluciones puras; sin embargo en una matriz de trabajo compleja, hay que realizar el modelaje y hacer cálculos propios, bajo las condiciones de investigación específicas, pero en condiciones holísticas multivariadas.

Por otro lado, no se detecta en la literatura estudios que refieran el efecto de cambio redox con mezclas de ácidos, solo refieren el pH como efector y esto es una acepción errónea. (Anderson, et al., 2019; Avila y Rivas, 2019). También, las altas

concentraciones de sustancias halófilas como las sales y otros compuestos osmófilos como el azúcar, en una matriz de un alimento; causan estrés agudo a los microorganismos, debido a que puede causar deshidratación rápida y modifican el potencial de óxido-reducción transmembrana (Welsh, 2000).

Los microorganismos denominados aerobios estrictos como el *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, usan el oxígeno como el aceptor final de electrones en la cadena respiratoria para la producción final de ATP; sin embargo, habiendo aun presencia suficiente de oxígeno, pero habiendo presencia por ejemplo de ácidos (sus sales y/o ésteres) y/o moléculas metabólicas como el cloro, estas pasan la membranas celulares y dentro se desdoblan produciendo ácido, acidificando el citoplasma y el citosol de los orgánulos, modificando el potencial redox; que pueden por ejemplo inhibir/acelerar reacciones energéticas de aceptación de electrones, como es la conversión de ADP en ATP, en la glucólisis, en la cadena respiratoria y en la beta oxidación (Anderson, et al., 2019).

2.7.2.11. El potencial redox en el control de procesos metabólicos microbianos

Es una ley de la biología que todos los seres vivos deben generar energía para mantener sus procesos vitales. Los microorganismos en los alimentos llevan adelante este principio a través de los procesos de oxidación y reducción de compuestos químicos. En el caso de las bacterias aerobias, la glucosa, fuente inicial de carbono, es oxidada a dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O) con producción de 38 moléculas de ATP. La mayoría del ATP es generado a través de la fosforilación oxidativa en la denominada cadena de transporte de electrones. En la fosforilación oxidativa, la energía del gradiente electroquímico generado cuando el oxígeno es usado como aceptor terminal de electrones, se deriva en la formación de un enlace de alta energía entre Pi y la adenina nucleótido. Hui, et.al (2006).

Las bacterias anaerobias, que carecen de la cadena de transporte de electrones, deben reducir los compuestos internos a través del proceso de fermentación y generar

solamente uno o dos moles de ATP por mol de hexosa catabolizada. Doyle y cols., (1997).

El efecto del potencial oxido-reducción sobre las bacterias en general ha sido menos estudiado que el de otros factores, la excepción lo constituyen los estudios respecto de las condiciones de desarrollo de microorganismos como el *C. botulinum* (Kim y Foegeding, 1993). Así se sabe que los microorganismos son sensibles al potencial de óxido- reducción, pudiéndose desarrollar solamente dentro de un intervalo de este parámetro. Los aerobios como *Pseudomonas* lo hacen a valores de positivos/oxidados (+500 a +100 mV), mientras que organismos facultativos como *S. aureus* lo hacen a valores de positivo a negativo (+30 a -200 mV); siendo los anaerobios estrictos (negativos/reducidos) los más sensibles en cuanto a su límite de crecimiento dada su carencia de enzimas como catalasa o peroxidasas capaces de eliminar sustancias tóxicas preoxidadas. Hui et.al (2006)

2.7.2.12. El pH y los ácidos orgánicos

El factor de relevancia para el desarrollo microbiano en la carne y los productos cárnicos es el pH. Los microorganismos necesitan mantener un pH interno (pHi) constante y cercano a la neutralidad para la normal funcionalidad de sus actividades metabólicas. Para esto, los microorganismos poseen mecanismos homeostáticos de su pHi, cuando son enfrentados a un intervalo acotado de pH externo (pHe). La acción negativa del descenso del pHe y de los ácidos orgánicos se genera principalmente a través del aumento de la concentración de H^+ en el citoplasma, lo que resulta en la alteración de la estructura terciaria de las proteínas. Acidez iónica (pH/pOH), es una medida indirecta, que indica sobre la concentración de iones de hidrógeno [moles H^+ /decímetro cúbico = moles H^+ /litro], presentes en una solución o sustancia. Las siglas pH significan potencial hidrógeno o potencial de hidrogeniones, obsérvese la figura 08.

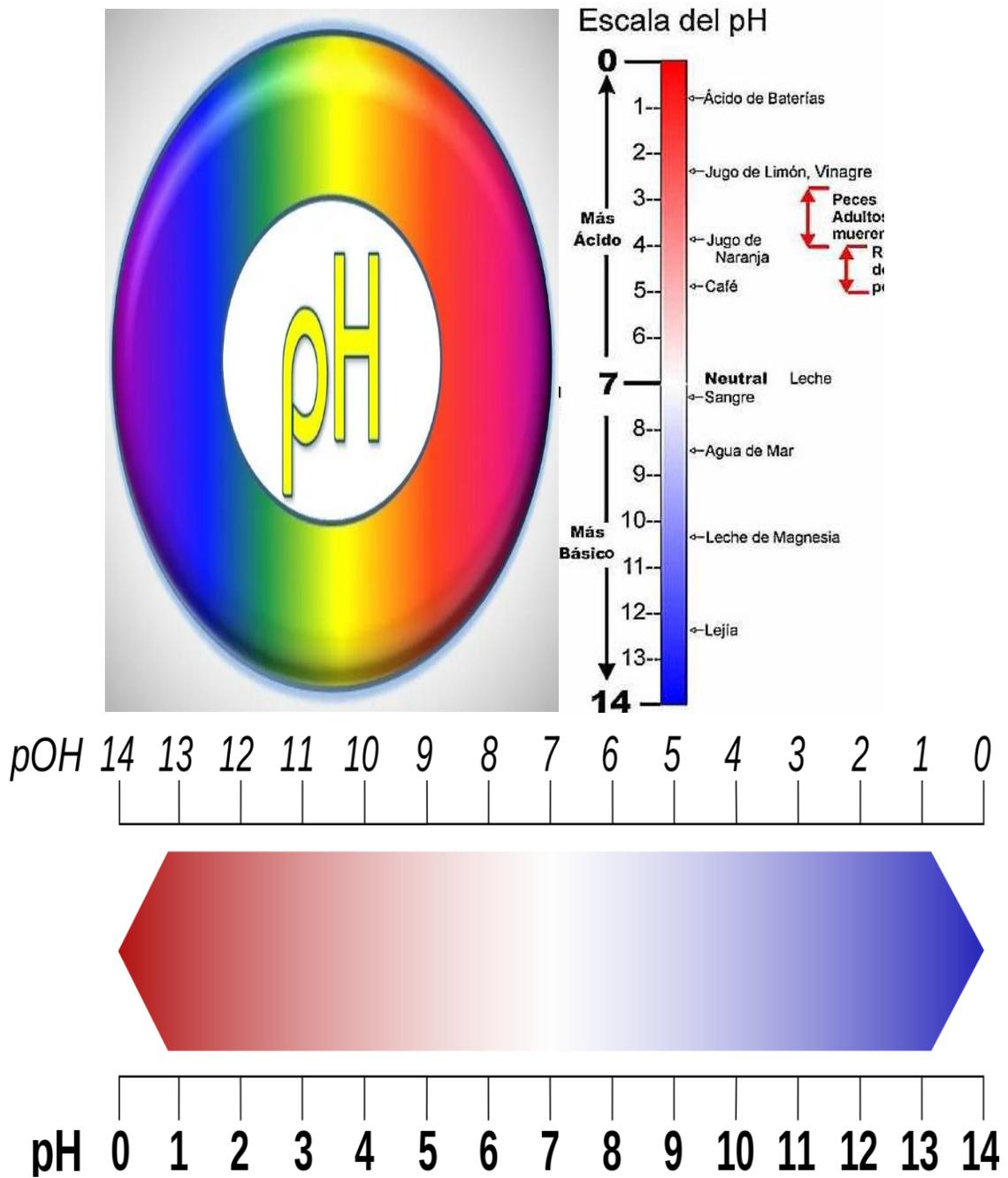


Figura 08. Escala de pH y escala de pOH

Fuente: <https://www.usgs.gov/media/images/pH-scale-0>

2.7.2.13. Potencial óxido-reducción (POR, mV)

El potencial de óxido reducción (POR) es la tendencia de un compuesto a adquirir o donar electrones. Por lo tanto, se requieren mínimo dos compuestos para que ocurra una reacción de oxidación-reducción (múltiples compuestos para reacciones fisiológicas), durante la cual el compuesto reductor dona electrones al compuesto oxidante gana electrones. Cada par redox tiene su valor intrínseco. Cuanto mayor sea la afinidad por los electrones, mayor será el POR de un par redox. Las reacciones de oxidación-reducción ocurren simultáneamente dentro de las células, lo que hace que el potencial óxido- reducción detectado y medido en el entorno extracelular sea un indicador del resultado neto del metabolismo intracelular dominado por electrones de transferencia y equilibrio redox o como resultado neto de la adición de compuestos extracelulares de carácter quimioacidulante (Liu, et al., 2020).

En comparación con el valor de pH que solo proporciona información sobre la concentración de protones $[H^+]$, el POR representa la actividad de electrones. Por lo tanto, el POR es la variable indicadora de potenciales cambios moleculares (cambios netos fisicoquímicos y microbiológicos) más sensible a modular cambios del metabolismo intracelular. Recomendándose utilizar equipos de medición eficientes para monitorear la información redox en tiempo real de los sistemas de crecimiento y desarrollo microbiológico, ya que el POR extracelular tiene un impacto significativo en el metabolismo intracelular. (Liu, et al 2012; Martin, et al., 2013; Liu et al., 2020).

El potencial de óxido reducción o potencial redox (POR: [mV]), se conoce que es el factor fundamental que modula las señales moleculares de inhibición/activación de actividades enzimáticas del metabolismo (Liu, et al., 2020); sin embargo no es común en el argot tecnológico su uso como parámetro de control durante la selección de la materia prima (especificaciones), el procesado y almacenamiento de alimentos; quizás por desconocimiento de este factor que es quien determina la evolución de la flora microbiana putrefactiva y la de salud pública (Avila y Rivas, 2019).

El potencial redox (mV), considerada hasta ahora una variable subestimada en el control microbiológico, en contraste con valores del pH. Hasta hace poco se ha utilizado en control de calidad de agua, con el objetivo de controlar la eficiencia del tratamiento del agua para consumo humano y para el uso en piscinas públicas y privadas, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció en 1971, los valores mínimos de la medida del potencial redox, en presencia del ion hipoclorito activo.

Las ecuaciones para estimar el potencial redox en función del pH, solo se cumplen en soluciones puras; por ello, cuando se mide en una matriz alimentos y con oxígeno presente o ausente, el valor del POR, sigue otro modelo, el cual, cada investigador para su matriz alimento específica debe ajustar. Las medidas del POR, deben ir acompañadas del pH y de la temperatura e inclusive de la conductividad eléctrica y de los sólidos disueltos moleculares totales. Apostillas de Avila (2022).

Cuando se hacen investigaciones referentes a la adición de ácidos orgánicos, se debe tener en cuenta que: los ácidos monovalentes alteran el potencial redox ~30 mV por unidad de pH, los ácidos divalentes ~ 60 mV y los ácidos de valencia superior hasta ~120 mV (véase que cada salto de incremento de valencia, se duplica el potencial redox); igualmente, esto es para condiciones de un solo ácido presente; sin embargo no se detecta en la literatura el comportamiento para mezclas de múltiples ácidos y otras sustancias conservantes en distintas proporciones y además de su interacción con otros ingredientes o factores, como proteínas, azúcares, nitratos y nitritos, especias condimentos y aditivos, sales, ácidos grasos libres, entre otros.

Estudios realizados por ejemplo, el potencial redox en el interior de piezas de carne beneficiadas, se encuentra suficientemente reducido como para prevenir el crecimiento de los aerobios (e.g., *Pseudomonas*, *bacilos* u *hongos*) pero el bajo potencial redox (post-rigor) estimula el crecimiento de enterobacteriaceas y clostridios. La velocidad y extensión de la caída redox (más electronegativa) en los productos alimenticios que

carecen de actividad enzimática residual dependen de la velocidad de crecimiento y del tipo fisiológico de bacteria presente.

La nueva plataforma de los medidores de pH/POR permiten configurar hasta cuatro canales en cualquier combinación. Una gran pantalla a color brillante facilita la obtención de la información que necesita y el uso de funciones avanzadas. Una interfaz multilingüe, indicaciones en lenguaje sencillo y gráficos fáciles de entender hacen que este medidor sea fácil de usar. Hay cinco módulos disponibles: pH, pH/ISE, conductividad, oxígeno disuelto o pH con tecnología de temperatura. Los cinco módulos miden la temperatura y se pueden mezclar y combinar según lo necesite para crear su medidor. Estos medidores de primera línea tienen las mejores funciones y opciones para personalizarlos, incluida la personalización de la pantalla. Ver figura 09.



Figura 09. Determinador de variables involucradas en cambios fisicoquímicos en alimentos.

Fuente <https://www.hogentogler.com/orp-redox-meters/bench-top-orp-meters.asp>

En las carnes frescas picadas que no están aisladamente empaquetadas el valor Eh suele ser de unos +200 mV ya que el pequeño tamaño de partícula (< 3 a 4 mm de diámetro) permite la rápida difusión del oxígeno. En la carne fresca saturada de oxígeno lista para la picadora el centro del matriz alimento es desprovisto de oxígeno en cuestión de horas; sin embargo, si el picadillo fresco no se empaqueta correctamente permanecerá saturado de oxígeno durante 1 a 2 días. En consecuencia, el potencial redox de las carnes procesadas puede y debe controlarse (Jay, 1970).

Avila (2022), la información anterior de gran valor tecnológico para esta investigación, hay que fundamentarla molecularmente para poder comprender y aprovechar los datos de la investigación. Una de las deficiencias de la discusión anterior es que el deterioro microbiológico se enfoca a la presencia o no de oxígeno; sin embargo, especialmente en carnes picadas, puede haber oxígeno suficiente (deficiente empaquetado, incluso al ambiente); si se aplican tecnologías de control del potencial redox, esta carne picada puede conservarse al ambiente sin empaques, con tecnologías como la mezcla de ácidos quimioacidulantes (Avila y Rivas, 2019).

Wirth y Leistner (1970) sugirieron que el valor redox inicial óptimo para las carnes enlatadas se encontraba entre -20 y -150 mV. Durante los largos períodos de almacenamiento el potencial redox de la carne de cerdo y de la carne de vacuno enlatadas puede bajar a -350 mV, detectándose deterioradas y no aptas para el consumo humano quizás por falta de una débil capacidad buffer. Para incrementar la capacidad tampón del producto y en cierta manera incrementar su vida útil manteniendo el potencial redox dentro de límites aceptables pueden utilizarse aditivos tales como el nitrito (oxidante) o el ácido ascórbico (reductor); sin embargo, no es suficiente.

El potencial redox en un sustrato alimenticio es un determinante importante del crecimiento microbiano y por ello puede actuar como agente selectivo y como factor que influye en los productos metabólicos de los microorganismos. La forma en que el potencial redox afecta al metabolismo microbiano o selecciona una determinada

especie de ellos, es imperfectamente conocida en la actualidad y requiere estudios específicos para cada microorganismo y para cada tipo específico de matriz alimento. Como se ha mostrado en este capítulo, es difícil obtener estimaciones exactas del potencial redox y además interpretar tales lecturas una vez efectuadas.

2.7.2.14. Factores que influyen en el comportamiento del potencial redox en alimentos bajo modelos predictivos

Los factores involucrados en la conservación de alimentos no actúan en forma aislada sino que lo hacen de manera conjunta y con diversos niveles de interacción. Es necesario para garantizar una adecuada vida útil o inocuidad alimentaria, estimar de alguna manera el efecto total de los factores y sus interacciones sobre los microorganismos. Los modelos predictivos permiten hacer estimaciones cuantitativas y predicciones sobre las bases de ecuaciones que describen variables respuestas bajo distintas combinaciones de factores involucrados (Buchanan, 1993).

2.7.2.15. Ácidos y bases según Arrhenius

Ácidos, bases y sales pertenecen a un grupo de sustancias llamadas electrolitos, que se caracterizan porque al disolverse en agua se disocian en iones lo que determinan que conduzcan electricidad. Este químico sueco (Arrhenius), fue el primero que propuso, que los ácidos son sustancias que al ionizarse producen iones hidrógeno (H^+). Según él, hay una relación directa entre la fuerza de un ácido y su constante de equilibrio, que en este caso recibe el nombre particular de K_a : mientras más alto sea el valor de K_a más fuerte será el ácido y viceversa.

Años más tarde surgió la teoría protónica de J.N. Bronsted y T.M. Lowry, quienes propusieron como fundamento de su teoría las siguientes definiciones de ácidos y bases: ácido es una sustancia capaz de ceder un protón y base es una sustancia capaz de aceptar un protón. A partir de esta teoría Søren Peter Lauritz Sorensen introdujo por primera vez en 1909 el concepto de pH, ligado a la cantidad de H^+ .

También se puede expresar que la acidez se mide en términos de pH, y la basicidad se mide en términos de pOH y se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidroxilo

2.7.2.16. El pK de un compuesto

El pKa es una magnitud que cuantifica la tendencia que tienen las moléculas (ácido) a disociarse en solución acuosa. Se define tal que,

$$pK_a = -\log K_a \quad \text{Donde:}$$

K_a : es la constante de disociación ácida

El pKa es una forma conveniente de expresar la relativa fortaleza de un ácido, que permite ver de una manera sencilla en cambios pequeños de pKa los cambios asociados a variaciones grandes de Ka. Valores pequeños de pKa equivalen a valores grandes de Ka (constante de disociación) y, a medida que el pKa decrece, la fuerza del ácido aumenta. Un ácido será más fuerte cuanto menor es su pKa y en una base ocurre al revés, que es más fuerte cuanto mayor es su pKb. Esas constantes de disociación no son fijas, dependen de otras variables. Por ejemplo, la constante de disociación cambia a temperaturas diferentes. Sin embargo, mantiene su valor a la misma temperatura, ante cambios de la concentración de alguna de las especies o incluso ante la acción de un catalizador.

Las modificaciones de eventos moleculares sin afectar la condición genética representan mecanismos por los cuales las células pueden traducir de manera efectiva múltiples tratamientos extracelulares que inducen entradas de señalización molecular en salidas fenotípicas; donde el metabolismo redox es un determinante cada vez más importante del control de eventos de manipulación de variable extracelulares. Las variables extracelulares tecnológicas inducidas, fundamentales a intervenir y controlar en la modulación de eventos de modificación redox para la inhibición/activación de procesos metabólicos en microorganismos, según Martin, et al. (2013), Avila y Rivas (2019) y Database (2020), entre otros. El pK constituye el valor de pH en el cual las concentraciones del ácido y la sal son iguales.

2.7.2.17. Cambios del $pK_{(a, b)}$ con intervención del medio o sujeto de estudio

Todos los valores de las constantes de disociación publicados se refieren al medio iónico específico utilizado en su determinación y que se obtienen diferentes valores con distintas condiciones, como se muestra para ácido acético en la ilustración o figura 10 siguiente. A la presente fecha de realización de este estudio, en la revisión bibliográfica no se detectan investigaciones de estos comportamientos en forma conjunta, en función del pH, del potencial redox (mV), conductividad eléctrica, sólidos disueltos totales, temperatura, ni presencia de otros compuestos alimentarios y/o presencia de solventes. Por otro lado, no se detectan estudios de los efectos inductivos, ni los efectos manipulados, bajo condiciones multivariados de factores extracelulares. Avila (2022).

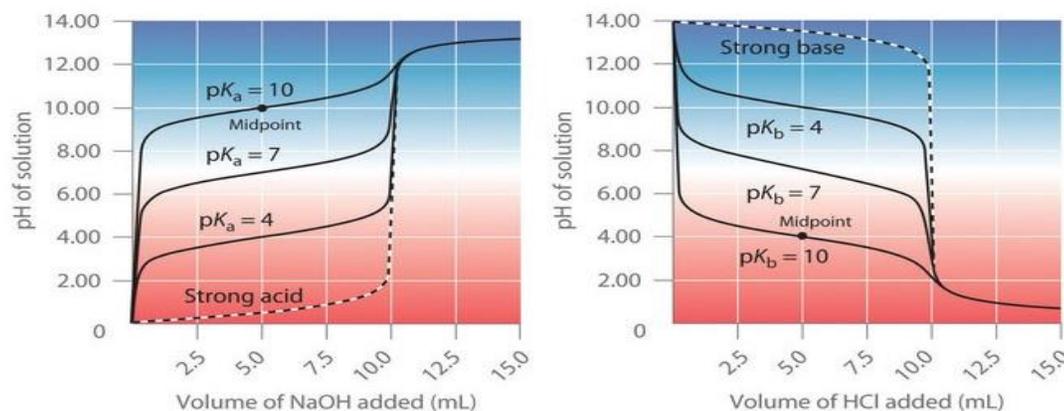


Figura 10. Indicadores de pK_a para una valoración ácido-base en ácido acético

Fuente <https://www.hogentogler.com/orp-redox-meters/bench-top-orp-meters.asp>

2.7.2.18. La torre redox del metabolismo respiratorio y el potencial redox intracelular

La célula es un ente bastante complejo y cada parte, por ejemplo, membranas, citoplasma, orgánulos, nucléolo; pasos de reacciones bioquímicas, pasos de reacciones metabólicas fisiológicas; cada uno requiere un potencial redox específico. Estas reacciones, dependiendo del potencial redox extracelular/intracelular, activa/inhibe

moléculas de señalización redox, que son las que dirigen los cambios bioquímicos y modifican los cambios en las rutas metabólicas extra e intracelulares. A continuación se trata de describir cómo se puede utilizar el potencial redox como una medida de la fuerza impulsora para una reacción de interés de oxidación- reducción dada. No tiene sentido asignar un pH ni un potencial redox único a una célula completa, ni mucho menos promediarlo. La oxidación es pérdida, la reducción es ganancia, donde la pérdida y la ganancia son de electrones. (Figura 11).

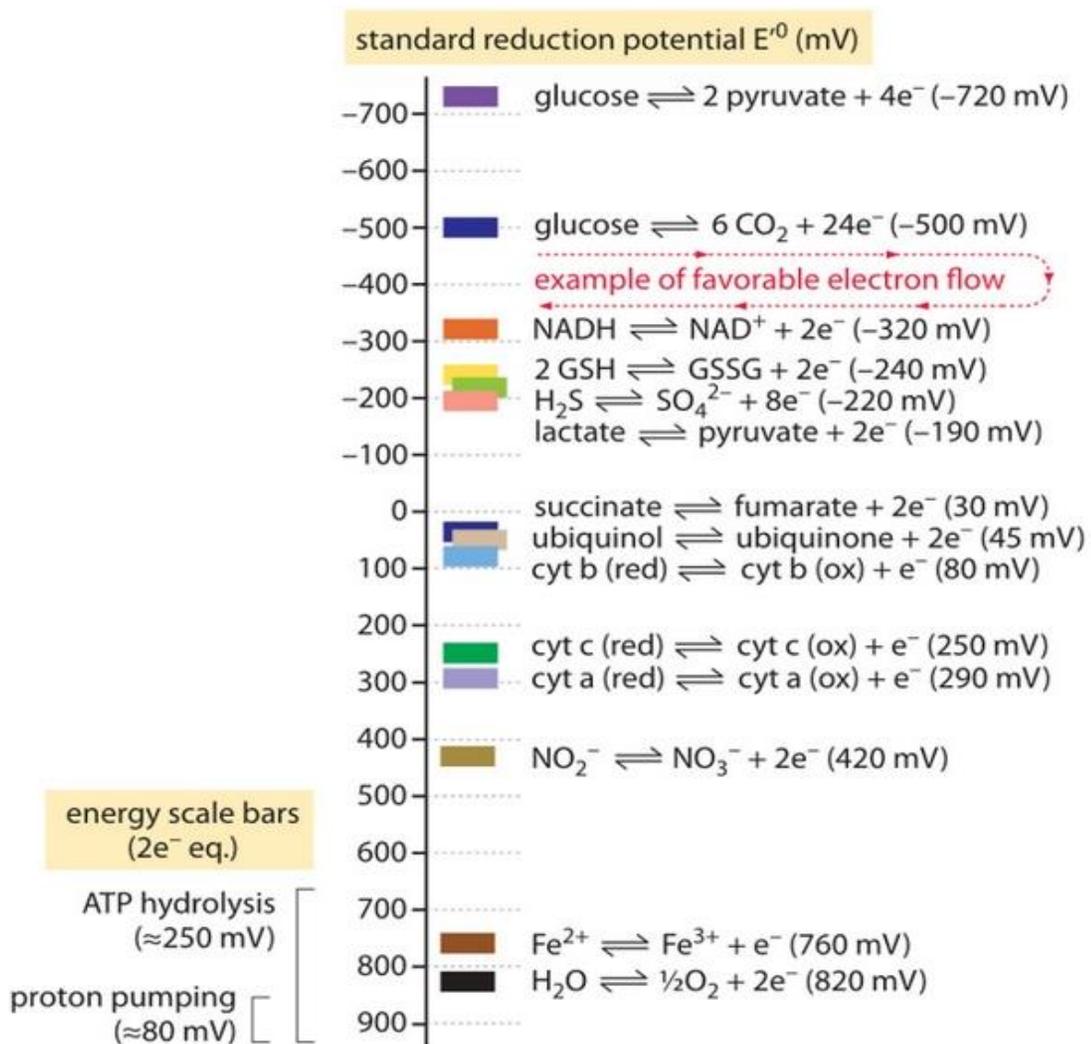


Figura 11. La quimiomodulación del potencial de óxido-reducción (POR) en la conservación de alimentos

Fuente <https://www.engormix.com/balanceados/articulos/tips-quimiomodulacion-potencial-oxido-t43701.htm>

En la figura 11, anterior, se visualiza una simplificación de la "torre redox" o torre de electrones, que muestra el potencial redox que modula reacciones metabólicas comunes por etapas. Los procesos metabólicos pueden verse como electrones en movimiento entre las moléculas, a menudo capturando parte de la energía liberada a medida que los electrones se mueven de estados de alta energía a estados de menor energía como en la glucólisis o la respiración. Los electrones donados por las "medias reacciones" en la parte superior se pueden consumir en una media reacción más baja en la torre para completar una reacción termodinámicamente favorable. Por ejemplo, el proceso neto de la glucólisis implica la oxidación de glucosa a piruvato junto con la reducción de NAD^+ a NADH.

Como la oxidación de la glucosa se encuentra en la parte superior de la torre y la reducción de NAD^+ está por debajo, este flujo de electrones es termodinámicamente favorable. En comparación con la barra de escala de hidrólisis de ATP, también podemos ver que este flujo de electrones es lo suficientemente favorable como para generar ATP. Obsérvese figura 12.

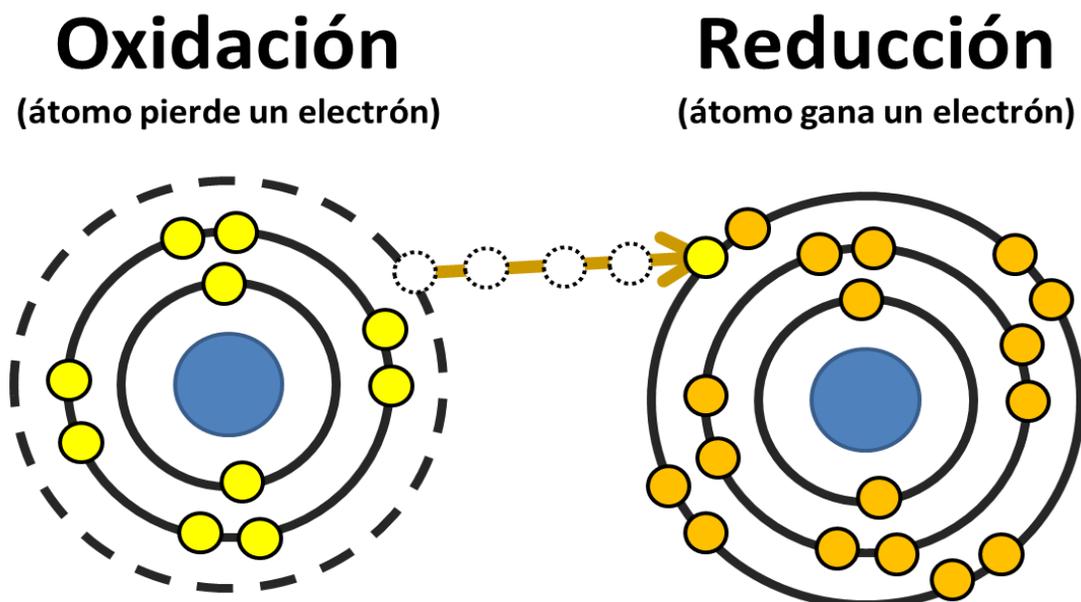


Figura 12. Principio básico del comportamiento del potencial redox
Fuente: <http://acquatecnologiaperu.com/potencial-redox.html>

En la gráfica 12, anterior se puede observar las pérdidas y ganancias de electrones a través de la variación del potencial óxido-reducción, base para la conservación de alimentos

2.7.2.19. Capacidad reguladora o amortiguadora (buffer) en el medio en estudio

En el laboratorio y en la industria es importante mantener el valor del pH en las soluciones y ello se logra mediante la creación de un sistema regulador, es decir, una solución, con características especiales, que puede absorber cantidades relativamente grandes de ácido o de base con leves modificaciones del valor de pH. La capacidad buffer de un medio es un indicador de la capacidad amortiguadora frente a la cantidad de ácido o base fuerte que puede neutralizar sufriendo un desplazamiento de pH de una unidad. Por lo tanto, las soluciones buffer son aquellas constituidas por un ácido débil y una base conjugada (sal) que permite la adición de ácido o base sin variar considerablemente el valor de pH. La capacidad buffer es máximo una unidad por encima y por debajo del pK del ácido débil.

En <https://www.google.com/search?q=capacidad+buffer&source>

No se detecta en la literatura, la construcción de gráficas (curvas) en la cual se represente conjuntamente las variables indicadoras de potenciales cambio fisicoquímicos y microbiológicos, es decir una gráfica con múltiples curvas, para un solo ácido, para mezclas de ácidos y para mezclas de múltiples ácidos y sales, tales como el pH, el potencial redox, la conductividad eléctrica, los sólidos disueltos moleculares totales y la osmolaridad, entre otros. Tampoco, se detectan investigaciones, donde las curvas anteriores se realicen con mezclas de ácidos/bases. Así mismo, no se detectan investigaciones, donde se realicen experimentaciones de los dos aspectos anteriores, en presencia de compuestos, como ácidos grasos, grasas o aceites, proteínas, aminoácidos, azúcares, especias, condimentos y aditivos; entre otros. Por tanto, estos aspectos, son realidades y necesidades a investigar. Rodríguez, et al., (2014).

2.7.2.20. La conductividad eléctrica (CE) en alimentos de alta humedad

La conductividad eléctrica (CE) de una sustancia se define como "la habilidad o poder de conducir electricidad. Las unidades de medida son Siemens por metro [S/m] en sistema de medición SI y, micromhos por centímetro [mmho/cm] en unidades estándar de EE.UU. La conductividad eléctrica depende en gran medida del número de electrones disponibles para participar en el proceso de conducción de electrones libres. La conductividad eléctrica se define como el ratio entre la densidad de corriente (J) y la intensidad eléctrica del campo (e) y es opuesta a la resistividad (r, [W/m]):

$$s = J/e = 1/r$$

El agua destilada ordinaria en equilibrio con dióxido de carbono en el aire tiene una conductividad aproximadamente de $10E-6 \text{ W}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ (20 dS/m). Debido a que la corriente eléctrica se transporta por medio de iones en solución, la conductividad aumenta cuando aumenta la concentración de iones.

2.7.2.21. Sólidos disueltos totales

Los sólidos disueltos totales (SDT en español o TDS por sus siglas en inglés: Total Dissolved Solids), son el número de miligramos del residuo que queda después de evaporar una muestra de agua previamente filtrada a través de un filtro de fibra de vidrio con abertura de 1,5 micras. El agua se evapora y el residuo se lleva hasta 180°C. El resultado se reporta en mg/L. Sin embargo, esta forma incluye los sólidos disueltos ionizables y los no ionizables; pero para aspectos de control de reacciones fisicoquímicas, fisiológica y microbiológicas, los de mayor interés son los ionizables (moleculares), ya que tienen influencia en la potencial redox extracelular y en consecuencia en la activación/inhibición de las vías o rutas metabólicas. Los SDT incluyen las sales, los minerales, los metales y cualquier otro compuesto orgánico o inorgánico menor a 1,5 micras o que se disuelve en el agua.

En ocasiones, los SDT se confunden con los sólidos totales (ST), que son el residuo que queda después de evaporar la misma muestra de agua pero sin filtrarse. Los sólidos

suspendidos totales (SST) son los que quedan en el filtro de fibra de vidrio con abertura de 1.5 micras. Por lo tanto, los ST son la suma de los SST y de los SDT.

La reducción de los SDT se logra mediante procesos como ósmosis inversa, electrodeionización, desmineralización o destilación.

Lo importante en procesos metabólicos es conocer los SDT en forma iónica (SMDT), que son los mg/L de sustancias orgánicas e inorgánicas en forma molecular, ionizada o en forma de suspensión micro-granular o sol coloide, que permite realizar reacciones moleculares. Por ello, la forma de estimarse es midiendo la conductividad eléctrica (CE) de la misma, ya que aquellos sólidos que se ionizan, aumentan la CE, utilizando equipos electrónicos (ppm: Partes Por Millón o mg/kilogramo o mg/litro). El agua pura tiene una CE prácticamente de cero y; estas medidas deben acompañarse con medidas de osmolaridad. Los SDT medidos de esta manera no consideran aquellos sólidos que no se ionizan al disolverse en el agua. El valor de los SDT en mg/L es de entre 0,5 y 1,0 veces el valor de la CE en micro Siemens/cm (dependiendo de la temperatura y del nivel de concentración de SDT y de su pK).

No obstante, existe una solución, si el medidor da los CE y ppm se puede calcular el factor de conversión: $\text{Factor de conversión} = \text{ppm}/\text{CE}$

Es esencial que el CE debe estar en μs y no en ms , para ello se multiplica mS por 1.000.

La EC o CE (en mS/cm) es igual en todos los instrumentos de medición de CE, así que si se quiere comparar medidas entre instrumentos y para distintos productos, es mejor usar estos valores.

2.7.2.22. Conductividad eléctrica (CE) y Sólidos disueltos totales (SDT)

Índice SDT o Sólidos totales iónicos disueltos es una medida de la concentración total de iones en solución. (CE) es realmente una medida de la actividad iónica de una solución en términos de su capacidad para transmitir corriente y modifica el potencial redox. Es preocupante y refleja un analfabetismo la falta de medición de múltiples variables en forma multivariada en investigaciones donde correlacionen causalidades entre las variables indicadoras de potenciales cambios fisicoquímicos y

microbiológicos. Además, no se detectan investigaciones que correlacionen en forma multivariada, mezclas de ácidos, no se estudia la efectividad como tratamientos en el crecimiento y desarrollo de microorganismos. Avila (2020).

2.7.2.23. Modelo algebraico polinomial lineal aditivo cuadrático con interacciones de alto orden

Es de interés en estudios del metabolismo celular el control y manipulación de variables como objetivo, estudiar el comportamiento de procesos complejos, en forma holística, que incluya las múltiples variables o factores de proceso (X_i) y que estén relacionadas en forma de causalidades conjuntas a las múltiples variables respuestas (Y_i). Es pertinente modelar el proceso en forma holística, que permita detectar la influencia individual de cada factor, de sus interacciones, tanto cuadráticas como de orden superior. Para ello, se han usado SAS JMP Pro 15 (2019) y Avila y Rivas (2019). A través de ellos se muestran que los modelos algebraicos polinomiales lineales aditivos cuadráticos con interacciones de alto orden, son efectivos para modelar respuestas de la producción de alimentos y la generación de nuevos productos. Un ejemplo para una respuesta y tres factores de proceso (X_1, X_2, X_3), se muestra a continuación.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{34} X_3 + X_1 X_2 X_3 + \varepsilon_i$$

Para ajustar estos modelos se utilizan procedimiento de regresión iterativa Screening (Regresión Ridge), ya que realiza pruebas de regresión forward-backward, introduciendo cada vez términos de mayor alto orden y mezclas de interacciones de mayor grado, hasta obtener un modelo de buen ajuste (adicionando los términos significativos y eliminando del modelo los términos que no contribuyen suficiente). Donde términos superiores a tercer orden o mayor son indicadores de la poca de bondad de ajuste de los modelos obtenidos, ya que indican que hay potenciales cambios no lineales, por lo que se requiere preferiblemente utilizar modelos no lineales robustos,

tales como modelos de procesos gaussianos o modelos de redes neuronales artificiales (SAS JMP Pro 15 (2019) y Avila y Rivas (2019)).

Dado que en cualquier sistema de un proceso en alimentos, su calidad es multivariada (depende de múltiples respuestas de calidad, seguramente relacionadas), donde hay que satisfacer en forma simultánea, según la deseabilidad difusa de cada respuesta de calidad para un cliente particular. Dichas variables respuestas (Y_i) están sometidas en forma conjunta a factores (X_i) intervinientes en el proceso, así como sus interacciones. Y, además se requiere satisfacer la reducción de costos por el uso de los X_i (de interés para el fabricante). Se requiere por ello, construir un metamodelo (sistema de inequaciones) que permita realizar experimentación determinista, es decir realizar optimización operativa multiobjetivo-multifactor vía simulación bajo reglas difusas; dado que la deseabilidad de calidad para cada respuesta es diferencial y no para un valor fijo si no un valor difuso, se requiere optimizar, modulando con reglas difusas multimétricas. (Ezeogu, 2019).

Por ejemplo, un metamodelo o modelo de simulación para cuatro (04) variables independientes o factores (X_1, X_2, X_3, X_4) y cuatro variables respuestas de calidad (pH, POR, CB, ATT), se muestra en la figura 13, siguiente.

$$\begin{aligned}
 pH &= \beta_{0a} + \beta_{1a}X_1 + \beta_{2a}X_2 + \beta_{3a}X_3 + \beta_{4a}X_4 + \beta_{11a}X_1^2 + \beta_{22a}X_2^2 + \beta_{33a}X_3^2 + \beta_{44a}X_4^2 + \beta_{12a}X_1X_2 + \beta_{13a}X_1X_3 + \beta_{14a}X_1X_4 + \\
 &\quad + \beta_{23a}X_2X_3 + \beta_{24a}X_2X_4 + \beta_{34a}X_3X_4 + \beta_{123a}X_1X_2X_3 + \beta_{1234a}X_1X_2X_3X_4 + \epsilon_{ia} \\
 PR &= \beta_{0b} + \beta_{1b}X_1 + \beta_{2b}X_2 + \beta_{3b}X_3 + \beta_{4b}X_4 + \beta_{11b}X_1^2 + \beta_{22b}X_2^2 + \beta_{33b}X_3^2 + \beta_{44b}X_4^2 + \beta_{12b}X_1X_2 + \beta_{13b}X_1X_3 + \beta_{14b}X_1X_4 + \\
 &\quad + \beta_{23b}X_2X_3 + \beta_{24b}X_2X_4 + \beta_{34b}X_3X_4 + \beta_{123b}X_1X_2X_3 + \beta_{1234b}X_1X_2X_3X_4 + \epsilon_{ib} \\
 CB &= \beta_{0c} + \beta_{1c}X_1 + \beta_{2c}X_2 + \beta_{3c}X_3 + \beta_{4c}X_4 + \beta_{11c}X_1^2 + \beta_{22c}X_2^2 + \beta_{33c}X_3^2 + \beta_{44c}X_4^2 + \beta_{12c}X_1X_2 + \beta_{13c}X_1X_3 + \beta_{14c}X_1X_4 + \\
 &\quad + \beta_{23c}X_2X_3 + \beta_{24c}X_2X_4 + \beta_{34c}X_3X_4 + \beta_{123c}X_1X_2X_3 + \beta_{1234c}X_1X_2X_3X_4 + \epsilon_{ic} \\
 ATT &= \beta_{0d} + \beta_{1d}X_1 + \beta_{2d}X_2 + \beta_{3d}X_3 + \beta_{4d}X_4 + \beta_{11d}X_1^2 + \beta_{22d}X_2^2 + \beta_{33d}X_3^2 + \beta_{44d}X_4^2 + \beta_{12d}X_1X_2 + \beta_{13d}X_1X_3 + \beta_{14d}X_1X_4 + \\
 &\quad + \beta_{23d}X_2X_3 + \beta_{24d}X_2X_4 + \beta_{34d}X_3X_4 + \beta_{123d}X_1X_2X_3 + \beta_{1234d}X_1X_2X_3X_4 + \epsilon_{id}
 \end{aligned}$$

Figura 13. Metamodelo emulador de un proceso de producción de alimentos (cuatro variables dependientes (respuestas) y cuatro variables independientes (factores))

Fuente: Avila (2021)

2.7.2.24. Diseño de muestreo estadístico robusto para el ajuste de metamodelos de optimización

La optimización operación a través de modelos matemáticos, ha evolucionado con la informática y la computación inteligente, dada la gran gama de procedimientos para la resolución de sistemas de inecuaciones usando simuladores estadísticos, con introducción de funciones de reglas difusas multimétricas o funciones de tendencia multimétrica, en la modulación para la resolución de estos sistemas de inecuaciones (metamodelos de simulación multiobjetivo-multifactoriales). Simuladores con interfaz gráfica interactiva de visualización de resultados en tiempo real. Las funciones de reglas difusa multimétrica, permiten establecer reglas difusas o funciones para cada respuesta objetivo particular.

Los procesos multivariados de relaciones de causalidad (multiobjetivo-multifactoriales) de comportamientos complejos, donde todas las variable objetivos o respuesta (Y_i) demanda satisfacerse de manera conjunta, requiere el ajuste de modelos estadísticos holísticos de excelente bondad de ajuste, que permitan predecir y modular dichos procesos con mínimo error; para ello se requiere realizar un muestreo robusto de DIC`s (Datos, Información y Conocimientos). Para lo tanto, es importante la disponibilidad de algoritmos para crear diseños de muestreo estadísticos robustos (Llenado de espacio: Space filling design: SFD), superior a los tradicionales diseños de mezclas restringidas y, superando en mucho a los factoriales, factoriales mixtos, anidados, multinivel y compuestos centrales.

Una de las ventajas sobre todos los demás diseños de muestreo es que el investigador puede fijar el número de tratamientos distintos de acuerdo a su capacidad logística, es decir puede elegir un diseño pequeño (diseño económico), cosa que ningún otro diseño tradicional lo permite.

Los SFD en castellano DLE (Diseños de Llenado de Espacio), diseños de muestreo estadístico, según Avila y Rivas (2019), SAS JMP Pro 15 (2019) y Gryder, et al. (2019), muestran las siguientes ventajas.

1. El investigador decide el número de tratamientos
 2. El número de niveles o dosis de cada factor experimental es amplio, e igual al número de tratamientos, para cada factor experimental.
 3. Un gran número de niveles o dosis de cada factor experimental, permite ajustar casi cualquier modelo complejo.
 4. Los tratamientos experimentales están distribuidos en forma bastante homogénea en el espacio experimental y distribuidos casi a la misma distancia, tan cercanos que cada vecino más cercano, pareciera su repetición; por ello (solo decimales los separa), estos diseños de llenado de espacios no requieren repetición y; si se repiten los tratamientos, se puede presentar multicolinealidad, por solo sus valores decimales.
1. Son económicos, es decir con un diseño de llenado de espacios de pocos tratamientos, se pueden ajustar modelos complejos.
 2. Permiten realizar experimentación secuencial, en la búsqueda del óptimo operativo.
 3. Son diseños duales, es decir son excelentes para realizar experimentación estocástica y experimentación determinística, Avila y Rivas (2019).

2.7.2.25. Las funciones de deseabilidad multimétricas en la optimización vía simulación determinística, en la generación de nuevos productos alimenticios

El enfoque de la función de deseabilidad (función de conveniencia o función utilitaria de transferencia) de Derringer y Süich (1980) y Derringer (1994), es uno de los métodos más utilizados en la industria para la optimización de procesos con múltiples respuestas o características de calidad. Se basa en la idea de que la "calidad global" de un producto o proceso que tiene varias características de calidad (Y_i), que con solo una de ellas fuera de unos límites "deseados", el producto o proceso es no conforme. El método encuentra condiciones de funcionamiento (valores de los factores X_{ijk} del proceso) que proporciona los valores de respuesta "más deseables"; para ello, el método

asigna para cada respuesta $Y_i \sim f(x)$ una función de deseabilidad $d_i(Y_i)$, que asigna números en un rango entre 0 y 1 para los posibles valores de Y_i , si, $d_i(Y_i) = 0$ representa un valor completamente indeseable de Y_i y si $d_i(Y_i) = 1$, significa un valor de respuesta completamente deseable o ideal.

2.7.2.26. Aspectos legales de la investigación

Según la Ley Habilitante: Ley Orgánica de Seguridad y Soberanía Agroalimentaria, Decreto 6.071 con Rango, Valor y Fuerza, Ley Orgánica de Seguridad y Soberanía Agroalimentaria (Extraordinario 5.889 de la Gaceta Oficial, 31 de Julio de 2008), del Título V. De la investigación y educación en materia agroalimentaria. La investigación (capítulo I) y Educación (capítulo II), en materia agroalimentaria, indican urgentes los cambios en los hábitos y patrones de alimentación de la población, incididos históricamente por culturas foráneas con condiciones económicas, sociales y geográficas disímiles a las de nuestro país. Esto, conjuntamente con las actividades de formación y capacitación y el fomento de la cultura alimentaria es objeto de regulación del mencionado capítulo I.

En relación a la institucionalidad gubernamental y la academia institucional:

1. La prioridad de investigación en Venezuela, según el Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias, se requiere “Orientar, apoyar y promover la generación de conocimiento y tecnologías” para el área de seguridad y soberanía alimentaria:

Garantizar el acceso estable y oportuno a los alimentos en la calidad y cantidad necesaria para satisfacer los requerimientos de toda la población; donde a la UNELLEZ como formadora de profesionales en el área agroindustrial, y con labor de investigación, debe generar información y tecnologías que permitan enfrentar situaciones problemáticas coyunturales y fundamentalmente sus causas estructurales.

2. Esta investigación está enmarcada en el plan general de investigación de la UNELLEZ 2008-2012 (“Reglamento de Creación Intelectual de la Unellez”), dentro

del área ciencias del agro y mar, en la generación de nuevos productos; y en el área ingeniería, arquitectura y tecnología: “Modelado, Optimización y Simulación de Sistemas”; y “Tecnología y Procesos Industriales”; y de acuerdo a las líneas de investigación definidas, se enmarca en el área de ingeniería, línea “Propiedades físicas y químicas de materiales biológicos (alimentos)”, en “Modelamiento, simulación, optimización y control de procesos bioquímicos”.

En el Capítulo I. De la investigación en materia agroalimentaria

Artículo 91, referido a la promoción e incentivo; el cual reseña: “El Estado promoverá e incentivará la investigación, desarrollo, extensión y transferencia de tecnología en todas las etapas de la cadena agroalimentaria, con énfasis en las etapas de procesamiento, intercambio, distribución y comercialización, y tomará las medidas necesarias para su aplicación, con el objeto de mejorar la producción, conservación, transformación, transporte, intercambio, distribución y análisis de alimentos”.

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

En el presente capítulo, se presentan las formalidades metodológicas bajo el contexto mediante el cual se desarrolló la investigación, imprescindible para satisfacer el objetivo propuesto en el estudio. Iniciando con una descripción sucinta de las fases de desarrollo del estudio.

3.1. Fases de desarrollo de la investigación

Las etapas de la investigación se superestructura en cinco (04) fases: conceptual, planeación y diseño, empírica y de difusión.

3.1.1. Fase conceptual

En esta fase se formula y se delimita el sujeto del objeto del problema, en la precisión y determinación de lo que se pretende investigar, como es “El problema de la conservación de alimentos, bajo la premisa que la producción de alimentos debe ser aprovechable al máximo”. Se realizó la revisión de la literatura en la búsqueda de datos, información y conocimientos, antecedentes y una descripción de bases teóricas que fundamenten los procesos químicos, bioquímicos y fisiológicos de aplicación extracelular de mezclas de ácidos quimioacidulantes como gestión de conservación de alimentos de alta humedad y con gran valor nutritivo. Desarrollo del marco teórico, referentes y fundamentos teóricos para el problema de investigación planteado. Formulación de la hipótesis de trabajo, una anticipación de explicación probable del proceso investigado y, que requiere ser explicado.

3.1.2. Fase de planificación y diseño

Aquí, se describen los métodos y estrategias para comprobar la hipótesis referida al sujeto de investigación, del objeto del problema investigado. Se planifica la recolección de la información necesaria. Se seleccionó el diseño metodológico de investigación. Se identificó la población muestral, la muestra poblacional Se identificaron las variables dependientes (respuestas, Y_i) y las variables independientes (factores experimentales,

Xi). Se seleccionan los métodos, instrumentos de laboratorio y equipos de procesamiento de productos cárnicos. Se diseñó el plan de muestreo, creando un diseño de muestreo estadístico experimental robusto (Space filling), para la realización de las pruebas pilotos y pruebas definitivas exploratorias.

3.1.3. Fase empírica

En esta se ejecutó la investigación, en dos etapas

1. Experimentación y elaboración de los embutidos genéricos en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA) de la Universidad “Ezequiel Zamora” San Carlos-Cojedes
2. Experimentación y recolección determinística de Datos, Información y Conocimientos, expresados en resultados

3.1.4. Fase de difusión.

La divulgación de los resultados obtenidos, se realiza con el fin de contribuir en el desarrollo y aplicación de nuevas tecnologías en área de diseño de nuevos productos de alta humedad, de gran valor nutritivo; de origen animal (pescados de aguas continentales).

3.2. Procedimiento general para la obtención de la mezcla acidulante y procesamiento para la elaboración de los embutidos genéricos

Se procedió a elaborar la mezcla quimioacidulante con los aditivos acidulantes alimentarios GDL, ácido fórmico y ácido láctico (mezcla óptima experimental), en base al diseño de tratamientos seleccionado (por triplicado). Se procedió a ejecutar las pruebas pilotos de rigor, para explorar rangos de mediciones de la mezcla, como también de sus dosificaciones. Posteriormente, se iniciaron las mediciones de las variables respuestas pH, POR, CE, CB, ATT y medición de las variables indicadoras de calidad microbiológica (aerobios mesófilos y coliformes totales).

Para la preparación de la mezcla óptima experimental quimioacidulante, se seleccionó un diseño de muestreo estadístico experimental para preparar la mezcla de los compuestos acidulantes y ácidos, en el laboratorio de investigación adscrito al Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos, se realizó cada mezcla, cada una de las cuales se le midió las respuestas pH, POR, CB, ATT, en función de las variables experimentales (X_i), ácidos y GDL. Una vez obtenido los datos (tres repeticiones), se procedió a construir los metamodelos multiobjetivo-multifactor, robustos y luego se realiza la optimización multiobjetivo-multifactor vía simulación, en el simulador estadístico de programa SAS JMP v8.

3.3. Pruebas pilotos

Se diseñaron pruebas de estabilización con ácidos y sales individuales, también con mezclas de solo ácidos, con el fin de discriminar la eficiencia de su uso en los embutidos obtenidos a base de pulpa de pescado (cachama); conservados bajo condiciones ambientales. Todo bajo los procedimientos descritos anteriormente

3.4. Aditivos acidulantes alimentarios. Variables independientes, factores en estudio

El objetivo primordial de la presente investigación fue encontrar la mezcla de ácidos quimioacidulantes orgánicos con el mayor poder de conservación, donde el crecimiento y desarrollo de microorganismos putrefactivos, sea lo más lento posible, a través de la intervención del medio para controlar la cadena respiratoria, interviniendo el poder del potencial óxido-reducción, hasta llevarlo a un rango entre (0 a 200 mV), que el medio tenga y mantenga alta capacidad buffer para que cualquier cambio en el valor de pH, se mantenga esta condición, (alta capacidad buffer).

Los números “E” son códigos para identificar a las sustancias utilizadas como aditivos alimentarios. Comúnmente encontrado en las etiquetas de los alimentos, su evaluación y aprobación de seguridad es responsabilidad de las autoridades de la Seguridad Alimentaria, tener una sola lista unificada para aditivos alimentarios se

acordó por primera vez en 1962 con colorantes alimentarios. En 1964, se agregaron las directivas para los conservantes, en 1970 para los antioxidantes y 1974 para los emulsionantes, estabilizadores, espesantes y agentes gelificantes. El esquema de numeración sigue el sistema de numeración internacional (SIN) según lo determinado por el comité del Código Alimentario Español (1992).

Los aditivos acidulantes alimentarios, son las sustancias que añadidas a otras en pequeñas cantidades, modifica sus propiedades físicas y/o químicas. Sustancia pura o mezcla de ellas, presentes en el alimento como resultado de su adición premeditada en su procesamiento, almacenamiento o el empaque del producto para conferirle ciertas características importantes de conservación, sabor, textura, etc; (el término no incluye contaminantes). En esta categoría se encuentran conservadores, emulsionantes, saborizantes, estabilizadores, colorantes, enzimas, ácidos, bases, antioxidantes y muchos otros; Badui (1998).

Durand (2002), indica que en los productos cárnicos se autorizan los ácidos orgánicos: acético, láctico, cítrico, tartárico, etc. Es preciso recordar que la utilización está estrictamente limitada por la tecnología. En lo que concierne a los ácidos, se trata sobre todo a un efecto del valor del pH. Cuanto más bajo sea el pH menos riesgo hay de proliferación microbiana. Debido a la utilización de los ácidos orgánicos, la influencia de los acetatos y de los lactatos, solos o mezclados; sobre el crecimiento de (*Listeria, monocytogenes*), ha sido particularmente estudiada.

Las sustancias conservadoras, son agentes antimicrobianos o agentes químicos que se emplean para evitar el crecimiento de microorganismos en alimentos, como los siguientes que sólo inhiben el crecimiento: benzoico, acético, sórbico, láctico y propiónico (y sus sales); parabenos, nitritos, nitratos y antibióticos. Actúan de diferentes formas: pueden alterar la membrana celular y sus enzimas, interferir en el mecanismo genético, afectar la permeabilidad, modificar las rutas metabólicas. Su

elección debe basarse en la selectividad de inhibición, solubilidad, pH del sistema, carga microbiana, costo y otros factores; Badui (1998)

3.4.1. Glucono-delta-lactona, (GDL)

Glucono-delta-lactona, E-575. (GDL). Fórmula química: $C_6H_{10}O_6$. Polvo blanco cristalino, casi inodoro, se descompone a $153^{\circ}C$; de sabor dulce, soluble en agua, se usa en procesamiento de carnes, el cual se descompone y produce ácido glucónico el cual selecciona la microflora en embutidos; Badui (1998). También conocida como gluconolactona, es un aditivo alimentario, utilizado como secuestrante, acidificante o agente de curado. Es una lactona del ácido D-glucónico. GDL es un polvo cristalino inodoro blanco, En (<https://en.org/Glucono-delta-lactone>).

La Glucono-delta-lactona, (GDL); es un derivado de la glucosa, es decir, un carbohidrato. Químicamente es un anhidro del ácido glucónico. Bajo la influencia del agua contenida en la carne o la pasta, (añadida o de constitución); se hidroliza y se transforma en ácido glucónico, con lo que desciende el pH; Frey (1985) citado por García O (2007), ver figura.... Es un madurador o agente acidificante, pues son aditivos alimentarios importantes para otorgar las características organolépticas a productos embutidos crudos principalmente. Para lograr esta acidificación, se pueden emplear cultivos iniciadores de bacterias ácidos lácticos, como también ácido láctico o cítrico.



Figura 14. Glucono delta lactona (GDL), grado alimenticio

Sin embargo, es un excelente acidulante con muy buenos resultados tecnológicos. La Glucono-delta-lactona (GDL), que disuelta en agua es precursor del ácido glucónico, el cual progresivamente disminuye el pH del sustrato donde se agregue o participa, otorgando el sabor característico de estos productos. Glucono-delta-lactona, éster interno del ácido glucónico, produce por hidrólisis una acidificación progresiva, por lo cual inhibe el crecimiento microbiano y acelera también la formación de color en el proceso del curado. En ausencia de una flora adecuada en la elaboración de embutidos, puede ocurrir que no se produzca el descenso del pH o bien que su disminución sea insuficiente. Para resolver este problema se ha buscado una sustancia química capaz de provocar o producir el descenso del pH, así se llegó al producto Glucono-delta-lactona, (GDL); Frey (1995)

Según Amo (1986), la GDL es un éster del ácido glucónico que se presenta en forma de polvo blanco, cristalizada, sin olor particular y de sabor agradable, parecido a otros azúcares; muy soluble en agua, se hidroliza en la pasta del embutido, dando origen al ácido glucónico, en conjunción con varios factores fisicoquímicos: humedad, pH inicial, poder tampón de la carne, temperatura y la asociación de otros como la adición de azúcar y ácido ascórbico o sus sales. La GDL coadyuva a que no crezcan gérmenes indeseables en el embutido, al conseguir valores de pH no aptos para su desarrollo, del mismo modo como lo hacen los azúcares como consecuencia de la fermentación láctica. Glucosa-delta-lactona (GDL), actúa como acelerador de curación disminuyendo el pH de la emulsión durante el proceso térmico.

La GDL se utiliza, según Durand (2002), para acelerar el descenso del pH de los productos secos madurados (salchichas y embutidos curados). En ausencia de GDL, el descenso del pH es lento. En presencia de GDL, el descenso del pH es rápido, la gelificación de las proteínas también y es posible obtener un producto “loncheable” en tiempos cortos. Sin embargo, la calidad sensorial no es exactamente la misma. Se pueden añadir a la mezcla pequeñas cantidades de GDL, normalmente del 0,1% al 0,2%. Sin embargo, con la finalidad de no dañar la estabilidad de la emulsión, que es

sensible a los ácidos. Existen GDL's llamadas "retardadores" recubiertas por sustancias insolubles en agua (generalmente derivadas de lípidos) que se funden cuando asciende la temperatura, supone una seguridad con respecto a la estabilidad de la emulsión, la hidrólisis comienza cuando la GDL es liberada al entrar en contacto con el agua (de constitución o añadida), del embutido.

3.4.2. Ácido láctico

Ácido láctico, E-270. Fórmula química: $C_3H_6O_3$. El producto comercial es un líquido incoloro, viscoso, algo amarillo, mezcla de ácido y lactato, contiene de 50-90% de ácido, higroscópico. Conservante de origen natural o químico; Badui (1998). Obsérvese la figura 15.

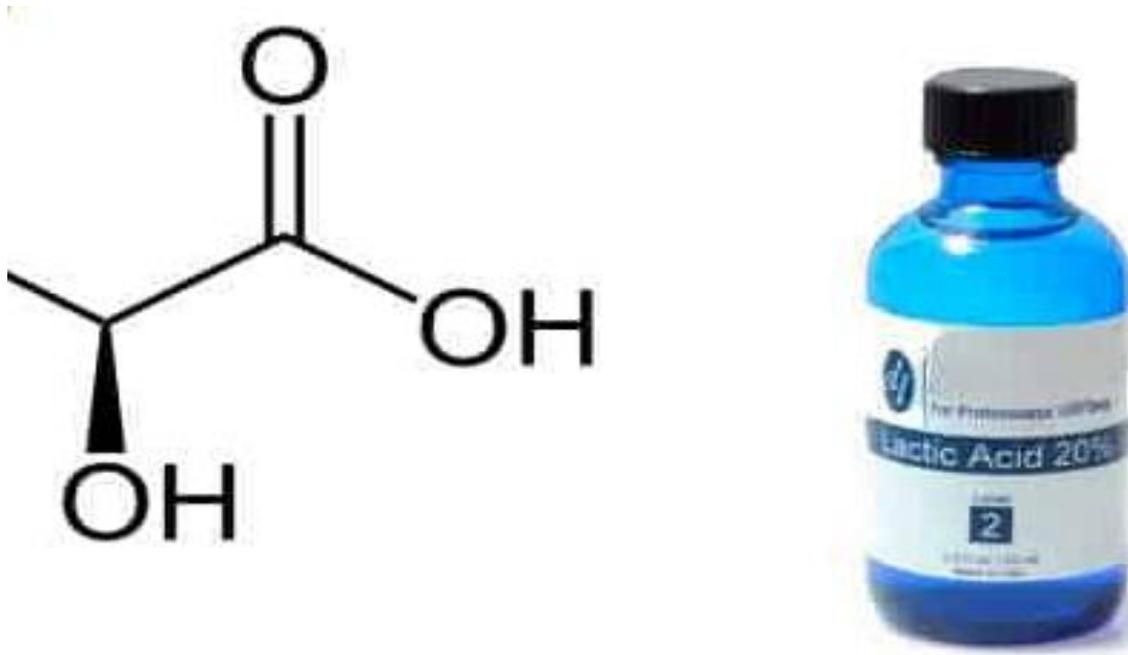


Figura 15. Presentación comercial del ácido láctico

El empleo del ácido láctico en productos cárnicos y carne fresca procesada, se hace con la finalidad mejorar sus propiedades organolépticas limitando la contaminación del producto y/o retardando o inhibiendo el crecimiento de microorganismos descomponedores. Una vida de anaquel más larga permite al procesador desarrollar nuevos productos frescos procesados, como los embutidos. Los días extra de vida de

anaquel adquiridos por la adición de estos aditivos proporciona al productor una oportunidad de vender sus productos frescos en un período más extenso, e incluso ya en manos de los consumidores.

El ácido láctico tiene múltiples usos, ya que se aplica en diversos ámbitos como la medicina y la industria, tanto alimenticia como química. Cabe resaltar que este ácido es una sustancia que se encuentra presente en la naturaleza como parte de los metabolitos del organismo, pero comercialmente se obtiene por reacción química o por fermentación; y suele encontrarse en su versión pura en líquido o en su forma anhidra como sólido. Las bacterias que producen el ácido láctico forman parte de los grupos más importantes de microorganismos que se utilizan en la fermentación de los alimentos. Por tal razón es que este ácido es ampliamente utilizado en la industria alimenticia como conservante y aromatizante, ya que tiene la capacidad de regular la acidez de los alimentos, conservarlos e incluso mejorar su sabor, Hugo (2009)

3.4.3. Ácido acético

Ácido acético, E-260. Fórmula química: $C_2H_4O_2$. El ácido acético (también llamado ácido metilcarboxílico o ácido etanoico), puede encontrarse en forma de ion acetato. Se encuentra en el vinagre, y es el principal responsable de su sabor y olor agrios. Acidificante de origen natural, preferiblemente de origen vínico. Toxicidad: si es de origen vínico no presenta. Usado en alimentos: acidulantes, condimentos y pan industrial. En (<https://es.org/industries/>)

Su fórmula es H-COOH (CH_2O_2), el grupo carboxilo es el que le confiere las propiedades ácidas a la molécula. Su base conjugada se ve estabilizada por dos estructuras de resonancia, favoreciendo su acidez. Teniendo en cuenta que el pH varía generalmente entre 1.0 y 14.0 (siendo 7.0 el pH neutro); podríamos decir que el ácido fórmico, pese a ser un ácido de origen natural es relativamente fuerte.

Entre otras propiedades el ácido metanoico o fórmico es un ácido líquido, incoloro, de olor irritante, con punto de ebullición de $100,7\text{ }^\circ\text{C}$ y de congelación de $-8,4\text{ }^\circ\text{C}$ y es completamente soluble en agua pues su cadena carbonada es muy corta y fácilmente ionizable. En el agua el ácido fórmico se disocia, reaccionando de la siguiente manera, ionizándose: $\text{H-COOH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H-COO}^- + \text{H}_3\text{O}^+$. Cuando se manipule ácido fórmico hay que hacerlo con guantes, ya que este en contacto con la piel que inyectan las hormigas al morder. De ahí el nombre de fórmico (del latín *formicam*, hormiga). En la siguiente figura 17, se puede observar su fórmula estructural y su presentación comercial



Figura 17. Presentación del ácido fórmico al 85%, grado alimenticio

3.5. Algoritmo de diseño de muestreo estadístico experimental de la investigación

Se utilizan algoritmos de diseños de muestreos estadísticos robustos del tipo de llenado de espacio (Space filling, estocástica en laboratorio y experimentación determinista informática), usando el módulo DOE y los algoritmos de la opción Space Filling Design, del Software SAS JMP v8.

3.6. Procedimiento para el ajuste de modelos estadísticos lineales, aditivos y de alto orden

Se utilizan las dos (02) las plataformas de regresión Screening y At least square, del Software SAS JMP v8:

1. Modeling, opción Screening Ridge

Esta plataforma informática Screening, se utiliza para explorar modelos lineales aditivos cuadráticos con interacciones de alto orden y explorar múltiples y variadas combinaciones de términos de interacción de alto orden hasta el exhausto, utilizando estrategias de regresión de mínimos cuadrados ordinarios (At least square Ridge) matriciales. La táctica de regresión utilizada es “Selección hacia adelante” (Forward Stepwise Regression). Las variables se introducen secuencialmente término a término en el modelo. La primera variable que se introduce es la de mayor correlación (+ o -) con la variable dependiente. Dicha variable se introduce en la ecuación solo si cumple el criterio de entrada de alta correlación. A continuación se considerará la variable independiente cuya correlación parcial sea la mayor y que no esté en la ecuación. El procedimiento termina cuando ya no quedan variables que cumplan el criterio de entrada.

El procedimiento se inicia a partir de la matriz “D” de diseño de muestreo estadístico, la cual se expande esta matriz y construye la matriz “X” de diseño del modelo poblacional cuadráticos puros y sus interacciones de primer orden (si hay más de dos variables experimentales X_i , se generan términos cuadráticos no puros y términos cúbicos, cuárticos, ..., no puros), es decir términos de interacción de alto orden. Cada vez que se crea una matriz “X”, con nuevos términos, esta es

ortogonalizada Ridge, para evitar la multicolinealidad. A su vez, en cada ciclo que se agregan términos nuevos, son eliminados los términos que no se ajustan a la regresión adecuadamente.

La novedad del método de regresión Screening, es que una vez terminado el primer proceso anterior (Forward Stepwise Regression), se procede a introducir combinaciones de términos de muy alto orden (interacciones entre términos de alto orden del modelo inicial), repitiendo Forward Stepwise Regression. Además, al final el algoritmo, si no hay un buen ajuste, da indicios de necesidades de términos más complejos; indicando esto que el proceso estudiado tiene comportamientos no lineales. Después de estos procedimientos matriciales, finalmente se selecciona el modelo de mejor ajuste.

2. Fit Model, opción At least square.

Una vez experimentado el procedimiento screening y seleccionado el modelo más robusto, se introduce en la caja de dialogo de la plataforma Fit Model, con la opción At least square (mínimos cuadrados ordinarios matricial Ridge).

Los dos procedimientos anteriores se repiten para cada variable respuesta (Y_i), tantas veces como respuestas se midan en el laboratorio estocástico. Con este procedimiento se construye entonces un conjunto de ecuaciones, que se corresponde con el metamodelo emulador del proceso. Metamodelo utilizado para la optimización multiobjetivo vía simulación.

Con este procedimiento, se ajusta un modelo a la vez; es decir un modelo (ecuación) para cada respuesta y, luego el conjunto de modelos, se toma como el metamodelo emulador (Multioutput Regression), a resolver en forma conjunta, en un simulador estadístico; donde primero se realiza un screening exploratorio con el objetivo de verificar si el sistema de inecuaciones tiene solución para las restricciones establecidas, es decir para las reglas difusas exigidas y, luego un ajuste basado en un compromiso técnico estadístico, siguiendo las recomendaciones y cuidados de Browlee (2020). En

lo siguiente, se muestra la secuencia de pasos y características usadas para ajustar y verificar la bondad de ajuste.

Una vez corrido el proceso Screening, se estudia.

1. La discriminación de efectos; un grupo (highlight: resaltado en color), grupo de variables experimentales que tienen alto grado de efecto significativo sobre la respuesta medida.
2. Los valores de contraste para cada efecto, ratio t de Lenth, calculadas como el valor de contraste dividido por el PSE (pseudo-estándar error) de Lenth, valor p individual y simultáneo, y alias si los hay. Se resaltan de color negro los efectos significativos y marginalmente significativos. El error estándar utilizando el método de Lenth (1989) y se muestra como una tabla de Detección de efectos. Esta estimación, llamada pseudo estándar error, se forma tomando 1,5 veces el valor absoluto medio de las estimaciones después de eliminar todas las estimaciones mayores que 3,75 veces la estimación absoluta media en el conjunto completo de estimaciones. Para verificar el grado de normalidad de Gauss de los residuales, se estudian los gráficos Normal Plot, el Half-Normal Plot, el Bayes Plot y; el Gráfico de Pareto, para detectar el grado de contribución de los parámetros.

3.7. Equipos, instrumentos, implementos e insumos. Análisis microbiológicos en laboratorio

- Agua destilada
- Varillas de vidrio para mezclado
- Placas RA 3M Petrifilm (Recuento de aerobios y coliformes)
- Horno de incubación con temperatura regulable
- Lupa de lectura de placas Petrifilm

3.8. Análisis microbiológico en laboratorio de microbiología

Los análisis microbiológicos (aerobios mesófilas y coliformes totales) se realizaron solo durante la validación de la mezcla acidulante (mezcla óptima aplicada a la muestra

funcional de análisis), bajo almacenamiento al ambiente sin refrigeración. Estos análisis como una forma de estimar la efectividad de control de crecimiento y desarrollo microbiológico de la gestión de conservación del producto terminado.

Las muestras fueron sembradas en Placas RA 3M Petrifilm por triplicado, para hacer recuento de aerobios mesófilas totales (resultados en 48 horas) esta tecnología permitió sembrar la muestra directamente y ayudan a determinar las poblaciones de bacterias aerobias y coliformes totales en procesos de pruebas. El tinte indicador y la rejilla incorporada permiten identificar colonias con rapidez y precisión. Siguiendo las recomendaciones de la guía de interpretación para Placas RA 3M Petrifilm.

3.9. Equipos, instrumentos e implementos de laboratorio de investigación

- Mesones de acero inoxidable, cuchillos convencionales, molino para molienda de carne, cútter, embutidora, engrapadora, horno-ahumador, cavas de refrigeración.

-Base universal, buretas graduadas, micro pipetas, beaker de vidrio, bala agitador magnético, plancha agitadora magnética con calentador eléctrico, termómetro bimetalico, balanza electrónica 0,01mg de sensibilidad, pHmetro (pH y potencial redox), conductímetro (Conductividad eléctrica y solidos Disueltos Totales). Los análisis químicos realizados en laboratorio de investigación:

3.9.1. Acidez iónica (pH)

Para la estimación del pH, se utilizò la Norma NMX-F-317-S-1978. (1978) Adaptada por Ávila y Rivas (2019). Método electrométrico con un potenciómetro eléctrico, usando un pH Meter Hanna: HI 2211 (pH/ORP y °C).

3.9.2. Potencial redox (POR)

La medición del potencial de óxido reducción (mV) se realizò según las recomendaciones de Avila y Rivas (2019), método electrométrico con un potenciómetro eléctrico, usando un pH Meter Hanna: HI 2211 (pH/ORP y °C).

3.9.3. Conductividad eléctrica (CE) y Sólidos disueltos totales (SDT)

Método electrométrico con un potenciómetro eléctrico. Conductímetro TDS-3, Conductividad eléctrica, Sólidos Disueltos Totales y Temperatura (TDS-mg/kg y °C, CE- μ S/CM). Rango Dual: 0-999 mg/kg (resolución de 1 mg/kg). De 1.000 a 9.990 mg/kg, la resolución es de 10 mg/kg.

3.9.4. Capacidad buffer (CB)

La estimación de la CB, se utiliza las recomendaciones de Avila y Rivas (2019), método electrométrico con un potenciómetro eléctrico, usando un pH Meter Hanna: HI 2211 (pH/ORP y °C), para titulación hasta vencer una unidad de pH.

3.9.5. Acidez titulable total (ATT)

Para la estimación de la ATT, se utiliza la Norma NMX-F-102-S-1978. (1978). Adaptada por Avila y Rivas (2019), para ensilados químicos. Método electrométrico con un potenciómetro eléctrico, usando un pH Meter Hanna: HI 2211 (pH/ORP y °C), para titulación con NaOH [1 N] hasta llevar el pH 8,2 a 8,3.

Todas las determinaciones fueron realizadas por personal técnico del laboratorio de investigación, debidamente capacitado y entrenado, como se muestra en la figura 19.



Figura 18. Personal técnico especializado del laboratorio de investigación

Las variables anteriores se midieron durante la optimización de la mezcla quimioacidulante y además durante la validación de la optimización. Las variables que a continuación se describen, se medieron solo durante la evaluación de calidad de almacenamiento en el tiempo, de la mezcla quimioacidulante en los embutidos producidos. Luque (2022). Todas estas variables fueron medidas con el equipo multifunción que aparece en la figura 18, a manera de comprobar las mediciones realizadas como un patrón de referencia adicional.



Figura 19. Equipo de medición multirespuesta. Medición variables dependientes

Fuente: Luque (2022)

3.10. Procedimiento experimental (materiales y métodos)

3.10.1. Materiales

3.10.1.1. Cachama fresca

Para la obtención de las unidades experimentales (embutido genérico), se obtuvo especímenes (individuos) de cachama híbrido recién capturadas (*Colossoma x*

Piaractus), en la estación piscícola de la empresa Deforestaciones San Carlos (DEFORSA) del estado Cojedes–Venezuela. Los individuos usados en el estudio son cultivados de forma semi-intensiva en lagunas acondicionadas para tal fin. En la figura 20 se puede observar el tipo de individuo usado.



Figura 20. Cachamas usadas en el experimento

Fuente: Luque (2022)

3.10.1.2. Glucono-delta-lactona (grado alimenticio)

3.10.1.3. Ácido láctico, (grado alimenticio)

3.10.1.4. Ácido fórmico, (grado alimenticio)

3.10.1.5. Tripas manufacturadas, (nylon retráctil). Marca: Visflex. Calibre: 60 mm.

3.11. Equipos

3.11.1. Separadora mecánica de pulpa de pescado. Marca: YANAGIYA. Modelo SY-100S.

3.11.2. Micro-cútter (cortadora-mezcladora). Marca Seydelmann, tipo K21-Ras N° 79117, capacidad 12 Kg.

3.11.3. Embutidora de pistón. Marca F-Maschinen, tipo 20/4 Bpsvar N° 2017058, capacidad 20 Kg.

3.11.4. Determinador actividad de agua, (aw). Marca: Aqualab. Modelo: CX-2

3.11.5. pH-metro. Marca: Corning. Modelo: 125

3.12. Proceso tecnológico para la obtención de la pulpa de cachama híbrido (*Colossoma x Piaractus*)

3.12.1. Etapa I. Obtención de la pulpa de cachama

Dos especies nativas han ocupado la atención en la piscicultura venezolana, la cachama negra o cherna (*Colossoma macropomun*), con la cual se inició la piscicultura a fines de los años 70, y la cachama híbrido, producto del cruce de ejemplares hembras de la cherna y machos de la cachama blanca o morocoto (*Piaractus brachypomus*), cuyos alevines resultaron con escamación blanca, parecida al morocoto, atractivo en el mercado, cabeza pequeña, de rápido crecimiento, más ágil de movimientos y más resuelta que la cherna a tomar con evidente voracidad cualquier tipo de alimento; más resistente a las enfermedades, (véase figura 21), más rústica en el manejo y/o traslado de un estanque a otro; Hurtado (1996). Aunque mucho podría hacerse para mejorar la utilización del pescado mediante el empleo de los métodos convencionales, los principales avances van unidos sin embargo al uso de nuevas tecnologías; Gil y Bello, (1986).



Figura 21. Cachama híbrido (*Colossoma x Piaractus*)

Fuente: Luque (2022)

Los individuos usados fueron capturados en horas de la mañana (8:00 a.m.) por medio de mallas y fueron clasificados de acuerdo a la longitud estándar (Ls), medida en cm, desde la cabeza (boca) hasta la bifurcación en “v” de la aleta caudal, altura (Hadv) definida como la altura comprendida desde la base de la aleta dorsal hasta la base de la región ventral y a través del peso en g (Pcacha) de cada uno de ellos, (en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), Unellez Cojedes).

Estos individuos fueron medidos con una cinta métrica convencional y su peso determinado con una balanza semi-analítica marca Denver Instrument, modelo XL-6100 y precisión de 0,01; figura 22. Luego fueron introducidos en cavas convencionales con hielo en cubitos. Posteriormente, se trasladaron hasta el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), del Vice-Rectorado de Infraestructura y Procesos Industriales (UNELLEZ – Cojedes), en la ciudad de San Carlos, Cojedes – Venezuela.



Figura 22. Balanza digital marca Denver Instrument, modelo XL-6100

Fuente: Luque (2022)

Una vez en el LITA se colocaron en cavas de refrigeración (semi-industriales) con las siguientes condiciones: temperatura entre $0 - 5 \pm 0,5$ °C, humedad relativa 85–90% y velocidad del aire de recirculación 1–2 m/s. Luego, se procedió a la obtención de la pulpa de las cachamas y la elaboración de las unidades experimentales o producto terminado (embutido genérico) respectivamente; siendo ejecutado en dos etapas, como se especifica a continuación:

Las cachamas frescas con un peso relativamente uniforme de aproximadamente 500 +/- 50 g, fueron sacadas de las cavas de refrigeración al cabo de 6 hora post-captura aproximadamente y se sometieron a un lavado preliminar con agua potable mezclada con hielo en proporción 3:1 para alcanzar una temperatura cercana a su punto de congelación. Para la obtención de la pulpa se usó el esquema tecnológico mostrado en la figura 23.

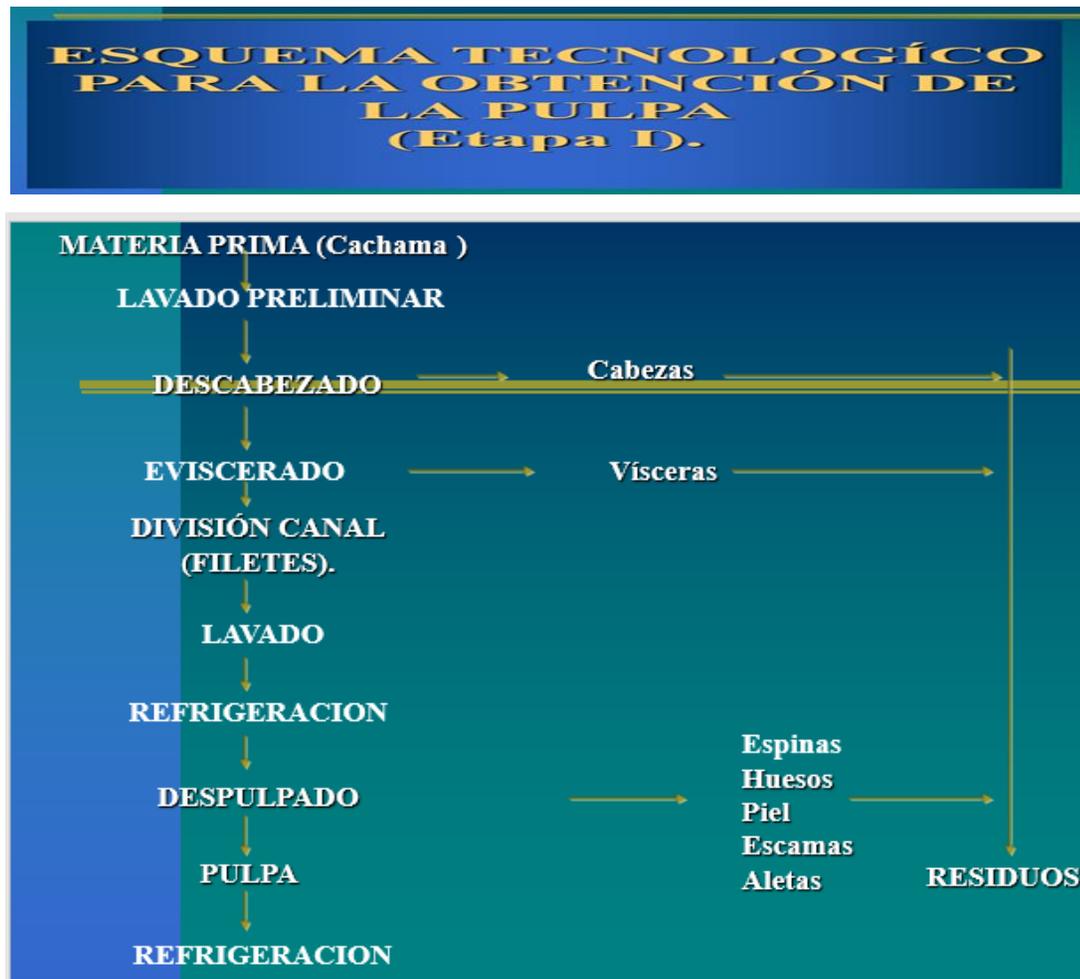


Figura 23. Esquema tecnológico para la obtención de la pulpa de cachama

Fuente: Luque (2022)

A continuación, se describen cada una de las etapas practicadas:

3.12.1.1. Descabezado

Consistió en la separación de la cabeza del resto del cuerpo con un cuchillo convencional a nivel del opérculo.

3.12.1.2. Evisceración

Corte con cuchillo convencional, a nivel de la región ventral, desde el disco óseo de las agallas hasta el ano. Se tuvo la precaución de no romper el tracto digestivo, ni la

vesícula biliar; ya que el contenido de estos puede contribuir a la alteración microbiológica de la pulpa y/o a desmejorar sus propiedades organolépticas, puede provocar mal sabor, (amargo); en la pulpa obtenida.

3.12.1.3. Fileteado

División la canal en dos medias canales. Se tuvo la precaución de sacar los filetes justo diseccionando la espina dorsal con el fin de mantener una relativa uniformidad en ambos filetes, condición importante para la separación mecánica de la pulpa.

3.12.1.4. Lavado

Se usó agua potable mezclada con hielo en proporción 3:1, a temperatura cercana al punto de congelación de la pulpa (-1,5°C); para eliminar restos de sangre e impurezas.

3.12.1.5. Enfriamiento de los filetes

Luego, los filetes se introdujeron en cavas de refrigeración con hielo en recipientes de polietileno para estabilizar la temperatura cercana o por debajo a 0°C, por un tiempo aproximado de 6 horas. Esto con el fin de evitar la desnaturalización de las proteínas de la pulpa, al momento del despulpado como consecuencia de la fricción generada al extraerla con el equipo de despulpado mecánico.

3.12.1.6. Despulpado (separación mecánica de la pulpa)

Posteriormente, se procedió a la separación mecánica de la pulpa de los filetes utilizando una separadora mecánica de tecnología japonesa, marca YANAGIYA, modelo SY-100S (figura 24); obtenida la pulpa se mantuvo bajo condiciones de temperatura inmediatamente inferior al punto de congelación de la misma (-2°C, +2°C), durante 14 horas aproximadamente.



Figura 24. Despulpadora mecànica, marca Yanagiya. Tecnologia japonesa

Fuente: Luque (2022)

En Venezuela es necesaria la introducción de tecnologías aplicadas en otros países no sólo para el mejor aprovechamiento de la pulpa (carne) de pescado, sino para comenzar a consumir este alimento en forma diferente al fresco, salado y en conserva; que son las maneras de comercializar y aprovechar el pescado en Venezuela. De esta manera se estimularía el consumo de este recurso como fuente alternativa de proteínas.

Sin embargo, la introducción de una nueva tecnología y de una especie poco estudiada a nivel del procesamiento de su pulpa requiere la recopilación de una gama de información básica que garantice la obtención de un producto de buena calidad, especialmente si se utiliza como materia prima al pescado que tiene características que lo hacen altamente perecedero. Además, las espinas incrustadas en su pulpa le confieren un factor de rechazo.

Indudablemente mucho podría hacerse para mejorar la utilización del pescado mediante el empleo de los métodos convencionales, los principales avances van unidos sin embargo al uso de nuevas tecnologías; Gil y Bello (1986).

Con el objeto de aumentar al máximo el proceso de picado y de recuperación de tejidos, se han diseñado máquinas que son capaces de desprender todos los tejidos blandos de la piel, espinas y de los huesos. Con equipos similares como el mostrado en la figura 24, es posible teóricamente extraer casi todo el tejido muscular de cualquier especie de pescado.

El fundamento básico por el que estos equipos resultan tan eficaces es comparativamente simple. Cuando la banda de goma (poliuretano) o parte de ella comprime al producto (filetes) sobre una placa o rodillo perforado el tejido blando (pulpa) pasará a través de dichas perforaciones en forma de carne picada, mientras que la piel y las partes óseas se quedan atrás. A menudo a estas máquinas se les denomina deshuesadoras. Connell (1987).

La pulpa obtenida para la fabricación del embutido genérico se hizo tomando como referencia lo estipulado en la Norma Venezolana Covenin 3086:1994, Pulpa de pescado (Requisitos). De acuerdo a dicha norma, el pescado (cachamas) debe ser descabezado y eviscerado manualmente o usando máquinas diseñadas para tal fin.

Luego de eviscerado se debe lavar bien, por inmersión o por ducha. Limpio, se debe realizar una separación de la pulpa manual o mecánicamente. Cuando el proceso lo requiera se pueden incorporar aditivos con funciones estabilizantes, texturizantes y mejoradoras de las propiedades organolépticas, tales como: crioprotectores (polifosfatos de sodio, sacarosa, sorbitol), especias, condimentos y aditivos; y mejoradores de textura (almidones).

3.13. Deshuesado mecánico

Con el objeto de aumentar al máximo el proceso de picado y de recuperación de tejidos, se han diseñado máquinas que son capaces de desprender todos los tejidos blandos de la piel y de los huesos. Equipos como el mostrado a continuación (véase figura 25), es posible teóricamente extraer casi todo el tejido muscular de cualquier especie de pescado, Connell, J.J. y Hardy, R. 1987 et al., (1987).

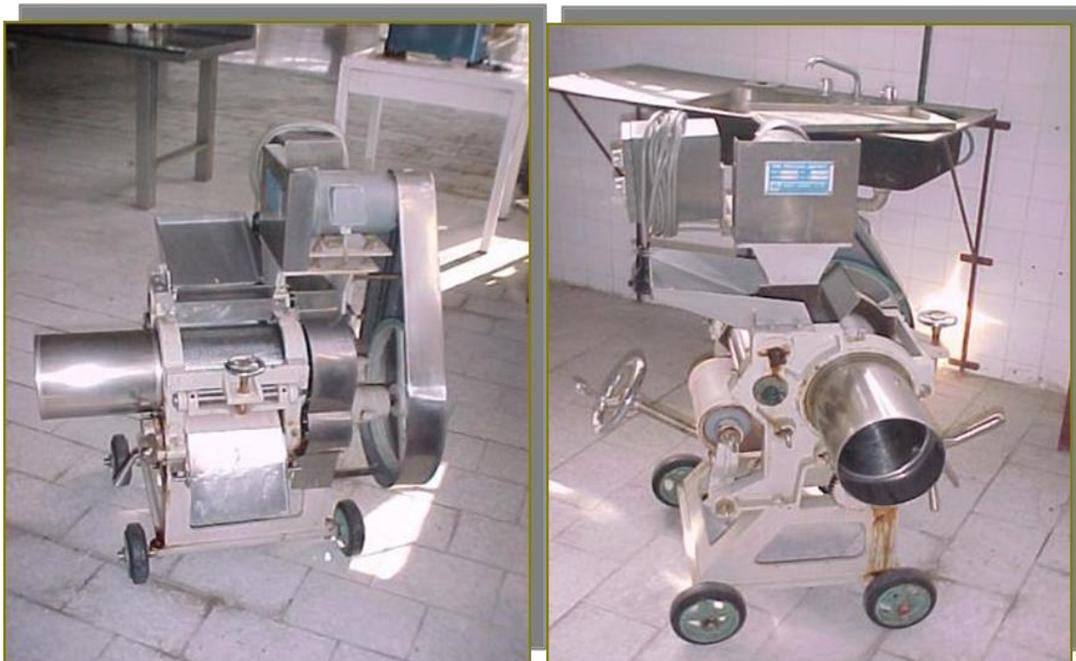


Figura 25. Separadora mecánica, capacidad 100 kg/h. Modelo: SY-100

Fuente: Luque (2022)

3.13.1. Rendimiento y composición de la pulpa

Según Suzuki (1987), la porción comestible del pescado varía con la forma, la edad y si la captura se ha efectuado antes o después del desove; pero a grandes rasgos se encuentra entre 45-50% de su peso total. En pescados donde la cabeza o la zona ventral están muy desarrollados (peces planos), la porción comestible oscila entre el 35-40%. La composición del músculo de pescado es la siguiente: proteína: 15–24%; lípidos: 0,1–22%; carbohidratos: 1–3%; sustancias inorgánicas: 0,8–2% y agua: 66– 84%.

3.13.2. Aspectos generales del deshuesado mecánico

A pesar que se ha demostrado que el deshuesado mecánico hace posible aumentar el rendimiento de la carne recuperada y reducir el costo de procesamiento en relación a los métodos convencionales para poder elaborar alimentos aceptables para consumo humano, es indispensable que se conozca las condiciones que permiten alcanzar,

mantener y controlar las propiedades de buena calidad de la carne deshuesada de pescado (pulpa); Gil y Bello, (1986).

La explicación sobre este aspecto la dio Martín (1976), citado por Gil y Bello (1986), el cual indicó que la carne, (pulpa) obtenida por este proceso de deshuesado está libre de espinas, piel, huesos, etc., y posee una estructura fibrosa con una calidad en muchos casos superior a la obtenida por otros procesos de molienda y puede ser usada para la elaboración de una variedad de productos de diversas formas, (véase figura 26).



Figura 26. Pulpa de cachama obtenida en proceso de despulpado mecánico

Fuente: Luque (2022)

Así mismo, Carver y King (1971), indicaron que la carne obtenida por la acción de las máquinas deshuesadoras presenta una textura suave y el tamaño de sus partículas dependerá del diámetro de las perforaciones del tambor, las cuales oscilan entre 3–7 mm.

La Universidad “Ezequiel Zamora” (UNELLEZ), con sede en San Carlos estado Cojedes interesada en contribuir en el desarrollo del procesamiento de especies de aguas continentales en el área de influencia de nuestra institución ha estado realizando

ensayos e investigaciones sobre pulpa de cachama obteniendo productos como Jamón cocido, Jamón endiabado (enlatados) y Embutidos. La pulpa de cachama puede ser una alternativa para la comercialización de la cachama, ya que a partir de ésta se pueden elaborar una serie de productos; Gil y Bello, (1986).

A tal efecto, Gutiérrez y Bello (1990), utilizaron pulpa de cachama en la elaboración y evaluación de productos empanizados con buenos resultados, igualmente Villapol y Bello (1990), elaboraron y evaluaron carne de hamburguesas a partir de pulpa de cachama con resultados satisfactorios. Por otra parte, Ortiz y Bello (1990) realizaron estudios de la estabilidad de los ácidos grasos de cachama ampliando así el área de estudio de componentes vinculados con la pulpa de cachama.

En Venezuela casi toda la producción de origen piscícola continental es consumida a nivel local en forma fresca, en salazón; y la transformación de ésta en otros productos de valor agregado permite incentivar a los cultivadores para una mayor producción e ingreso por la actividad de cultivo de manera intensiva. Cuando la comercialización del pescado en forma fresca se dificulta; ya sea por su aspecto exterior o características sensoriales y la cantidad producida lo permita, se puede procesar la carne en productos no convencionales; por ejemplo, productos a base de pulpa; Kodaira, (1995).

Existen factores en la decisión del rechazo de la especie por el consumidor, la apariencia externa de la cachama con su coloración dorsal oscura, casi negra en la piel y a la presencia de abundante cantidad de espinas y escamas. Esto se minimiza usando el deshuesado mecánico, dando excelentes resultados en países tales como Japón, EEUU y algunos de Europa.

En el caso de la cachama, los productos a base de pulpa son muy ventajosos, porque se pueden acondicionar según las características deseadas del producto final tales como: lavar la pulpa para dar textura y color deseado; incorporar diferentes aditivos para mejorar las propiedades organolépticas, así como para dar estabilidad. En este

sentido en el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias (UCV), se han realizado investigaciones sobre la factibilidad de utilización de pulpa de cachama (Chiquin, 1991; Mieres, 1991).

Igualmente se logró sustituir la carne de res, cerdo o pollo con pulpa de cachama en la elaboración de hamburguesas. La incorporación de especias y condimentos en la formulación permitió modificar el sabor típico de la carne de cachama, aumentando la aceptabilidad. En productos emulsificados, como las salchichas, mortadelas; formulada con la pulpa de cachama, sin aditivos; resultaron igualmente de excelente aceptabilidad (94%) al nivel del público consumidor; Laurencó (1993).

Desde el punto de vista nutricional estos productos mostraron un alto contenido de proteínas y bajos en grasas. A pesar de las ventajas que presenta la pulpa de cachama para la elaboración de una gran variedad de productos es importante considerar que se requiere de una gran cantidad de materia prima para que sea rentable, rendimiento inferior al 40%; Kodaira (1995). Sin embargo, el material restante (60% residuos) pueden ser aprovechados para elaborar ensilados biológicos o químicos, que sirven como pre-mezcla para elaborar alimentos balanceados para la cría intensiva de peces o para otros animales criados en cautiverio.

3.14. Aspectos generales para la elaboración del embutido genérico

Los embutidos genéricos se elaboraron en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA) de la Universidad “Ezequiel Zamora” (UNELLEZ-VIPI), San Carlos-Cojedes.

Wirth, (1992), establece que los embutidos escaldados son productos que han sufrido un tratamiento térmico a través del escaldado, cocido, asado u otra manera en las cuales la carne cruda picada ha sido desintegrada total o parcialmente a la que se le añade sal común (también en forma de otras sales necesarias para el procesado con la cúter; por lo general se adiciona agua potable en forma de hielo). La proteína muscular

de esta carne se aglutina en mayor o menor medida por el tratamiento térmico de tal manera que un posterior posible calentamiento presenta firmeza al corte. La calidad de los embutidos escaldados depende principalmente de la capacidad y estabilidad de la proteína cárnica para fijar el agua y la grasa.

Para preparar las emulsiones cárnicas de los embutidos cocidos como las salchichas o bologna, los fabricantes colocan juntamente en el plato (“bowl”) de la cortadora “cúttter”; (véase figura 27); las carnes magras congeladas, el hielo o el agua, la sal, las especias y los agentes del curado; (normalmente nitrato sódico, nitrito sódico e isoascorbato sódico); mezclando los ingredientes y aditivos, dejando funcionar la cortadora-mezcladora 1–3 minutos; a continuación, se añaden la grasa, se prosigue la división hasta que la emulsión se estabiliza y alcanza la textura deseada, con la precaución de no exceder la temperatura de operación de 12-15 °C; Price y Schweigert (1976).





Figura 27. Cùtter o cortadora. Efecto de cortado/mezclado/emulsificado

Fuente: Luque (2022)

Según Norma Covenin (1088:76), los embutidos son aquellos productos cárnicos elaborados a partir de carnes autorizadas para consumo humano, sometidas o no a procesos de curación, adicionadas o no de despojos comestibles y grasa de cerdo, productos vegetales, leche en polvo completa, semidescremada, descremada o productos lácteos tales como caseinato de sodio, suero de leche en polvo u otros productos autorizados por la autoridad competente; condimentos y especias; introducidas en tripas naturales o artificiales aprobadas por el organismo competente y la carne es la parte comestible, sana y limpia de la musculatura esquelética de bovinos, ovinos, porcinos y caprinos u otros animales de consumo autorizado por el organismo competente.

Por extensión, se designa también como carne, la de las especies de consumo autorizado por el organismo competente tales como animales de corral, caza, pescados, crustáceos y moluscos.

El Código Alimentario Español (1992), define a los embutidos escaldados como los preparados con carne finamente picada, sometidos durante un tiempo variable a la acción del agua caliente de 70 a 80 grados centígrados, ahumados o no posteriormente. En forma genérica por su elaboración los embutidos se clasifican en: frescos, curados, escaldados, (a ésta última clasificación pertenece la unidad de análisis del presente trabajo de investigación).

3.15. Aditivos

Es toda sustancia que puede ser añadida intencionalmente a los alimentos y bebidas, sin el propósito de cambiar su valor nutritivo a fin de modificar sus caracteres, técnicas de elaboración o conservación y/o para mejorar su adaptación al uso que son destinados; Código Alimentario Español (1992).

También se define como aditivo alimentario a toda sustancia no consumida normalmente como alimento por sí misma y no empleada como ingrediente principal, tenga o no valor nutritivo, de cuya adición al alimento, resulte o pueda esperarse que directa o indirectamente, ella o sus subproductos se convierten en un componente de tal alimento o afecte sus características. El término no comprende los contaminantes o residuos de plaguicidas; García Roché (1991).



Figura 28. Aditivos usados

Fuente: Luque (2022)

3.15.1. Aceite vegetal

Los aceites vegetales se utilizan como complemento de las grasas animales. Teniendo en cuenta su textura líquida, son fáciles de emulsificar, Durand (2002). Entendiendo, que una emulsión es un sistema que comprende dos fases líquidas inmiscibles, normalmente una fase acuosa y una fase grasa. En el ámbito de los embutidos, aunque se habla de emulsión en el caso de los productos finamente picados, puede tratarse de una dispersión de partículas sólidas en una fase líquida. Sin embargo, se pueden asimilar estos productos a emulsiones auténticas del tipo aceite (fase dispersa) en agua, (fase continua), dado que generalmente su elaboración sigue las reglas que se aplican a las emulsiones.

3.15.2. Sal común (Na Cl)

La sal común (Cloruro de sodio) es la única sustancia que disuelta en agua provoca un sabor salado puro sobre la lengua. Los embutidos escaldados en general poseen entre 1,6 a 2,2% de sal común. Los embutidos escaldados con un contenido de sal inferior a 1,5% o superior a 2,2% son considerados como deficientes en sal o muy salados, respectivamente. Teniendo en cuenta el hecho de que el sodio contribuye a provocar complicaciones en la hipertensión y que una gran proporción de la población se alimenta con una dieta demasiado rica en sodio, parece indicado no ofertar al mercado embutidos escaldados con altas cantidades de sal, más bien la tendencia debería orientarse a una disminución en la dosificación de la misma; (Wirth, 1992).

3.15.3. Azúcar (Sacarosa)

Se utiliza para suavizar el sabor causado por las sales. Además, el azúcar tiene influencia sobre la coloración final de algunos productos; Gerhardt (1980). Aun cuando está muy difundida la creencia de que el azúcar incorporado sirve sobre todo para mejorar el sabor, conviene aclarar que esto sólo es cierto de una manera indirecta. Los hidratos de carbono sirven también como donantes de energía para los microorganismos presentes en la masa del embutido crudo, los cuales desdoblan a dichos azúcares hasta el escalafón de ácidos. Ciertamente, la incorporación de azúcar

debe regirse por la naturaleza de la materia prima elegida, capacidad buffer de los diversos materiales crudos como son la carne, la grasa, etc; Frey (1995).

3.15.4. Harina de trigo

Es un producto con baja cantidad de proteínas y altos contenido de almidón, que no poseen capacidad emulsionante, pero si ayudan a la capacidad de retención de agua (C.R.A.) y a la ligazón; Price y Schweigert (1976).

3.15.5. Especias, condimentos y aditivos (ajo molido, pimienta blanca molida)

La palabra “especias” deriva del latín “species” y ya se denominaban así por los romanos. Las especias, además de su papel en los preparados cárnicos de estimular el sabor de las preparaciones activan la digestión; usadas en dosis convenientes, pero también poseen propiedades antisépticas. Otras son capaces de alejar insectos, y finalmente un cierto número de ellas son antioxidantes. Amo (1986).

La norma francesa Afnor V00-001, citada por Durand (2002); definió las especias como “productos vegetales naturales o mezclados con ellos, exentos de materias extrañas, utilizadas para dar sabor, aroma y para condimentar los alimentos”, su utilización es extremadamente antigua, las tradiciones perduran y algunas de ellas están indisolublemente a las denominaciones de consumo.

3.15.6. Nitratos y nitritos (Sal de cura)

Según García O (1991), en el cuadro de las carnes, el nitrato y el nitrito se emplean como aditivos de uso alimentario multifuncional, pues actúan como agentes antimicrobianos y obran sobre las propiedades organolépticas. La propiedad antimicrobiana más importante del nitrito es su acción anticlostridial, particularmente contra el *Clostridium, botulinum*. Las influencias del nitrito sobre las propiedades organolépticas de la carne son bien conocidas. Los mecanismos de la reacción del color se explican por una combinación del óxido nitroso (generado por reacción

química de los nitritos) con los pigmentos de la célula muscular (mioglobina) y el pigmento de la sangre (hemoglobina).

La influencia del nitrito sobre el sabor y aroma de los productos cárnicos curados pueden estar relacionados, sino directamente, si indirectamente con la acción antioxidante de este aditivo. Se ha demostrado que el nitrito retarda la oxidación de los lípidos y por lo tanto, la producción de aromas indeseables. El nitrato es totalmente innecesario en la tecnología de los embutidos escaldados. Aunque es mucho lo aprendido en los últimos 15 años sobre la química del nitrito como agente curante, pero aún no se ha encontrado otra alternativa válida científicamente. Cassens (1995).

García R (1991) expresa, la cantidad mínima de nitrito necesaria para la formación de color de curado en la carne y productos cárnicos y por tanto en embutidos escaldados es de 30 a 50 (mg/kg). Además, las especies que provocan intoxicación alimentaria como el *Clostridium*, *botulinum*, *Salmonellas* y *Estafilococos*; son frenados en su desarrollo por concentraciones de nitrito de 80 a 150 mg/kg.

3.15.7. Polifosfatos/fosfatos, (P₂O₅)

Si en la masa se encuentra además del agua como disolvente, la sal común y simultáneamente las polifosfatos, entonces se eleva notablemente la imbibición de agua por parte de las proteínas miofibrilares porque las mismas son divididas en actina y miosina, separación de los miofilamentos Wirth (1992).

La capacidad de retención de agua (CRA) se define como la capacidad de la carne de retener “su” agua durante la aplicación de fuerzas exteriores, tales como cortes, calentamiento, trituración y prensado; Forrest et al., (1979). Entre los factores más importantes que afectan la CRA se encuentran: el pH, la concentración de sales, presencia de fosfatos y el estado biológico de las proteínas. Weinling (1973).

3.15.8. Eritorbatos

Se usan como agentes reductores. Son sustancias coadyuvantes del enrojecimiento en el desarrollo y estabilización del color del embutido escaldado; Wirth (1992).

3.15.9. Sangre de cerdo completa (SCC)

Wirth, (1992), establece que en la formación del color rojo del curado el pigmento muscular mioglobina reacciona con el óxido nítrico (NO), el cual se forma a partir del nitrito en medio ácido. El pigmento de la sangre, el cual se ha de encontrar también en pequeñas concentraciones en la materia prima para embutidos escaldados, permanece en la carne, musculatura y eventualmente en el plasma sanguíneo. El compuesto óxido nítrico mioglobina/hemoglobina, que es el “rojo del curado” es relativamente estable a la luz, al oxígeno y sobre todo estable al calor. Un producto cárnico curado o tratado por calor, como los embutidos escaldados poseen color rojo, mientras que un producto elaborado sin sustancias de curado, es decir se añade sólo sal común presenta un color blanco grisáceo (productos blancos). Para corregir este defecto se debe usar sangre de cerdo completa para generar un color parecido a los embutidos a base de carnes rojas.

La sangre, a veces desechada, ofrece una utilización como complemento o sustitución parcial de la proteína cárnica. La sangre entera, en especial la de cerdo, se ha usado tradicionalmente como materia prima esencial en la elaboración de algunos tipos de embutidos y otros. La sangre a emplear debe ser fresca, para evitar alteraciones de aroma en el producto terminado; debe haber sido obtenida bajo estrictas normas de higiene, por ser un producto muy perecible y favorable para el desarrollo de microorganismos putrefactivos. Para el uso de sangre fresca es necesario inhibir el fenómeno natural de la coagulación, en forma mecánica por batido o agitación o químicamente mediante uso de aditivos: polifosfatos o citrato trisódico. La sangre entera se puede usar para mejorar la coloración de algunos productos cárnicos; Amo (1986).

Durand (2002) expresa que la sangre es un subproducto que sirve para la elaboración de morcillas. Sólo se utiliza la sangre de los animales de carnicería y más particularmente la de cerdo.

3.16. Etapa II. Elaboración del embutido genérico



Figura 29. Esquema tecnológico para la elaboración del embutido genérico

Fuente: Luque (2022)

3.16.1. Pesaje de los ingredientes y aditivos

Se procedió al pesaje de los ingredientes y aditivos de acuerdo a los cálculos correspondientes, en función de la fórmula diseñada y pre-establecida. El pesaje se realizó en las balanzas que se muestran a continuación, en la figura 30.



Figura 30. Balanzas

Fuente: Luque (2022)

3.16.2. Cortado, mezclado y emulsificado.

Sometida la matriz de trabajo a este procedimiento, se establece la etapa del embutido

3.16.3. Embutido

La pasta o emulsión cárnica lograda se procedió a la etapa del embutido en tripas manufacturadas conocidas como “cero mermas”, dando forma al embutido. Esta se efectuó en una embutidora tipo pistón como la mostrada en la figura 31.



Figura 31. Embutidora tipo pistón, capacidad 18kg

Fuente: Luque (2022)

3.16.4. Plan de cocinado

El plan de cocinado se efectuó en un tanque de acero inoxidable de doble camisa con inyección de vapor. Se sometió el embutido a una temperatura inicial de 50°C por 45 minutos para lograr un asentamiento proteico. Posteriormente, se incrementó la temperatura hasta 85°C por 2,5 horas, hasta alcanzar 72°C en el punto frío del embutido



Figura 32. Tanque de acero inoxidable de doble camisa, con inyección de vapor
Fuente: Luque (2022)

En la siguiente figura 33, se muestra la imagen del producto terminado obtenido.



Figura 33. Producto terminado obtenido. (Embutido genérico)
Fuente: Luque (2022)

3.17. Aprovechamiento de los residuos del proceso de despulpado mecánico de la cachama

La producción de ensilado, por fermentación (biológico) o por adición de ácidos (químicos) no se considera de desarrollo reciente, data desde 1.920 cuando A.I. Virtanen inició el uso de mezclas de ácido sulfúrico y ácido clorhídrico para preservar forrajes. Este método fue adoptado por Edin (1.930), para preservar pescado fresco remanente de las capturas.

El ensilado químico (ácido) a partir de pescado ha sido producido comercialmente desde hace 40 años en Dinamarca, donde la producción anual de los últimos años ha sido de 60.000 toneladas. En Noruega, el ensilado es producido comercialmente con pescado y otros sub-productos frescos de la industria pesquera.

Por todas las razones antes expuestas, hay un creciente interés en el proceso de ensilado tanto artesanal como industrializado en los países en vías de desarrollo, esto se debe principalmente a que el ensilado de pescado (residuos), es una manera más efectiva de utilizarlos donde la producción de harina es inapropiada e ineficaz.

En Venezuela se acostumbra a consumir el pescado de manera fresca o en salazón, pero muy estacionalmente (Semana santa), dado las costumbres religiosas de algunos miembros de la sociedad. Sin embargo, desde hace aproximadamente tres décadas, se ha venido trabajando principalmente en universidades nacionales e instituciones públicas, con la adaptación de tecnologías foráneas para lograr implantar sistemas que son de gran beneficio. Un problema específico para el consumo fresco directo de la mayoría de los pescados provenientes de aguas continentales, es que dentro de su estructura corporal y en algunos casos se hallan espinas dentro de la carne (pulpa), y esto trae como consecuencia un rechazo para su consumo.

Para evitar éste problema, hoy día existen máquinas despulpadoras de pescado, que permiten separar eficientemente su pulpa, libre de espinas, piel, huesos, escamas, entre otros. Pero adicionalmente, se genera otro problema: dependiendo del tipo de pescado

a despulpar se obtienen un porcentaje relativamente alto de residuos, que en muchos casos supera el porcentaje de pulpa obtenida.

Así, de acuerdo a las experiencias obtenidas por el autor en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), del Vice-rectorado de Infraestructura y Procesos Industriales; los pescados planos (cachamas), generan un rendimiento en pulpa registrado entre 35-40% y la diferencia se traduce en residuos que en la mayoría de las veces van a parar al medio ambiente, sin ningún tratamiento o aprovechamiento, con las consecuencias negativas, que esto provoca. Lo mismo ocurre cuando se despulpan pescados fusiformes como por ejemplo el “Bagre rayado” (*Pseudoplatystoma, fasciatum*), dando un rendimiento en pulpa de 60% y 40% son residuos.

Ahora bien, la producción de ensilado data desde hace casi un siglo, donde por adición de ácido o por fermentación se ha venido usando para preservar forrajes. Cuando es por fermentación se le denomina biológico valiéndose de bacterias ácido lácticas para lograr el producto terminado, y en el otro caso se denomina químico, ya que el tratamiento se basa se la adición de ácidos (orgánicos e inorgánicos) o mezclas de ellos.

Es por ello que en el presente trabajo también se desarrolla la técnica del ensilado químico, usando un ácido orgánico, (ácido fórmico); para tratar los residuos generados en el proceso de despulpado mecánico de la cachama y así obtener y conservar un producto terminado (ensilado), que sirva como pre-mezcla para elaborar alimentos concentrados para peces en cautiverio y para animales en general.

Aquí, se plantea la necesidad de concientizar a los involucrados en el manejo postcosecha del pescado en el sentido que existen tecnologías adecuadas para el tratamiento de los residuos generados que permiten usarlos en beneficio de la sociedad, darle un valor agregado adicional; y no que vayan a parar al medio ambiente, trayendo como consecuencia un grave impacto medio ambiental. Además se estaría dando uso a los residuos que de acuerdo a su composición tienen valor nutritivo y energético.

Este procedimiento permite obtener un producto terminado estable microbiológicamente, y no es necesario una gran gama de maquinarias–equipos, ni una gran cantidad de personal para su elaboración. Puede permanecer incluso hasta meses almacenado sin perder sus propiedades químicas y físicas intrínsecas. Los gastos de energía y mano de obra son relativamente bajos, evaluando la relación costos-beneficio. Además, se estaría dando uso a un subproducto (residuo), que tiene un valor nutritivo y energético que puede ser aprovechado en la cría intensiva de animales de la misma y otras especies. Este procedimiento permite obtener un producto terminado estable microbiológicamente, que no es necesario someterlo a ningún método alterno de conservación como por ejemplo la refrigeración y puede permanecer incluso hasta meses sin perder sus características.

Al aplicar un esquema tecnológico adecuado para la elaboración de ensilado químico obtenido y conservado con ácido fórmico usando residuos generados en el procesamiento industrial de la cachama, este se estabiliza y puede ser secado posteriormente para usarlo como pre-mezcla para la elaboración de alimentos concentrados para individuos de la misma u otras especies. Esto viene a construir un eslabón dentro del aprovechamiento integral de la especie, no contribuyendo así a la contaminación del medio ambiente.

El interés de la aplicación de esta tecnología está enfocado en lo novedoso de ella en el procesamiento de pescado, ya que hasta la fecha los trabajos en ésta área en su mayoría han sido dirigidos hacia el manejo o la aplicación en residuos de origen vegetal. Esta técnica permitirá darle valor agregado a los residuos con el fin de disminuir costos en el cultivo de peces y su posterior procesamiento que es la vía que se debe tomar en un futuro cercano.

Al mecanizar el proceso de despulpado de pescados planos como la cachama, el rendimiento obtenido en pulpa está por el orden del 35,0% al 40,0%, siendo el restante porcentaje residuos (cabezas, vísceras, piel, espinas, huesos, entre otros); y dependiendo del volumen de manejo (capacidad de operación), estos vienen a

constituirse en residuos contaminantes que pueden causar un gran impacto negativo al medio ambiente.

El uso de la tecnología existente (ensilado químico), permite procesar estos residuos para obtener y conservar con ácido fórmico los residuos para convertirlos en sub-productos que sirvan como pre-mezcla para la elaboración de un alimento de calidad nutritiva y energética para la alimentación del cultivo y cría intensiva de cachamas y otras especies acuícolas. Tal como lo reporta España (1975), la producción de ensilado, por adición de ácido o por fermentación, no es de desarrollo reciente data desde 1.920 cuando Virtanen, inició el caso de mezclas de ácido sulfúrico y ácido clorhídrico para preservar forrajes. Este método fue adaptado por Edin (1.930), para preservar pescado fresco remanente de las capturas....”. El ensilado químico ácido a partir del pescado ha sido producido comercialmente desde hace 40 años en Dinamarca, donde la producción anual de los últimos años ha sido alrededor de 60.000 toneladas.

En Noruega el ensilado es producido comercialmente con pescados infravalorados y otros productos frescos de la industria pesquera. Hoy día hay un creciente interés en el proceso de ensilado tanto artesanal como industrializado en los países en vías de desarrollo, esto se debe a que el ensilado de pescado es una manera de utilizarlo donde la producción de harina es inapropiada o resulte ineficaz. Además, el ensilado de pescado y de sus residuos preservados por ácido no se descompone, manteniendo un olor fresco después de varias semanas de almacenamiento a temperatura ambiente propia del trópico. El producto es casi estéril y los patógenos probables como la *Salmonella, spp* son controlados eficientemente, esto aunado a los requerimientos bajos de energía y el producto puede ser secado en tanques abiertos (aeróbicamente) bajo condiciones tropicales sin infestación de ningún tipo debido a los valores de ácidos generados.

Según Windsor y col, (1.984), la mejor especie de pescado produce solamente alrededor del 50% de materiales comestibles en forma de filetes o carne de pescado.

El resto, el esqueleto, la cabeza, las vísceras, entre otros) poseen un contenido en proteínas casi tan alto como el del propio filete y en cambio, no suele consumirse.

En muchos países en vías de desarrollo los residuos generados en las fábricas manufactureras de pescado son arrojados en efluentes, terrenos, etc., con la terrible consecuencia de la contaminación ambiental.

El ensilado de pescado y/o residuos puede definirse como un producto líquido elaborado a partir de la totalidad del pescado o de partes del mismo, sin adicionar otros productos (más que ácidos), en el que la licuefacción se produce por la acción de las enzimas presentes en el mismo. El producto obtenido de esta forma es un líquido estable de olor a malta, con buenas características de almacenamiento; pero que contiene todavía la totalidad del agua presentes en la materia prima original, (Barlow y col. 1.984).

Según Raa y col., (1.976), existen dos métodos para producir ensilado de pescado.

1. Por adición de ácido orgánico y/o inorgánico (ensilado con ácido), el cual baja en los residuos el pH lo suficiente para prevenir el deterioro microbiano. El ensilado de pescado comienza a licuarse debido a que la estructura de los tejidos son degradadas por las enzimas naturales presentes en el pescado.
2. Debido a fermentación bacteriana (ensilado biológico fermentado) iniciado por un cortado-mezclado o pescado fileteado en contacto con un azúcar fermentable, el cual favorece el desarrollo de bacterias ácido-lácticas.

Estas bacterias pueden estar presentes en forma natural en el pescado. También es aconsejable añadir, un cultivo iniciador. Las bacterias ácido-lácticas producen ácidos y antibióticos, el cual en conjunto destruyen las bacterias putrefactivas y patógenas de competencia. El azúcar contribuye al efecto de preservación durante las etapas iniciales de la fermentación, conteniendo las bacterias que producen las enzimas el cual liberan amoniaco (NH_3^+) a partir de algunos aminoácidos de las proteínas.

Durante el ensilado con vísceras en presencia de 3% (v/p) de ácido fórmico, las enzimas principalmente responsables para la licuefacción son aquellas presentes en los intestinos, piel y otras partes del pescado; y todo lo demás marginalmente implicados, (Backhoff, 1.976).

Según Hall y col. (1.986), el destino de los lípidos en ensilado de pescados ha recibido menor atención que las proteínas, en contraposición con los cambios que pueden sufrir los lípidos desmejorando el valor nutricional y las posibles consecuencias organolépticas. Por ejemplo, los productos de la oxidación de los lípidos han sido implicados en el pobre desempeño de las dietas de pollos a base de ensilado, incorporando pescado tropical, (Kompang y col., 1.980).

Según Gildberg y col., (1979), las proteínas de vísceras poseen una composición en aminoácidos el cual se asemeja a las del músculo de la misma especie. Un ensilado completamente preservado de vísceras desmenuzadas es obtenido por adición de 0,75% (v/p) de ácido propiónico y 0,75% (v/p) de ácido fórmico. Después de varios días de autólisis a 27°C, el ensilado puede ser separado en tres fases: 1) Fase gaseosa; 2) Fase acuosa soluble y 3) Fase de sedimentos. La fase acuosa, la cual contiene mayor cantidad de proteínas y mucho menor de grasas, es utilizada para alimentación animal.

El principio de preservación de ensilado de pescado por ácido fue estudiado por primera vez por Edin (1.940). La producción de ensilado de pescado en escala comercial comenzó en Dinamarca hace cuarenta años donde aún la industria permanece.

Tatterson y Windsor, citados por Gildberg y col., (1.979), ha revisado la literatura de producción de ensilado de pescado y/o sus residuos. Muchos artículos tratan sobre ensilado producidos con adición de ácido sulfúrico o ácido fórmico. Estos ensilados resisten el deterioro microbiano y pueden ser suministrados a los animales en pequeñas proporciones junto con otras materias. El ensilado debe ser neutralizado primero cuando se usa ácido sulfúrico. Esto no es necesario cuando el ensilado se produce con

ácido fórmico, si se usa en proporciones moderadas. Los ensilados con ácido fórmico tienen una ventaja adicional que se licuan, tal que los lípidos pueden ser separados de las proteínas fácilmente.



Figura 34. Cachama híbrido, (*Colossoma x Piaractus*)
Fuente: Luque (2022)

El progreso del cultivo intensivo de la cachama (*Colossoma macropomun*) como especie autóctona nativa de Latinoamérica, ha sido indiscutible a nivel nacional en los últimos 30 años, (Solá 1.984).

A pesar de todo, la década de los noventa se orientó hacia la consolidación definitiva del cultivo de la cachama debido al experimentado manejo de la reproducción en cautiverio, el perfeccionamiento de los concentrados aptos para su alimentación en agua antes ociosas por parte de sus dueños y a la dificultad de obtener insumos baratos (Hurtado,1.996).

Indudablemente que el interés del presente trabajo radica en la obtención de la pulpa de la cachama, sin embargo se centró el esfuerzo en evaluar los residuos generados en la etapa de despulpado mecánico, su repercusión como impacto ambiental debido a un mal manejo y su tratamiento adecuado para obtener un sub-producto que sirva de base

o materia prima para la elaboración de alimentos concentrados para la alimentación de cachamas cultivadas de manera intensiva y también para otras especies. Los residuos generados en la etapa de despulpado pueden ser considerados como elementos húmedos con un bajo contenido de grasa, destinados al proceso de elaboración de ensilado con una gran expectativa de aceptación.

El ensilado de pescado y sus residuos pueden obtenerse por dos vías diferentes, a saber: mediante fermentación (microorganismos) o a través de conservación con ácidos orgánicos e inorgánicos; o mezclas de ellos. Para ello se usan pescados infravalorados o residuos del fileteado, despulpado mecánico. Por vía ensilado químico se logra mediante la acción de las enzimas propias de las vísceras, restos de pulpa; que actúan tras la acidificación del medio con ácidos orgánicos e inorgánicos. El tratamiento con ácido permite detener el crecimiento microbiano y favorece la degradación de la materia orgánica mediante las enzimas propias, generando un producto líquido gris, viscoso; que puede ser usado para la alimentación animal directo o en su defecto como pre-mezcla en formulaciones para elaboración de alimentos concentrados de uso animal.

El aprovechamiento de sub-productos para la alimentación animal posee un gran interés futuro, cuyo objetivo básico es convertir los mismos en alimentos mediante el uso de tecnologías ya conocidas, con el fin de producir materia rica en proteínas y vitaminas. Este proceso de transformación de residuos presenta la ventaja que es muy sencillo y el uso de maquinaria, como también la energía demandada, el tiempo de obtención del producto terminado y la mano de obra, son relativamente bajos.

3.18. Ensilado de pescados preservados en medio ácido

El ensilado de pescado y/o residuos puede definirse como un: producto líquido elaborado a partir de la totalidad del pescado o de partes del mismo, sin adicionar otros productos (más que ácidos), en el que la licuefacción se produce por la acción de las enzimas presentes en el mismo. El producto obtenido de esta forma es un líquido estable de olor a malta, con buenas características de almacenamiento; pero que

contiene todavía la totalidad del agua presentes en la materia prima original (Barlow y col. 1.984).

3.19. Bioquímica del ensilado de pescado preservado con ácido

Para preservar forrajes con mezclas de ácido clorhídrico y ácido sulfúrico, como fue recomendado por A.I. Virtanen en el año 1.920, es normalmente suficiente para bajar el pH alrededor de 4.0. Para preservar pescados o mezclas de ellos por los mismos ácidos, como quiera que sea, de cualquier modo el pH ha de bajarse a valores menores de 4.5.

La preservación de forraje a pH 4.0 por adición de ácidos inorgánicos no se debe enteramente a lo bajo del pH. Los azúcares presentes en el forraje contribuyen a la preservación por el represamiento de la producción de enzimas degradadoras el cual sobreviven a pH 4.0, de este modo se previene un incremento en el pH. Además, los azúcares, favorecen el desarrollo de bacterias tolerantes del ácido láctico, las cuales producen suficiente ácido para mantener el bajo pH. Tales mecanismos preservativos no son eficientes en pescado acidificado debido a que los tejidos de pescado contienen muy bajos niveles de azúcares libres. Como también, el pescado tiene una alta capacidad amortiguadora comparada con el forraje, debido a los altos niveles de proteínas y minerales, y es por ello que se requiere una mayor cantidad de ácido para producir un ensilado estable de pescado (Raa y col., 1.979).

3.20. Acción enzimática

Las enzimas son proteínas con actividad catalítica. Para cada enzima existe un valor o mejor dicho un rango óptimo de pH; conocido como pH óptimo, en el que su acción catalítica es máxima. Por otro lado, los cambios drásticos de pH pueden dar lugar a la inactivación de las enzimas al ocasionar una desnaturalización (cambio de conformación) irreversible. Algunas enzimas intestinales tienen pH óptimo extremos (Pepsina: pH 1,5 – 2,5; Tripsina: pH 8-11). También la estabilidad de las enzimas es función de la concentración de iones hidrogeniones y no siempre el pH óptimo; pero la estabilidad coincide con el pH óptimo.

La influencia de la temperatura sobre la actividad de las enzimas es la misma que sobre cualquier otra reacción química. Una elevación de la temperatura de 10°C hace aumentar de dos a cuatro veces la velocidad de la reacción (Regla RGT de Van't Hoff). Esta aceleración, de todos modos, se da dentro de ciertos límites ya que muchas enzimas se alteran en forma irreversible a los 40-50°C (desnaturalización), y muy pocas permanecen activas por encima de 60 °C (Bruchmann, 1.980).

Se ha aislado muchas enzimas (proteasas) del tejido muscular del pescado (Reddi, 1.972; Siebert y Schmitt, 1995). Wojtowicz y Odense (1.972), han demostrado que las principales proteasas del músculo de pescado, las catepsinas, tienen niveles de actividad similares a las del músculo del pollo. Las catepsinas musculares son enzimas hidrolíticas y la mayor parte de ellas están localizadas en los lisosomas. De gran importancia es la catepsina "D", que puede iniciar la degradación de proteínas endógenas de la célula a péptidos.

De acuerdo con McLay, (1.980), y Reddi y col (1.972), la catepsina "D" tiene actividad óptima a pH 4.0; pero es capaz de actuar en una variación de pH de 2.0 a 7.0.

Es sabido que las enzimas del tracto digestivo desempeñan un papel importante en la autólisis de pescado entero, no eviscerado. Las proteasas más importantes del tracto digestivo son las endo-peptidasas tipo tripsina localizadas en el ciego pilórico y la catepsina "D", y otras enzimas tipo pepsina localizadas en las paredes del estómago. Estas enzimas descomponen las proteínas en péptidos de gran tamaño que son degradados nuevamente por distintas exo-peptidasas.

Por otro lado, el efecto solubilizante de las proteasas sobre el tejido muscular parece tener un óptimo a pH 4.0 a 7.0, muestran que el efecto sobre la piel presenta un óptimo a pH 4.0.

Según Buchmann (1.980), las proteinasas "ácidas" contienen grupo carboxilo en su centro activo y son activas únicamente a pH inferior a 5.0. Entre ellas se tienen a la

proteínasa animal pepsina. La pepsina es una peptidasa que ataca sobre todo los enlaces peptídicos en los que intervienen aminoácidos aromáticos. La pepsina es segregada en su forma inactiva, pepsinógeno, por las glándulas de la mucosa gástrica del hombre y muchos animales. La tripsina y el tripsinógeno proceden del páncreas a valores de pH inferiores a 6.0 (óptimos 3.0). La tripsina es muy estable. Cuando el pH es superior se destruye por auto-digestión su pH óptimo de actuación se encuentra entre 7.0 y 8.0, siempre y cuando el sustrato sea una proteína.

Materiales

1. Cachama fresca.
2. Ácido fórmico al 85.0%
3. Separadora mecánica.
4. Molino.
5. Balanza semi-analítica.
6. Estufas incubadoras.
Marca: Fisher Scientific.
7. pH (metro). Marca Corving, 125.
8. Termómetros bimetalicos.

Métodos

1. Determinación de Humedad
Método: AOAC 1980, N° 7003
2. Determinación de Grasa
Método: AOAC 1980, N° 18043
3. Determinación de Proteínas
Método: AOAC, N x 6.25%

Se procedió de la siguiente manera:

3.21. Elaboración del producto, (ensilado químico)

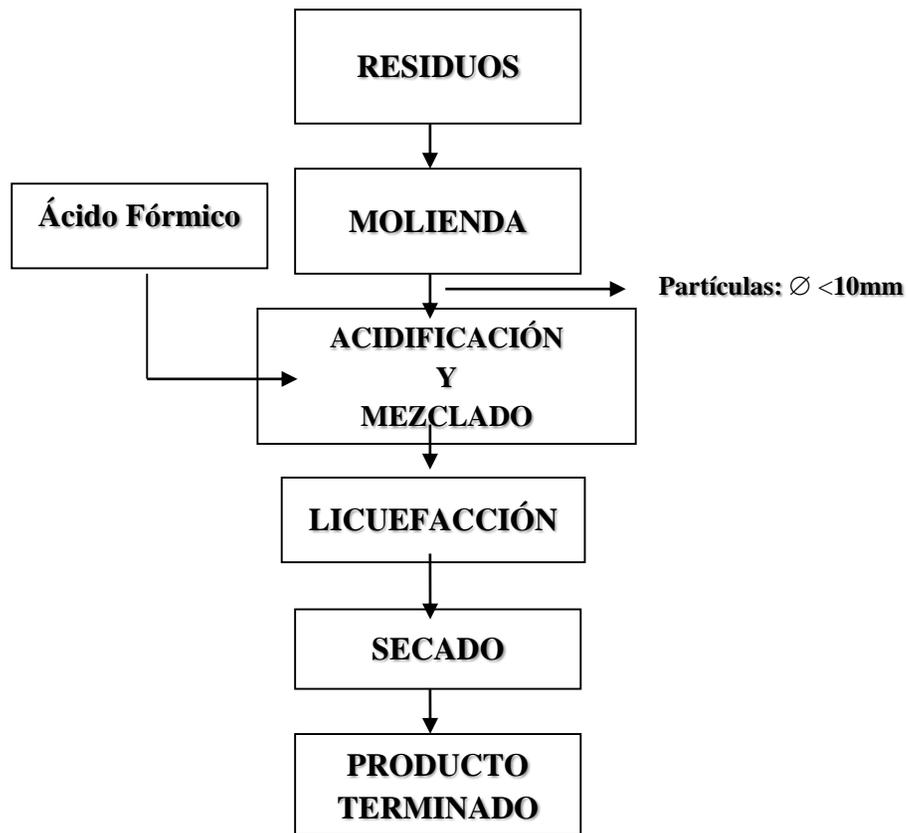


Figura 35. Esquema tecnológico. Ensilado químico de residuos de cachama híbrido, (*Colossoma x Piaractus*).

Fuente: Luque (2022)

Los diferentes residuos generados fueron recolectados en envases de polietileno y sometidos a congelación a un rango de temperatura entre $(-18^{\circ}\text{C}, -22^{\circ}\text{C}) \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 24 horas.

Se procedió a la molienda integral de los mismos en un molino marca BOIA M.D. Modelo 9322, serial 7518, potencia 1hp, (ver figura 35). Diámetro (orificio) salida de matriz 5.0- 10.0 mm. Una vez obtenida la molienda de los residuos se tomaron muestras por triplicado para proceder a la caracterización de la materia prima objeto de uso. Ver figura 35.



Figura 35. Molino marca BOIA M.D. Modelo 9322, serial 7518, potencia 1hp

Fuente: Luque (2022)

Las unidades experimentales se montaron en envases de vidrio de 500 g de capacidad, de la siguiente manera: se pesaron 300 g de los residuos molidos para cada envase para un total de 15 tratamientos. Inmediatamente se le adicionó a cada envase

el equivalente en volumen de ácido fórmico según relación volumen/peso (v/p), dependiendo de la concentración que le correspondió a cada uno; según el diseño experimental planificado. Para el pesaje se usó una balanza semi-analítica; Marca: Mettler BB3000S BasBal. Precisión $\pm 0,1g$.

En ésta etapa se mezclaron intensamente cada uno de los recipientes y se procedió a incubarlos a 27.0, 32.0 y 37.0°C, respectivamente. Se usaron las siguientes incubadoras:

- T (-1) → Incubadora Marca: INSOTEC. Modelo IN – 238B.
- T (0) → Incubadora Marca: Fisher Scientific: Isotemp Estándar. Serie 600. Modelo 650 D (Large)
- T (+1) → Incubadora Marca: Fisher Scientific: Isotemp Estándar. Serie 600. Modelo 650 D (Large)

Las mediciones de la variable respuesta (pH) se determinaron cada 6 horas con el fin de hacerle un seguimiento efectivo a la caída de la variable respuesta (pH); pero para efecto del presente trabajo se determinaron los valores de pH a las 24.0, 48.0 y 72.0 horas respectivamente. Para la determinación se usó un potenciómetro: marca Corning, modelo 125. Se tuvo la precaución de agitar y homogenizar bien cada unidad experimental antes de la medición de cada valor de pH.

3.22. Descripción del esquema tecnológico, (ver figura 2).

3.22.1. Residuos: posterior al proceso de despulpado mecánico, los residuos (cabeza, vísceras, piel, aletas, escamas, agallas, huesos y espinas), se recolectaron y se sometieron a conservación, mediante congelación (-20 °C).

3.22.2. Molienda: al término de 24 horas cuando los residuos alcanzaron una temperatura cercana a -20 °C, se sometieron a un proceso de molienda, con una matriz de salida entre 5-10 mm de diámetro. Se usó un molino marca Boia, como el que aparece en la figura 35



Figura 35. Molino para carne con diámetro de salida de 5 mm

3.22.3. Acidificación y mezclado: los residuos una vez molidos fueron tratados con ácido fórmico, en los niveles o dosis que nos indicó el diseño experimental seleccionado para ejecutar el experimento. Posteriormente, se hizo un mezclado cuya finalidad fue homogeneizar la muestra, permitiendo así que todos los residuos entraran en contacto con el ácido fórmico.

3.22.4. Licuefacción: técnicamente corresponde a la degradación de la materia orgánica (residuos), por efecto de las enzimas proteolíticas presentes en las vísceras de la materia prima utilizada, como consecuencia de los valores de pH que imperaron en el medio, por efecto de la adición del ácido fórmico. El ácido fórmico (CH_2O_2), es un

líquido incoloro, agente extremadamente reductor, corrosivo, cáustico para la piel, soluble en agua y etanol.

3.22.5. Secado: se hizo un secado al horno a 85°C por 1 hora aproximadamente, hasta llevar al producto (harina) a un porcentaje de humedad alrededor del 10-12%

3.22.6. Ensilado: producto terminado



Figura 36. Ensilado químico obtenido con residuos del proceso de despulpado mecánico de cachama

Fuente: Luque (2022)

3.23. Nuevas alternativas para la investigación cuantitativa, diseños Space filling

La necesidad de búsqueda de nuevas alternativas para la investigación cuantitativa debe tomar en cuenta la selección de diseños experimentales robustos y económicos en

cuanto al número de observaciones (tratamientos), como son los diseños de experimentación en computadora o diseños virtuales (Encinia y Garza, 2002; SAS JMP 8, 2012; MathWorks, 2014; Phoenix Integration, 2014). Para esto Pronzato y Müller (2012), Kujawski (2014), Georgiou et al. (2014) y Yong Tan (2014), recomiendan en forma general los diseños virtuales del tipo llenado de espacio (Space filling), dada su economía y eficiencia. Sin embargo, no se detectan en la literatura experiencias del uso de este tipo de diseños en experimentación física en laboratorio de alimentos o sea en experimentación estocástica (probabilística), esto descrito por la revisión bibliográfica realizada por Viana (2013), y la exploración realizada con motores tradicionales y con motores de búsqueda en la web oculta (Deep web), usando las recomendaciones de Avila (2012) y Guerrero (2001).

Las recomendaciones de la literatura, permitió definir el objetivo de estudio de esta investigación, el cual es “crear una mezcla de un aditivo acidulante alimentario para preservar en condiciones ambientales un embutido genérico a base de pulpa de cachama, usando glucono-delta-lactona y los ácidos orgánicos láctico y fórmico; optimizando operativamente su eficiencia de estabilización microbiológica (flora putrefactiva), utilizando investigación experimental bajo diseño de muestreo estadístico del tipo de Llenado de espacio (Space filling), ajustando modelos polinomiales aditivos (para tres factores o variables independientes). Basado en los estudios de Johnson et al. (2010) y en Anderson y Whitcomb (2014), esta investigación seleccionará y utilizará un diseño “Hípercubo latino”, por ser uno de los más eficientes dentro del grupo de diseños virtuales del tipo Space filling;

3.24. Variables dependientes. Respuestas, variables explicadas

Todas las variables respuestas fueron medidas con un equipo multirespuesta de manera estocástica, para luego someterlas a comparación con los resultados virtuales.

3.24.1. Acidez iónica, (pH)

El pH es un factor de aseguramiento de la calidad de la carne y productos cárnicos, es una medida de la acidez o alcalinidad, que se determina por el número de iones de hidrógeno (H^+) presentes en una sustancia o mezcla, posee una escala que va del 0 al 14, siendo el valor medio (7,0) valor neutro, mientras que valores inferiores determinan que la sustancia es ácida y valores superiores la sustancia es alcalina (básica), (ver figura 37). El ácido láctico se concentra a partir de las reservas de azúcares (glucógeno) de la célula muscular, debido al fenómeno de la glucólisis anaerobia, al detenerse el aporte de oxígeno a los tejidos. Mientras haya glucógeno, se produce ácido láctico, descendiendo el pH hasta que se inactivan las enzimas responsables de estos procesos metabólicos. El pH final de la carne influye en la textura, la capacidad de retención de agua (CRA), la protección frente a crecimiento de microorganismos y al color.

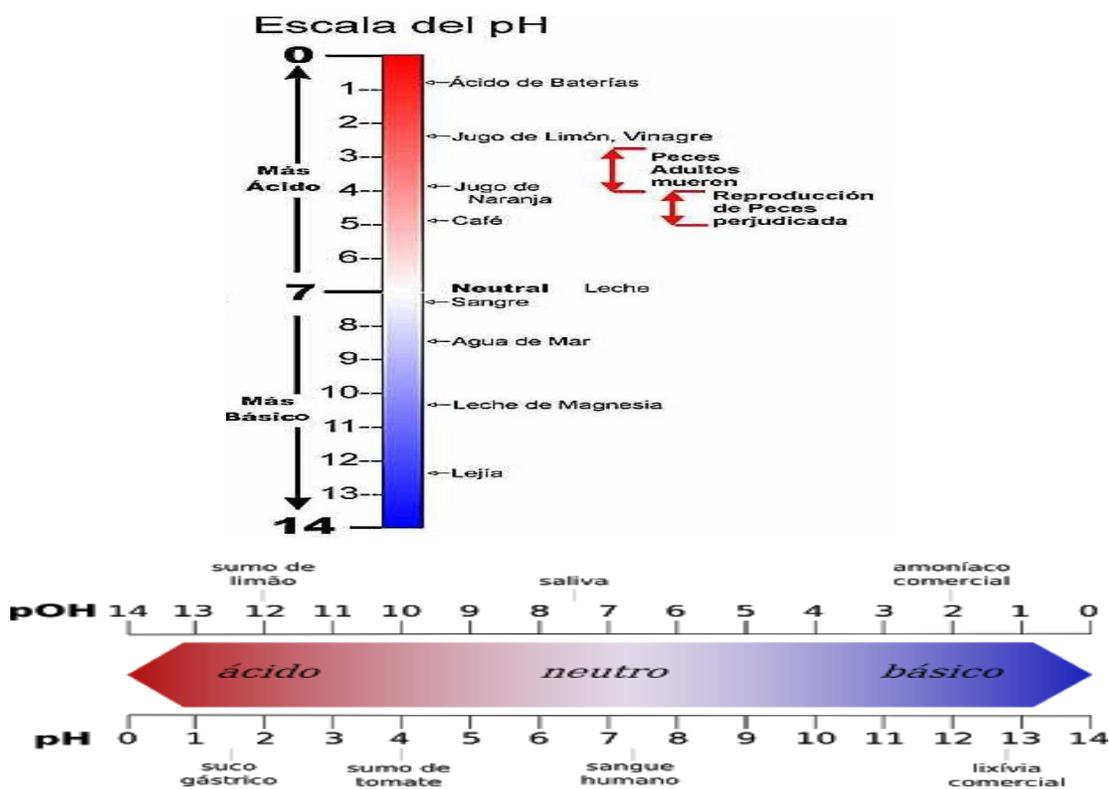


Figura 37. Escala de pH y pOH

Fuente: <https://www.usgs.gov/media/images/pH-scale-0>

Aquí se consideran aspectos muy básicos sobre el pH y el POR, como base del control que ejercen estas variables, en las reacciones enzimáticas, el transporte transmembrana, el metabolismo respiratorio y conocimientos de su control, (modulación); con tecnologías tales como: a. bajos niveles de oxígeno (O_2), b. Altos niveles de CO_2 , c. Altos niveles CO, d. Bajos niveles de temperatura de refrigeración, e. Temperaturas bajas y muy bajas de congelamiento, f. Niveles altos de ácidos y sus combinaciones, h. Bajos de niveles de pH o altos niveles de pOH, i. Altos niveles negativos de potencial redox, (POR). Así como, el fundamento del control (activación-inhibición) de las actividades enzimáticas, bien por retroacción o por control alostérico, Ávila (2013).

En general, la regulación alostérica es solo cualquier forma de regulación donde la molécula reguladora (un activador o un inhibidor) se une a una enzima en algún lugar diferente al sitio activo. El lugar de unión del regulador se conoce como sitio alostérico. Es decir, que actúa en un lugar distinto de aquel en el que ejerce normalmente su efecto una determinada sustancia endógena, pero que puede dar lugar a un efecto similar o bien producir un efecto antagónico.

Puesto que el pH tiene una gran importancia en el crecimiento microbiano, es evidente que el pH último de la carne influye de manera muy significativa en su resistencia a la alteración. La mayoría de las bacterias crecen óptimamente a pH próximo a 7,0 y difícilmente por debajo de pH 4,0 o por encima de pH 9,0. Pero el pH de máximo crecimiento está determinado por la simultánea operación de otras variables distintas del propio grado de acidez o alcalinidad. Algunas de las enzimas bacterianas determinantes de la alteración pueden tener pH óptimos diferentes de la de los propios microorganismos, Lawrie (1998)

3.24.2. Potencial oxido-reducción (POR)

Mientras que el pH de los alimentos se mide con facilidad y se comprende la significación de su medida, mucho más difícil resulta medir la repetibilidad del potencial de oxidación-reducción, (potencial redox). Se piensa que el potencial redox es un importante factor selectivo en todos los ambientes, incluidos los alimentos, que probablemente influye en los tipos de microorganismos presentes y en su metabolismo. Las diferencias observadas en los productos finales del metabolismo, discernibles por el consumidor por diferencias de color o sabor, pueden ser en algunos casos la consecuencia de diferencias en el potencial redox. En los alimentos picados, (e.g., productos cárnicos) o en los productos homogéneos (e.g., emulsiones cárnicas), el potencial redox puede variar considerablemente de una parte a otra debido a altas concentraciones localizadas de diversos pares redox o de nutrientes como glucosa, fumarato o malato; Wirth (1992).

Cuando se encuentra restringida la difusión gaseosa hacia el centro del alimento pueden existir gradientes de potencial redox desde la atmósfera superficial hasta las partes profundas del alimento. El potencial redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular. Los microorganismos aerobios necesitan para crecer valores redox positivos mientras que los anaerobios frecuentemente requieren valores redox negativos. En diferentes cultivos microbianos el valor del potencial redox puede oscilar dentro de un rango comprendido entre una cifra anaeróbica inferior a unos (-420 milivoltios, hasta una cifra aeróbica de aproximadamente +300 mV); Hui et al (2006).

Los procesos de oxidación y de reducción se definen en términos de migraciones electrónicas entre compuestos químicos. La oxidación es la pérdida de electrones mientras que la reducción es la ganancia de electrones. Cuando se oxida una sustancia (i.e., libera electrones); siempre se reduce simultáneamente otra, (o sea, capta los electrones liberados). Este concepto electrónico ha sugerido el desarrollo de métodos

para estudiar cuantitativamente los procesos de oxidación-reducción reversibles que son vitales para las células vivas. Esta medida sugiere la posibilidad de clasificar los sistemas oxidantes y reductores de los alimentos en base a su intensidad. El efecto del potencial oxido-reducción sobre el crecimiento bacteriano consiste en prolongar la fase de latencia inicial; Barnes e Ingram (1956), citado por Lawrie (1998).

El control del metabolismo celular de microorganismos, es la base fundamental de los mecanismos de control, para conservar productos cárnicos percederos. Ávila (2019), plantea que, mientras el pH de los alimentos se mide con facilidad y se cree comprender la significación de su medida ($\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$); solo se dice que valores bajos de pH son buenos para el control microbiológico, pero no explica el fundamento sobre la base de la torre redox y el efecto sobre las reacciones bioquímicas. Por otro lado, respecto al potencial de oxidación-reducción, no se le ha dado la importancia que le corresponde, y además no se aclara la significación del POR en las reacciones metabólicas y esto ha ocurrido por deficiencias de explicaciones bioquímicas y moleculares por parte de la literatura tradicional, ya que es costumbre solo medir y decir que el pH controla, pero no dice cómo o cuál es el fundamento.

El potencial redox es uno de los factores más importante selectivos en todos los ambientes, en el control del crecimiento y desarrollo de los microorganismos, que influye en los tipos de microorganismos presentes y en su metabolismo. Las diferencias observadas en los productos finales del metabolismo, discernibles por el consumidor por diferencias de color o sabor, pueden ser en algunos casos la consecuencia de diferencias redox, bajo las condiciones de manejo; Ávila (2019)

El potencial redox indica las relaciones de oxígeno de los microorganismos vivos y puede ser utilizado para especificar el ambiente en que un microorganismo es capaz de generar energía y sintetizar nuevas células sin recurrir al oxígeno molecular. Ávila (2019), reconoce que, por ejemplo, a valores de POR cercanos a -700 mV , la cadena respiratoria, (fosforilación oxidativa); funcionará muy lentamente, (ver figura 09) y

eventualmente cesará y se acumulará ADP y Pi, y estos inhiben las enzimas claves del ciclo de Krebs y de la glucólisis, inhibiéndose ambos; así eventualmente se detiene el metabolismo respiratorio celular.

Visualizando la torre redox (figura 38), para la respiración de los microorganismos, esta muestra que bioquímicamente, al manejarse valores del potencial oxido-reducción cercanos de cero, se controla la glucólisis y la cadena transportadora de electrones, quedando solo en funcionamiento el ciclo de Krebs, que en forma eventual se detendría por deficiencia de Acetil-CoA y entonces se reduciría el metabolismo respiratorio de las bacterias, siendo esto una de las formas en que la mezcla de aditivos acidulantes alimentarios controlaría el crecimiento microbiano y algunas reacciones enzimáticas.

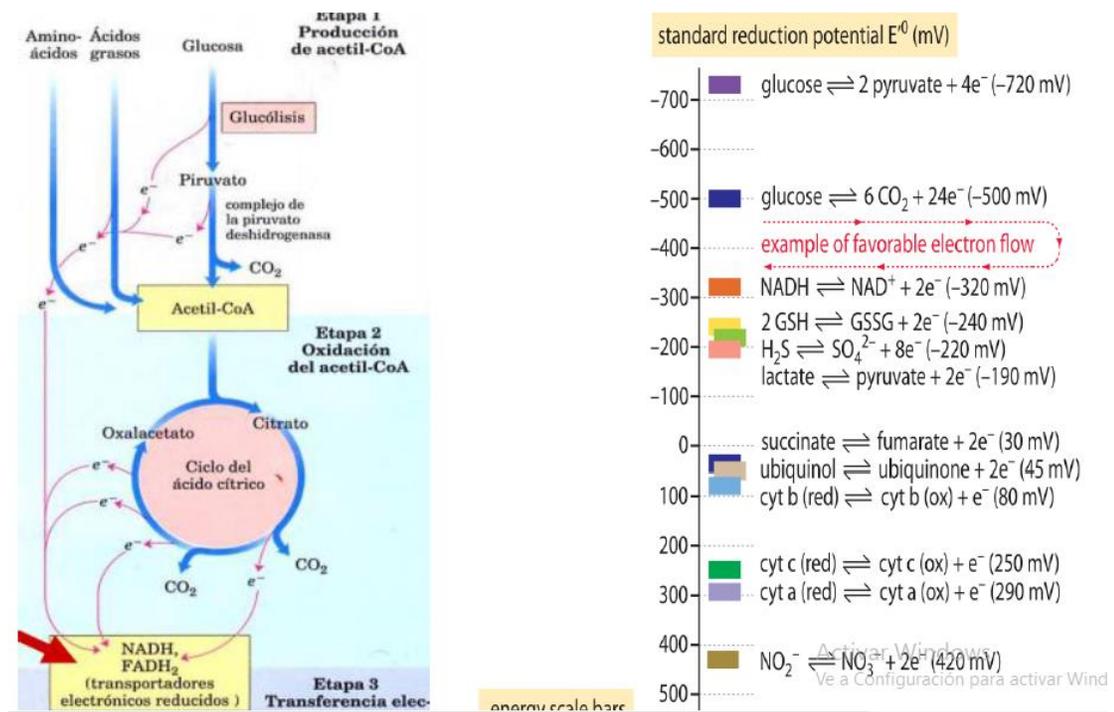


Figura 38. Torre redox para el metabolismo de respiración celular, (Glucólisis, Ciclo de Krebs y Cadena de transferencia de electrones)

Fuente: <https://www.engormix.com/balanceados/articulos/tipsquimiomodulacion-potencial-oxido-t43701.htm>

3.24.3. Acidez titulable total (ATT)

La acidez titulable es la cantidad total de ácido en una disolución determinada por titulación, usando una solución estándar de hidróxido de sodio, (NaOH); como (titulante). Los ácidos son compuestos químicos que al disolverse en agua producen iones hidrogeniones, sustancias que pueden ceder protones y que forman sales en presencia de álcalis. En alimentos se usan para modificar el sabor, reducir y amortiguar el pH, como secuestrador, conservador, gelificantes, emulsionantes, neutralizadores, en mezclas de antioxidantes, etc; Badui (1998)

La respuesta acidez titulable total (ATT), la razón de su estudio es minimizarla, buscando los valores de los niveles o dosis más bajos posibles de la mezcla de aditivos acidulantes alimentarios, para así economizar o reducir costos en su uso a nivel de laboratorio y a nivel de producción.

3.24.4. Capacidad buffer, (CB)

Según Badui (1998), buffer es un anglicismo para designar un amortiguador del pH. Una disolución que se conoce como buffer, amortiguadora o tampón, se caracteriza por tener la capacidad de suavizar o amortiguar el efecto causado por la adición de ácido o base sobre la misma disolución.

Los amortiguadores, (sistemas tampón o buffers); son disoluciones cuya concentración de protones apenas varía al añadir ácidos o bases fuertes. Un buffer, ("amortiguador"); lo que hace es regular el pH. Al añadido al producto, el primer cambio que se produce es que el pH se vuelve constante. Las soluciones amortiguadoras, son disoluciones que por el agregado de cantidades moderadas de ácidos o bases fuertes mantienen prácticamente constante el pH.

En (<http://www.monografias.com/trabajos82/solucion-tampon/solucion>)

La capacidad buffer (CB) máxima, esto nos indica que el producto estaría altamente tamponado, presumiendo que altas concentraciones de microorganismos putrefactivos,

a partir (10^6 Ufc/g), afectan muy poco las condiciones redox, por tanto, el embutido, bajo estas condiciones se mantendría estable, a corto y mediano plazo, sin refrigeración. Sin embargo, es condición hacer el estudio pertinente al seguimiento en el tiempo y establecer las pautas de la estabilidad del embutido genérico. Debe hacerse pruebas de estabilidad microbiológica en anaquel a condiciones ambientales.

3.24.5. Conductividad eléctrica, (CE)

La conductividad eléctrica es la capacidad que tiene una sustancia o material para permitir el paso de corriente eléctrica a través de sí, es decir, de transportar electrones. Es lo contrario a la resistencia eléctrica. La conductividad es una variable que se controla en muchos sectores, desde la industria química a la agricultura.

La conductividad eléctrica en las sustancias líquidas se relaciona con la existencia de sales en las sustancias y en su composición de iones positivos y negativos (átomos de carga positiva o negativa), capaces de transportar energía eléctrica. Estos conductores iónicos se denominan electrolitos. La conductividad eléctrica dependerá de la cantidad de iones disueltos en el líquido, de la carga y la movilidad de los iones, y también de la viscosidad o densidad de la sustancia. Es decir, al haber gran cantidad de iones disueltos, mayor será la conductividad.

3.24.6. Sólidos disueltos totales, (SDT)

Los sólidos disueltos totales (SDT o TDS por sus siglas en inglés: Total Dissolved Solids); es el número de miligramos del residuo que queda después de evaporar una muestra de agua previamente filtrada a través de un filtro de fibra de vidrio con abertura de 1,5 micras. El agua se evapora y el residuo se lleva hasta 180°C . El resultado se reporta en mg/l. Los SDT incluyen las sales, los minerales, los metales y cualquier otro compuesto orgánico o inorgánico menor a 1,5 micras o que se disuelve en el agua. En ocasiones, los SDT se confunden con los sólidos totales (ST), que son el residuo que queda después de evaporar la misma muestra de agua, pero sin filtrarse. Los sólidos

suspendidos totales (SST) son los que quedan en el filtro de fibra de vidrio con abertura de 1.5 micras. Por lo tanto, los ST son la suma de los SST y de los SDT.

Forma más común de medirlos: el contenido de SDT de un agua puede estimarse midiendo la conductividad eléctrica (CE) de la misma, ya que aquellos sólidos que se ionizan, aumentan la CE. El agua pura tiene una CE prácticamente de cero. Existen equipos que mediante la CE, estiman los SDT, pero hay que tener en cuenta que no consideran aquellos sólidos que no se ionizan al disolverse en el agua. El valor de los SDT en mg/l es entre 0,5 y 1,0 veces el valor de la CE en micro/siemens/cm (dependiendo de la temperatura y del nivel de concentración de SDT).

En (<https://www.carbotecnia.info/aprendizaje/quimica-del-agua/solidos-isueltos-totales/>)

El total de sólidos disueltos (TDS) es la medida de todas las sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas en una disolución determinada, que revela la proporción de diferentes sólidos. Para calcular el TDS de una disolución en particular, se usa un medidor de conductividad eléctrica, (CE); que es un dispositivo que se utiliza para medir la capacidad de una disolución para conducir electricidad. Funciona liberando una corriente en un líquido, para luego medir la resistencia.

En (http://www.engineeringtoolbox.com/total-dissolved-solids-d_1062.html)

3.24.7. Microorganismos indicadores, (Ufc/g)

Las bacterias de la putrefacción, indica García O (2008); son aquellas que causan el deterioro del alimento (embutido) y que generalmente no causan problemas de salud al consumidor porque su acción de deterioro sobre el alimento produce cambios de color, olor y sabor que determinan el rechazo por parte del consumidor. Los aerobios mesófilos en la cuantificación de este grupo microbiano permiten estimar de forma general la carga microbiana presente en una muestra, si bien no aporta datos concretos sobre el tipo de especies predominantes. Su conocimiento es interesante, ya que su valor es reflejo de la calidad sanitaria, suele proporcionar información por la existencia

de prácticas incorrectas. Por tanto, es necesario siempre determinar la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos y extraer las conclusiones adecuadas, sin que signifique obviar otros análisis de mayor especificidad y valía. En https://es.org/wiki/Indicadores_de_calidad_microbiol%C3%B3gicos_en_alimentos#Aspectos_generales_sobre_Recuento_microorganismos)



Figura 39. Uso de Petrifilm para la determinación de aerobios y coliformes

Fuente: Luque (2022)

Mediante esta metodología se hizo el recuento de coliformes totales (figura 39). El indicador rojo presente en la placa, colorea todas las colonias, y la película superior atrapa el gas producido por los coliformes. Los coliformes producen colonias de color rojo asociadas con las burbujas de gas. Los no coliformes producen colonias rojas las cuales no están asociadas con burbujas de gas. Cuando el número de colonias es mayor de 150, se hace una estimación del recuento. Se determinó el número de colonias por centímetro cuadrado y se multiplicó por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de crecimiento en una placa para el recuento de coliformes es de 20 cm² aproximadamente. Manual 3M Petrifilm del usuario (2008)

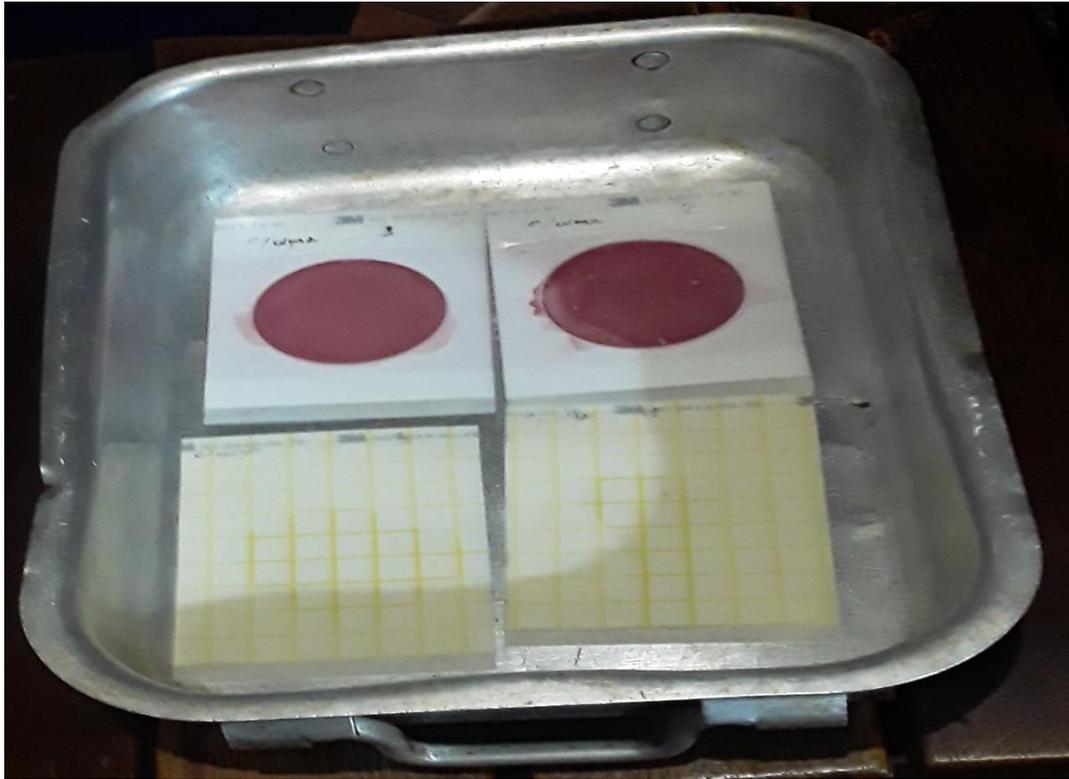


Figura 40. Resultados obtenidos de aerobios mesófilos y coliformes totales

Fuente: Luque (2022)

Siguiendo esta misma metodología se hizo el recuento de aerobios mesófilos (figura 40). El indicador rojo presente en la placa, colorea todas las colonias. Se contaron todas las colonias sin importar la intensidad del color o el tamaño. Se utilizó un contador para leer los resultados. Se determinó el número de colonias por centímetro cuadrado y se multiplicó por 20 para obtener el recuento total por placa. El área de crecimiento en una placa para el recuento de Coliformes es de 20 cm² aproximadamente. Manual 3M Petrifilm del usuario (2008)

Los coliformes totales como indicadores. Tradicionalmente, se les ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano en razón de que los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia

indica que el agua es bacteriológicamente segura. Los coliformes son una familia de bacterias que se encuentran comúnmente en las plantas, el suelo y los animales, incluyendo a los humanos.

En general, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo. Por su amplia diversidad el grupo coliformes ha sido dividido en dos grupos: coliformes totales y coliformes fecales. En https://es.wikipedia.org/wiki/Indicadores_de_calidad_microbiol%C3%B3gicos_en_alimentos#Aspectos_generales_sobre_Recuento_microorganismos

3.24.8. Actividad de agua, (a_w)

Badui (1998), define la actividad de agua, como la medida de la cantidad de agua disponible (agua libre) de un alimento capaz de propiciar el crecimiento microbiano o las reacciones químicas y enzimáticas. Representa el grado de unión que existe entre el agua y los sólidos; y se relaciona con la humedad relativa.

La actividad de agua resulta ser otro factor importante en el control microbiológico, pero igual que lo indicado para el pH, los valores de actividad de agua de la carne y los productos cárnicos no se pueden bajar con el único interés del control microbiológico, pues se afectarían las propiedades organolépticas del producto, por tal motivo en este caso, el nivel de a_w , estará supeditada a las condiciones de cada producto en particular, García O (2008). Al efecto se puede indicar que exceptuando los productos deshidratados (secos y liofilizados), la carne y los productos cárnicos en su mayoría tienen valores de a_w , favorables a su crecimiento y desarrollo de microorganismos (0,95-0,98).

El valor de a_w , según Frey (1995), es un índice del agua “libre” presente en el alimento. Por agua libre se entiende la cantidad de agua de que disponen los microorganismos para sus actividades vitales. Cuanto mayor es la cuantía de sustancias

disueltas en el agua, menor es la actividad hídrica, menor también la cantidad de agua libre y más disgenésicas son las condiciones que encuentran la mayoría de los microorganismos para sus actividades vitales. De aquí que la desecación, y por tanto la disminución del valor a_w , así como el descenso de dicho valor por agregación de sal y otras sustancias que actúan como solutos, se considera procedimiento conservador de los embutidos en la producción de éstos.

3.25. Sistema de hipótesis

La propuesta de investigación planificada, diseñada y comprobable, plantea las siguientes hipótesis de trabajo.

1. La creación de una mezcla acidulante óptima desde el punto de vista matemático y operativo, constituido por Glucono-delta-lactona y los ácidos orgánicos fórmico y láctico; que permite estabilizar microbiológicamente el embutido genérico, aún en condiciones de manejo y manipulación ambientales, sin refrigeración.

2. La elaboración de un embutido genérico a base de pulpa de cachama.

3. La creación de un modelo matemático de predicción polinomial de simulación en función de la concentración de los aditivos alimentarios acidulantes a usar, Glucono-delta-lactona, (GDL) y los ácidos orgánicos: fórmico, (AF) y láctico, (AL); que podrá resolverse para que satisfaga simultáneamente las siguientes condiciones de calidad, mínimo potencial redox, (POR); mínimo (pH); mínima acidez titulable total, (ATT); máxima capacidad buffer, (CB); conductividad eléctrica, (CE); sólidos disueltos totales, (SDT); mínimo contaje bacteriano indicador Ufc/g y mínima actividad de agua, (a_w); como parámetros cuyo efecto múltiple combinado e inducido permiten generar estabilidad microbiológica.

3.26. Hipótesis general

¿Los diseños del tipo Hipercubo latino permitirán modelar y optimizar vía simulación de Derringer-Süich, la mezcla de los aditivos acidulantes alimentarios, Glucono-delta-lactona, con los ácidos orgánicos fórmico y láctico, en la formulación

de un aditivo acidulante alimentario para estabilizar microbiológicamente, a condiciones ambientales, un embutido a base de pulpa de cachama, de alta humedad...?

3.26.1. Hipótesis estadística

Hipótesis nula, (H_0)

$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \beta_n$. Que los tratamientos aplicados no tienen efectos estadísticamente significativos suficientes, sobre la variabilidad de cada una de las respuestas estudiadas.

Hipótesis alternativa, (H_a)

$H_a: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3 \neq \beta_n$. Que los tratamientos aplicados tienen efectos estadísticamente significativos y suficientes, sobre la variabilidad de cada una de las respuestas estudiadas.

3.27. Sistema de variables

Constituidas por el conjunto de variables independientes, explicativas o factores y las variables dependientes, respuestas o explicadas, que tienen ponderación sobre los resultados esperados, de acuerdo al diseño experimental planteado.

3.27.1. Variables independientes o factores de estudio, (X_i)

En esta investigación, serán los factores que modelan el proceso de obtención de la mezcla de aditivos acidulantes alimentarios. X_1 : Glucono-delta-lactona, (g); X_2 : Ácido fórmico (ml) y X_3 : Ácido láctico, (ml).

3.27.2. Variables dependientes o respuestas, (Y_i)

En esta investigación, son las variables respuestas medidas en cada tratamiento aplicado, de acuerdo a la matriz “D” de los diseños de muestreo de tratamientos, (Hipercubo latino del tipo Space filling). Aquí se evaluaron las dosis o niveles de las variables independientes determinadas, sobre las variables respuestas en estudio: Y_1 : Acidez iónica, (pH); Y_2 : Potencial redox, (POR); Y_3 : Acidez titulable total (ATT); Y_4 :

Capacidad buffer, (CB); Y₅ Conductividad eléctrica, (CE) y Y₆: Sólidos disueltos totales, (SDT); Y₇: conteo bacteriano indicador, (Ufc/g) y Y₈: actividad de agua, (aw)

En el proyecto de investigación, se planteó recolectar datos numéricos en escala continua, bajo diseño experimental, con los cuales se construyó un modelo matemático para simulación de múltiples respuestas, en función de tres factores experimentales, por lo que tendrá un carácter experimental y exploratorio bajo condiciones controladas en laboratorio, utilizando un diseño de muestreo estadístico de tipo virtual, de llenado de espacio, (Space filling), según recomendaciones de Bradley y Rachel (2009), Kuhn, (2014) y Leatherman, Desan, y Santner (2014).

Se utilizó un potenciómetro (pH metro), un water quality tester, un determinador de actividad de agua en alimentos y películas Petrifilm 3M o placas de conteo bacteriano; donde se midieron las respuestas (pH, POR, ATT, CB, CE, SDT, Ufc/g y aw); de cada unidad de análisis, (tratamiento experimental); definidos por la matriz “D” del diseño de tratamientos experimentales. Las unidades de análisis experimental, serán las dosis de los aditivos acidulantes alimentarios, constituyendo la muestra, que estará conformada por GDL con ácidos orgánicos fórmico y láctico.

Se creó un modelo matemático, (metamodelo), de simulación determinística constituido por ocho (08) ecuaciones, una para cada respuesta medida; robusto (de alta bondad de ajuste y excelente capacidad de predicción), con la esperanza que las respuestas se distribuyan en forma normal de Gauss y permita establecer los gráficos de calidad 6 sigma, que detecte y establezca los índices de defectos. Para el análisis de los datos, se utilizó el metamodelo, y se optimizó vía simulación, con el módulo simulador con interfaz gráfica de perfiles de respuesta, modulado con gráficos de perfiles de calidad de deseabilidad “D” de Derringer y Süich, en el software SAS JMP, versión 8. Modelos emuladores de la mezcla de los aditivos acidulantes alimentarios.

3.28. Modelo general:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

3.29. Modelos específicos:

$$pH = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

$$POR = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

$$ATT = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

$$CB = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon_i$$

$$CE = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon_i$$

$$SDT = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

$$Ufc/g = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon_i$$

$$aw = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon_i$$

3.30. Fases de la investigación

Para el cumplimiento de los objetivos, se ejecutaron las siguientes fases:

Fase 1. Generación de un arreglo de muestreo de tratamientos, un Hípercubo latino

Fase 2. Elaboración de las unidades de análisis, (embutido genérico)

Fase 3. Se ejecutó la experimentación con los tratamientos elaborados (mezclas de aditivos acidulantes alimentarios); previa realización de pruebas pilotos.

Fase 4. Se determinaron las variables respuestas: acidez iónica (pH), potencial redox (POR), capacidad buffer (CB), acidez total titulable (ATT), conductividad eléctrica (CE), sólidos disueltos totales (SDT), Ufc/g indicadores y actividad de agua, (aw).

Fase 5. Se ajustaron los modelos lineales aditivos de alto orden generados, con el método de mínimos cuadrados ordinarios matriciales (M.C.O.M.), formando un sistema de ecuaciones (metamodelo de simulación), con el cual se emularon los pasos del proceso de elaboración del acidulante para el embutido genérico, a base de materia orgánica.

Fase 6. Co-optimización del proceso de creación del aditivo acidulante alimentario, vía simulación, con las siguientes restricciones, para las ocho respuestas medidas:

1. Minimizar la acidez iónica (pH), 2. Minimizar el potencial redox, (POR), 3. Maximizar la capacidad buffer (CB), 4. Minimizar la acidez titulable total (ATT), 5. Maximizar la conductividad eléctrica (CE), 6. Maximizar los sólidos disueltos totales (SDT), 7. Minimizar las Ufc/g y 8. Minimizar la actividad de agua (aw); para cada una de los tratamientos diseñados, con la mezcla.

Fase 7. Se validaron mediante pruebas experimentales la mezcla óptima del aditivo acidulante alimentario, en las unidades experimentales de análisis, para determinar las respuestas objeto de estudio.

La presente investigación se inició como tipo exploratorio, que consistió en examinar un tema o problema poco estudiado o que no ha sido abordado con anticipación y sirve para familiarizarse con tópicos relativamente desconocidos, estableciendo mediante ella, conceptos o variables que abren un camino a estudios afines, determinando tendencias e identificando modelos formales de la investigación previamente dicha, donde a través del análisis de los resultados, se registraron y tipificaron cuantitativamente los datos obtenidos. Hernández Sampieri (1994).

La corriente epistemológica a la cual se subscribe esta investigación, está basada en lo pautado por Ricoy (2006); que indica que el “paradigma positivista se califica de cuantitativo, empirico-analítico, racionalista, sistemático gerencial y científico tecnológico. Por tanto, el paradigma positivista sustenta a la investigación que tiene por objetivo comprobar una hipótesis planteada por medios estadísticos o determinar los parámetros de una determinada variable mediante una expresión numérica.

Sin embargo, el positivismo y el post-positivismo son los paradigmas que guían la investigación cuantitativa, los cuales tiene como objetivo explicar el fenómeno estudiado, para en una última instancia, predecirlo y controlarlo; Guba y Lincoln, (1994).

La investigación de tipo cuantitativo utiliza la recopilación de información para poner a prueba o comprobar las hipótesis mediante el uso de estrategias estadísticas basadas en la medición numérica, lo cual permitió proponer patrones de comportamiento y probar los diversos fundamentos teóricos que explican dichos patrones; Hernández et al., (2010).

Según Cuenya y Ruetti (2010), actualmente la investigación cuantitativa suele ser de mayor aplicación, esto en razón de su alto alcance explicativo y predictivo, así como su rigurosa postura para tener presente el error propio de toda inferencia estadística. Por lo tanto, los paradigmas que sustentan esta investigación se corresponden con la respuesta ontológica (la ontología se aplica también en Inteligencia Artificial para asimilar y codificar el conocimiento, definiendo las relaciones existentes entre los conceptos de un dominio determinado (un área del conocimiento), donde la realidad es absoluta y totalmente asimilable por el ser humano, es regida por las leyes y mecanismos naturales. La respuesta al problema planteada se basa en el dualismo y el objetivismo, donde el investigador y el objeto de estudio son totalmente independientes y la respuesta metodológica está basada en métodos experimentales y en mediciones del fenómeno estudiado

Como se menciona en Metodología de la Investigación, “...una investigación puede iniciarse como exploratoria o descriptiva y después llegar a ser correlacional y aun explicativa,” como corresponde al presente tema, ya que se hace una descripción de los componentes físicos, químicos y bioquímicos del producto en estudio, los cuales lo caracterizan, llegando a la elaboración de tipologías y asignando a cada uno de ellos un valor de acuerdo a sus condiciones; Hernández Sampieri (1994). p 68-69).

En esta investigación, bajo diseño experimental (experimentación estocástica y experimentación virtual), se construyó un modelo matemático para simulación de múltiples respuestas, en función de tres factores experimentales, de carácter

exploratorio bajo condiciones controladas, utilizando un diseño estadístico de llenado de espacio (Space filling), típicos de experimentación virtual, en un “Hípercubo latino” siendo eficientes en el ajuste de modelos polinomiales de orden superior, según recomendaciones de Bradley y Rachel (2009) y Kuhn (2014); y se utilizaron dichos modelos en la optimización operativa de una mezcla de un aditivo acidulante alimentario, formulado con Glucono-delta-lactona y los ácidos orgánicos: fórmico y láctico.

3.31. Delimitación del área de estudio

De acuerdo con el tipo de investigación y de acuerdo al problema planteado, se seleccionaron los siguientes procesos de recolección de datos: investigación documental en libros (físicos y virtuales), revistas, periódicos, trabajos realizados en la en nuestra institución, tesis, ponencias, conferencias, leyes, reglamentos y normas, así como mediante la información obtenida en la Web, (internet), Hernández et al., (2010).

Finalmente, se genera y se construye un modelo informático-matemático para simulación, de múltiples respuestas, en función de tres factores experimentales, de carácter exploratorio bajo condiciones controladas en laboratorio, (control local); utilizando diseños estadísticos de llenado de espacio (Space filling), típicos de experimentación virtual, con un diseño “Hípercubo latino”; siendo estos eficientes en la bondad de ajuste de los modelos polinomiales de orden superior, según recomendaciones de Bradley y Rachel (2009), Kuhn (2014); utilizando dichos modelos en la optimización matemática y operativa de una mezcla de aditivos acidulantes alimentarios; formulado con GDL, ácido fórmico y ácido láctico.

3.31. Diseño de la investigación

Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo, exploratorio, descriptivo, correlacional y explicativo. El carácter correlacional es debido a que se construyeron modelos estadísticos de relaciones causales entre variables independientes y dependientes. Experimental, exploratoria en laboratorio de alimentos, ya que se

manipularon variables independientes, se medieron variables dependientes (respuestas).

Las fases establecidas para el desarrollo de esta investigación, permitieron obtener los valores o dosis de cada componente de la mezcla, para la formulación experimental de la mezcla del aditivo acidulante alimentario (òptima), que debe cumplir con las restricciones de calidad preestablecidas; y que se utilizaron en las unidades funcionales de análisis.

3.33. Población y muestra

La población fueron los embutidos genéricos elaborados, los tratamientos fueron las mezclas de los aditivos acidulantes alimentarios; mezclados, homogeneizados, y usados en las unidades funcionales de análisis experimentales (embutidos genéricos), en función a su peso, tamaño, composición y forma. Los tratamientos experimentales se construyeron con el módulo DOE-Space Filling Design del Software SAS JMP, versión 8.

3.34. Diseño o técnicas de observación

Las fases planificadas para el desarrollo de esta investigación, permitieron obtener las dosis de cada componente de la mezcla acidulante experimental, de la formulación del aditivo acidulante alimentario (mezcla óptima del acidulante), que cumplió con las restricciones o premisas de calidad exigidas:

1. Mínima acidez iónica (pH);
2. Mínimo potencial redox, (POR);
3. Mínima acidez titulable total, (ATT);
4. Máxima capacidad buffer, (CB);
5. Máxima conductividad eléctrica, (CE)
6. Sólidos disueltos totales, (SDT);
7. Mínimo contaje bacteriano referencial Ufc/g; cuyos parámetros efecto indicador múltiple combinado e inducido permitieron generar estabilidad microbiológica, en las

unidades experimentales objeto de estudio, (embutido genérico).

3.35. Pruebas pilotos y diseño estadístico de muestreo del experimento

Las pruebas pilotos se realizaron en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), de la Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales “Ezequiel Zamora” del Vicerectorado de Infraestructura y Procesos Industriales, del Programa Ciencias del Agro y del Mar; bajo condiciones controladas, como ensayos de prueba y error, que permitieron determinar los niveles o dosis de los componentes de la mezcla del aditivo acidulante alimentario a aplicar como tratamientos y que se obtuvo en el experimento; se estandarizó la metodología de preparación y obtención de las mezclas; para estimar la concentración de uso de cada componente, según el tratamiento.

3.36. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Se utilizó el módulo Analyze, (Modeling-Screening) del software SAS JMP versión 8, para construir los modelos lineales de alto orden para cada respuesta, (metamodelo), para generar los modelos; analizarlos y validarlos.

Para optimizar la mezcla acidulante se utilizó el módulo Analyze, (Fit-model) del software SAS JMP versión 8, utilizando la plataforma del simulador Predicción Profiler y los perfiles de deseabilidad con los criterios de calidad establecidos.

CAPÍTULO IV

4. PRESENTACIÓN, DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS RESULTADOS

A continuación, se presentan los datos y resultados obtenidos, su descripción, análisis y discusión; mediante análisis de experimentación estocástica así como análisis de experimentación determinística. Se plantea un análisis tecnológico mediante razonamiento e inferencias de utilidad en la práctica de aplicabilidad del quimio acidulante orgánico obtenido (QMAO). Esto implica que se administra un proceso que está sometido al azar y que es objeto de análisis estadístico. El pensamiento estocástico involucra diversos componentes: un razonamiento probabilístico que permite discriminar fenómenos aleatorios de fenómenos deterministas y argumentar en torno a ellos saberes y procedimientos para la lectura y el tratamiento de la información, asociados en el ámbito del quehacer científico.

Concluida la fase de recolección de datos, información y conocimientos (DICs) en el Laboratorio de Ingeniería y Tecnología de Alimentos (LITA), del Vicerrectorado de Infraestructura y Procesos Industriales, Universidad “Ezequiel Zamora”, con sede en la ciudad de San Carlos del estado Cojedes (Venezuela); se realizó su recolección, compilación, edición, interpretación y funcionalidad requerida para su análisis estadístico.

Se usaron los softwares SAS (Statistical Analysis System), que es un sistema de programas para el análisis de datos, que consiste en un conjunto de módulos capaces de entregar resultados estadísticos de diferentes procesos como: regresión, análisis de varianza, estadística básica, distribución de frecuencias, procedimientos multivariados. Se usó Software JMP versión 8 para la visualización interactiva y el análisis estadístico que permite explorar, analizar e investigar patrones anidados y muestra gráficamente datos y resultados. También se usó Statistica versión 7 e IBM SPSS Statistics versión 25. Los DICs aportados por la investigación se muestran a continuación, en forma secuencial.

1. DICs obtenidos de la investigación experimentando estocásticamente con agentes quimioacidulantes orgánicos conservadores de alimentos y sus respectivas mezclas. Luego, con la experimentación determinística se obtuvo la mezcla óptima del quimio acidulante requerido (QMAO).

2. Se validó de manera estocástica la bondad de ajuste y la predicción de los modelos generados ajustados.

3. Se validó la capacidad de conservación óptimas generadas y aplicadas a las unidades experimentales en estudio (embutido genérico). Embutido obtenido bajo formulación y esquema tecnológico de elaboración anexos.

4.1. Pruebas pilotos para la definición de niveles o dosis, tipo de ácidos como factores experimentales

Mediante la estandarización de las metodologías, se realizaron pruebas pilotos para establecer el rango de los niveles (dosis experimentales) requeridos para la creación del diseño de muestreo estadístico experimental. En esta primera parte de la investigación se procedió a la optimización de la mezcla de los aditivos que se usaron como agentes quimioacidulantes, que nos permitió manipular las variables intrínsecas para lograr la conservación deseada y/o esperada del embutido genérico, bajo condiciones ambientales y apto para consumo humano. Estos se muestran en la siguiente tabla xxx, para cada uno de los cuatro factores experimentales.

Tabla 01. Prueba piloto preliminar para definir niveles de factores quimioacidulante

Muestra	Factores experimentales				Respuestas medidas		
	À. acético (ml)	À. láctico (ml)	GDL (g)	pH	CE (μ s/cm)	TDS (mg/kg)	POR (mV)
1	2,14	5,00	0,74	1,36	55,00	27,00	655,00
2	4,43	2,50	0,81	1,63	56,00	29,00	659,00
3	4,14	4,64	0,68	1,50	55,00	27,00	675,00
4	3,29	4,82	0,16	2,05	59,00	31,00	631,00
5	3,57	3,75	1,00	1,76	55,00	27,00	674,00
6	2,43	3,57	0,10	1,69	75,00	37,00	672,00
7	1,29	3,21	0,42	1,80	104,00	52,00	663,00
8	1,57	3,93	0,87	1,72	105,00	51,00	620,00
9	1,86	2,68	0,94	1,40	55,00	28,00	680,00

10	3,00	3,04	0,61	1,45	52,00	26,00	681,00
11	4,71	3,39	0,55	1,24	47,00	24,00	698,00
12	1,00	4,46	0,36	1,68	79,00	39,00	670,00
13	2,71	4,11	0,49	1,40	67,00	33,00	688,00
14	5,00	4,29	0,29	1,65	55,00	27,00	678,00
15	3,86	2,86	0,23	1,40	65,00	32,00	684,00

Fuente: Luque (2022)

Tabla 02. Prueba experimental del efecto de dilución con agua destilada (10 ml)

Muestra	Factores experimentales				Respuestas medidas		
	Á. fórmico (ml)	Á. láctico (ml)	GDL (g)	pH	CE ($\mu\text{s/cm}$)	TDS (mg/kg)	POR (mV)
1	2,14	5,00	0,74	217,00	2.440,00	1.220,00	621,00
2	4,43	2,50	0,81	240,00	2.050,00	1.020,00	637,00
3	4,14	4,64	0,68	253,00	1.990,00	990,00	615,00
4	3,29	4,82	0,16	242,00	2.180,00	1.090,00	622,00
5	3,57	3,75	1,00	230,00	2.030,00	1.020,00	629,00
6	2,43	3,57	0,10	239,00	2.760,00	1.380,00	626,00
7	1,29	3,21	0,42	243,00	3.510,00	1.760,00	614,00
8	1,57	3,93	0,87	250,00	3.060,00	1.520,00	590,00
9	1,86	2,68	0,94	244,00	2.960,00	1.480,00	619,00
10	3,00	3,04	0,61	246,00	2.440,00	1.220,00	618,00
11	4,71	3,39	0,55	260,00	1.990,00	890,00	627,00
12	1,00	4,46	0,36	274,00	3.470,00	1.730,00	574,00
13	2,71	4,11	0,49	274,00	2.460,00	1.230,00	600,00
14	5,00	4,29	0,29	275,00	2.003,00	1.001,00	597,00
15	3,86	2,86	0,23	290,00	2.170,00	1.080,00	597,00

Fuente: Luque (2022)

El análisis de los datos anteriores (optimización operativa), indican que los rangos de prueba de los factores en estudio deben estar en los siguientes rangos:

Tabla 03. Rango de prueba de niveles o dosis de los factores experimentales en estudio

Factor experimental	Mínimo	Máximo
Glucono delta lactona X_5 [g]	0,2	0,6
Ácido fórmico: X_1 [ml]	0,2	0,6
Ácido láctico: X_2 [ml]	0,2	0,6

Fuente: Luque (2022)

Con base en los resultados anteriores se construyó la matriz de diseño de muestreo experimental (Tabla 04), para la optimización operativa del quimioacidulante a aplicar en la matriz del embutido elaborado, para las pruebas de estabilización biológica

4.2. Experimentación estocástica con mezcla de sustancias quimioacidulantes y ácidos orgánicos

Los diferentes datos generados en la experimentación preliminar y las pruebas pilotos realizados para obtener la mezcla del quimioacidulante deseado se presentan a continuación:

4.2.1. Matriz “D” de diseño de muestreo de tratamientos y respuestas medidas, para experimentación estocástica con la mezcla de los acidulantes

En la tabla 05, siguiente se muestra la matriz “D” de diseño de muestreo en Hípercubo latino, con sus respectivas respuestas medidas Y_1 : pH; Y_2 : CE, conductividad eléctrica $\mu\text{S}/\text{cm}$; Y_3 : SDT, sólidos disueltos totales mg/kg y Y_4 : POR: potencial óxido-reducción mV . Se estableció el proceso de optimización realizado solo a las mezclas de los aditivos que se usaron como quimioacidulantes.

Tabla 04. Matriz “D” de diseño de muestreo de tratamientos experimentales. Diseño de Space filling Hípercubo latino, completamente repetido con sus respuestas.

Repetición	Factores experimentales			Respuestas			
	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
	À. acético	À. láctico	GDL	pH	CE	TDS	POR
1	2,14	5,00	0,74	1,36	55,00	27,00	655,00
1	4,43	2,50	0,81	1,63	56,00	29,00	659,00
1	4,14	4,64	0,68	1,50	55,00	27,00	675,00
1	3,29	4,82	0,16	2,05	59,00	31,00	631,00
1	3,57	3,75	1,00	1,76	55,00	27,00	674,00
1	2,43	3,57	0,10	1,69	75,00	37,00	672,00
1	1,29	3,21	0,42	1,80	104,00	52,00	663,00
1	1,57	3,93	0,87	1,72	105,00	51,00	620,00

1	1,86	2,68	0,94	1,40	55,00	28,00	680,00
1	3,00	3,04	0,61	1,45	52,00	26,00	681,00
1	4,71	3,39	0,55	1,24	47,00	24,00	698,00
1	1,00	4,46	0,36	1,68	79,00	39,00	670,00
1	2,71	4,11	0,49	1,40	67,00	33,00	688,00
1	5,00	4,29	0,29	1,65	55,00	27,00	678,00
1	3,86	2,86	0,23	1,40	65,00	32,00	684,00
2	2,14	5,00	0,74	1,35	54,00	26,80	654,00
2	4,43	2,50	0,81	1,64	56,50	29,20	659,40
2	4,14	4,64	0,68	1,48	55,20	26,75	675,10
2	3,29	4,82	0,16	2,05	58,15	31,60	632,00
2	3,57	3,75	1,00	1,75	56,00	27,15	673,00
2	2,43	3,57	0,10	1,70	75,00	37,00	671,00
2	1,29	3,21	0,42	1,85	103,00	52,90	663,60
2	1,57	3,93	0,87	1,70	104,00	51,20	620,00
2	1,86	2,68	0,94	1,45	55,30	28,50	681,00
2	3,00	3,04	0,61	1,45	52,00	26,00	681,00
2	4,71	3,39	0,55	1,24	46,00	25,00	695,00
2	1,00	4,46	0,36	1,70	79,20	39,00	670,50
2	2,71	4,11	0,49	1,45	67,50	33,00	689,00
2	5,00	4,29	0,29	1,66	55,40	27,20	680,00
2	3,86	2,86	0,23	1,45	65,00	32,00	685,00

Fuente: Luque (2022)

Tabla 05. Matriz “D” de diseño de muestreo de tratamientos experimentales. Diseño de Space filling Hípercubo latino, completamente repetido con sus respuestas. Mezcla de aditivos alimentarios quimioacidulantes.

REPETICIÓN	FACTORES EXPERIMENTALES			RESPUESTAS			
	X ₁ A. acético	X ₂ A. láctico	X ₃ GDL	Y ₁ pH	Y ₂ CE	Y ₃ TDS	Y ₄ POR
1	2,14	5,00	0,74	1,36	55,00	27,00	655,00
1	4,43	2,50	0,81	1,63	56,00	29,00	659,00
1	4,14	4,64	0,68	1,50	55,00	27,00	675,00
1	3,29	4,82	0,16	2,05	59,00	31,00	631,00
1	3,57	3,75	1,00	1,76	55,00	27,00	674,00
1	2,43	3,57	0,10	1,69	75,00	37,00	672,00
1	1,29	3,21	0,42	1,80	104,00	52,00	663,00
1	1,57	3,93	0,87	1,72	105,00	51,00	620,00
1	1,86	2,68	0,94	1,40	55,00	28,00	680,00
1	3,00	3,04	0,61	1,45	52,00	26,00	681,00
1	4,71	3,39	0,55	1,24	47,00	24,00	698,00
1	1,00	4,46	0,36	1,68	79,00	39,00	670,00
1	2,71	4,11	0,49	1,40	67,00	33,00	688,00
1	5,00	4,29	0,29	1,65	55,00	27,00	678,00
1	3,86	2,86	0,23	1,40	65,00	32,00	684,00
2	2,14	5,00	0,74	1,35	54,00	26,80	654,00
2	4,43	2,50	0,81	1,64	56,50	29,20	659,40
2	4,14	4,64	0,68	1,48	55,20	26,75	675,10
2	3,29	4,82	0,16	2,05	58,15	31,60	632,00
2	3,57	3,75	1,00	1,75	56,00	27,15	673,00
2	2,43	3,57	0,10	1,70	75,00	37,00	671,00
2	1,29	3,21	0,42	1,85	103,00	52,90	663,60
2	1,57	3,93	0,87	1,70	104,00	51,20	620,00
2	1,86	2,68	0,94	1,45	55,30	28,50	681,00
2	3,00	3,04	0,61	1,45	52,00	26,00	681,00
2	4,71	3,39	0,55	1,24	46,00	25,00	695,00
2	1,00	4,46	0,36	1,70	79,20	39,00	670,50
2	2,71	4,11	0,49	1,45	67,50	33,00	689,00
2	5,00	4,29	0,29	1,66	55,40	27,20	680,00
2	3,86	2,86	0,23	1,45	65,00	32,00	685,00

Fuente: Luque (2022)

4.2.2. Modelamiento del quimioacidulante. Modelo lineal, múltiple, aditivo, cuadrático con interacciones de alto orden, bajo diseño de muestreo, Space filling optimal

Los resultados del Análisis de Regresión Screening Ridge (ARSR) para los datos (tabla 06), se muestran en las figuras siguientes (análisis multivariado de varianza F). Se valora sobre el comportamiento de la GDL y los ácidos fórmico y láctico cuando estos se mezclan, suponiendo que ocurre un proceso de reacción química.

Aquí, se detecta que los términos cruzados o interacciones entre los factores experimentales, tienen una contingencia, una instrumentalización y un rol; por ello, son un ámbito de realidad sui generis de la interacción químico estudiado, con estructura propia; donde los requerimientos del modelo, de términos de alto orden e interacciones de alto orden, es un indicador de la complejidad de la holística del fenómeno estudiado; indicando esto que el fenómeno requiere ajustarse con un modelo holístico y complejo, quizás un modelo no lineal complejo o un modelo mixto complejo; por ello, más adelante se ajustan, un modelo no lineal inspirado en redes neuronales y un modelo de procesos gaussianos (de correlación espacial); esto último con la finalidad de comparar y de poseer mayor capacidad de entendimiento del comportamiento holístico del fenómeno.

El análisis de los datos anteriores (optimización operativa), indican que los valores de los factores en estudio, que satisfacen la calidad de la deseabilidad del quimioacidulante se muestran en la tabla siguiente:

Tabla 06. Calidad del quimioacidulante experimental (óptimo operativo)

Factores experimentales	Óptimo operativo	Respuestas
Glucono delta lactona X ₅ [g]	0,250	pH = 2,51 CE = 486,5 μS/cm
Ácido acético: X ₁ [ml]	0,290	TDS = 194,37 mg/L
Ácido láctico: X ₂ [ml]	0,283	POR = (+) 14,17

Fuente: Luque (2022)

El quimioacidulante experimental que se creó de acuerdo a lo mostrado en la tabla anterior, fue el que se usó en el embutido elaborado a base de pulpa de cachama, para evaluar su grado de estabilidad biológica, manipulado y conservado a condiciones ambientales.

Con base al análisis de las pruebas pilotos anteriores se definió los niveles y los tipos de ácidos a utilizar, se muestra a continuación en la Tabla 07. Y con base a los resultados obtenidos de las pruebas pilotos se construyó la matriz de diseño de muestreo experimental, para la optimización operativa del quimioacidulante. Donde los acidulantes y sus niveles que mejores resultados para satisfacer el objetivo de la investigación en curso, fueron: GDL, ácido fórmico y ácido láctico, en un rango de dosis (0,2-0,6); datos con los cuales se construyó la Matriz de Diseño de Muestreo Experimental.

Tabla 07. Calidad del quimioacidulante experimental (óptimo operativo)

Factores experimentales	Niveles
Glucono delta lactona X_5 [g]	0,2-0,60
Ácido fórmico: X_1 [ml]	0,2-0,60
Ácido láctico: X_2 [ml]	0,2-0,60

Fuente: Luque (2022)

Aquí, se muestra los resultados del análisis de modelación y optimización de la mezcla acidulante obtenida determinísticamente (en laboratorio virtual en PC) y su validación estocástica (en laboratorio de alimentos LITA)

4.2.3. Resultados de la modelación operativa

A continuación se presenta la matriz de diseño de muestreo experimental con las respuestas obtenidas en el laboratorio de alimentos LITA, para la optimización operativa del quimioacidulante, que se usó como aditivo para la estabilización del embutido a base de pulpa de pescado.

Tabla 08. Matriz de diseño de muestreo experimental para la optimización operativa

Tratamientos	Variables experimentales			Variables respuestas			
	AF	X ₂	X ₃	pH	CE	TDS	POR
	X ₁			Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄
1	0,49	0,24	0,2	1,59	687,00	344	169
1	0,60	0,35	0,35	2,00	664,00	332	47
1	0,42	0,42	0,42	1,85	450,00	225	59
1	0,38	0,20	0,38	2,45	738,00	363	51
1	0,56	0,56	0,49	2,63	442,00	217	12
1	0,31	0,6	0,27	2,90	365,00	180	-8
1	0,24	0,38	0,31	3,07	482,00	238	-19
1	0,20	0,53	0,45	3,33	248,00	123	-53
1	0,53	0,27	0,56	2,74	506,00	253	20
1	0,27	0,31	0,53	3,20	375,00	189	-27
1	0,46	0,46	0,24	2,98	630,00	313	-15
2	0,35	0,49	0,60	3,11	245,00	122	-10
2	0,49	0,24	0,20	1,59	701,90	344	169
2	0,60	0,35	0,35	2,00	636,69	332	47
2	0,42	0,42	0,42	1,85	476,17	225	59
2	0,38	0,20	0,38	2,45	725,61	363	51
2	0,56	0,56	0,49	2,63	449,64	217	12
2	0,31	0,60	0,27	2,90	357,73	180	-8
2	0,24	0,38	0,31	3,07	468,75	238	-19
2	0,20	0,53	0,45	3,33	260,39	123	-53
2	0,53	0,27	0,56	2,74	516,19	253	20
2	0,27	0,31	0,53	3,20	381,54	189	-27
2	0,46	0,46	0,24	2,98	634,33	313	-15
2	0,35	0,49	0,60	3,11	223,05	122	-10

Fuente: Luque (2022)

Análisis de Regresión Screening Ridge para el ajuste de modelos lineales múltiples cuadráticos y de interacción de alto orden, usando el modulo “Regresión Screening Ridge” del programa SAS JMP. En lo siguiente se presenta la selección de los términos más significativos para el modelo de regresión de cada respuesta, así como su calidad de ajuste. Los términos resaltados en negrilla, son los términos más significativos del modelo en explicar la variabilidad de la respuesta.

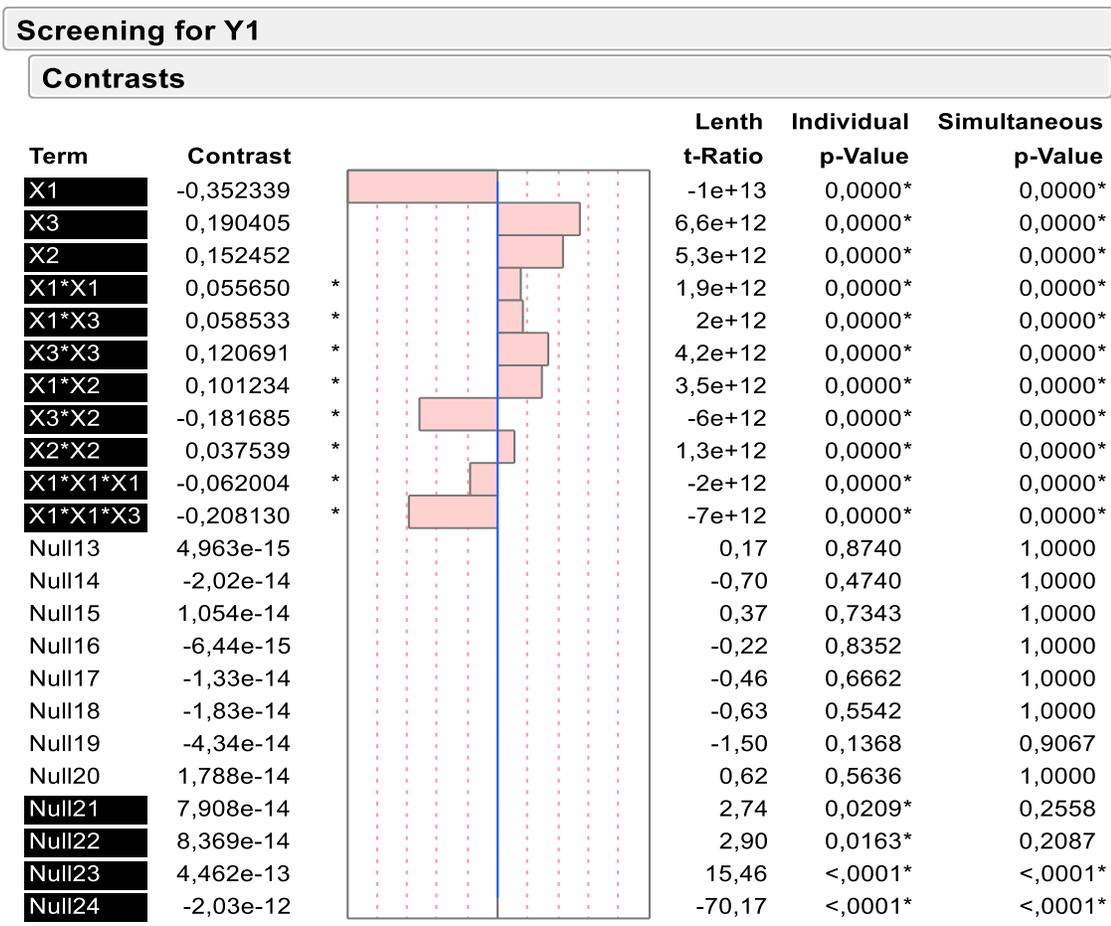


Figura 41. Términos y análisis del modelo para la respuesta Y1: pH

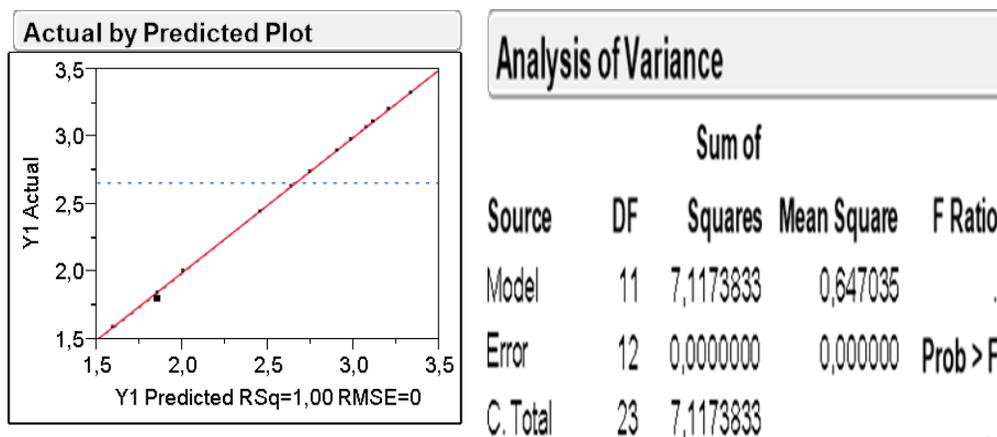


Figura 42. Bondad de ajuste del modelo de predicción para la variable respuesta Y1: pH

Modelo de predicción para la variable respuesta Y₁: pH

$$pH = -15,77 + 23,65 X_1 + 16,05 X_3 + 224 X_2 + (X_1 - 0,40) * ((X_1 - 0,40) * 42,88) + (X_1 - 0,40) * ((X_3 - 0,4) * (-56,87) + (X_3 - 0,4) * ((X_3 - 0,4) * 21,96) + (X_1 - 0,40) * ((X_2 - 0,40) * 63,00 + (X_3 - 0,4) * (X_2 - 0,40) * (-77.4937030569434) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * 67,18) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (-896,37) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-1309,82))$$

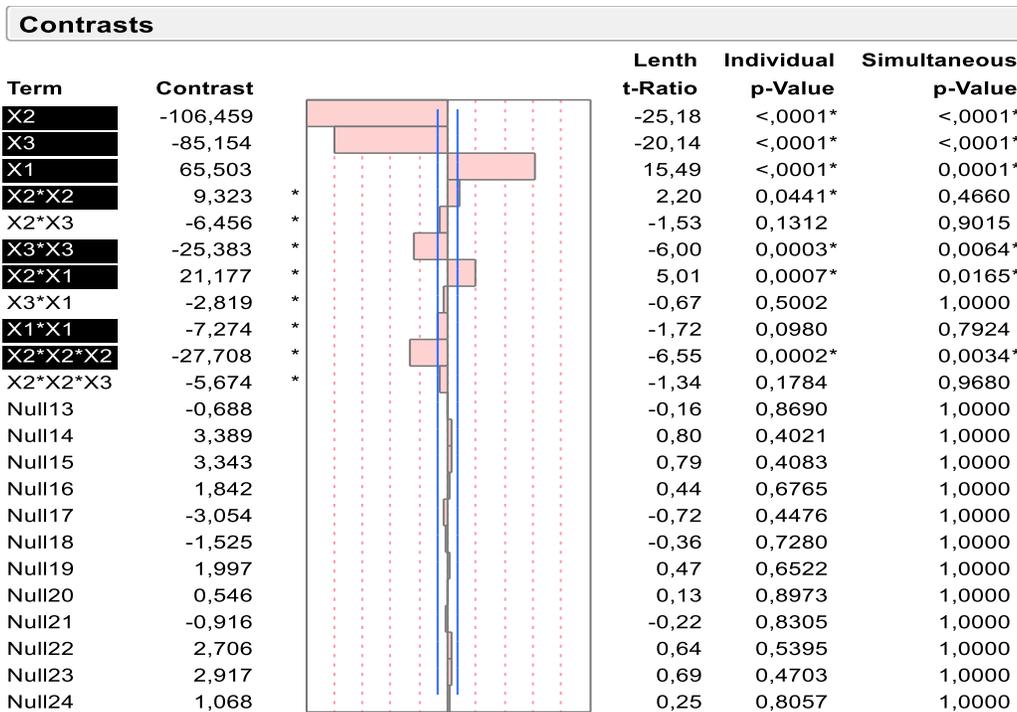


Figura 43. Términos y análisis del modelo para la respuesta Y₂: conductividad eléctrica (CE)

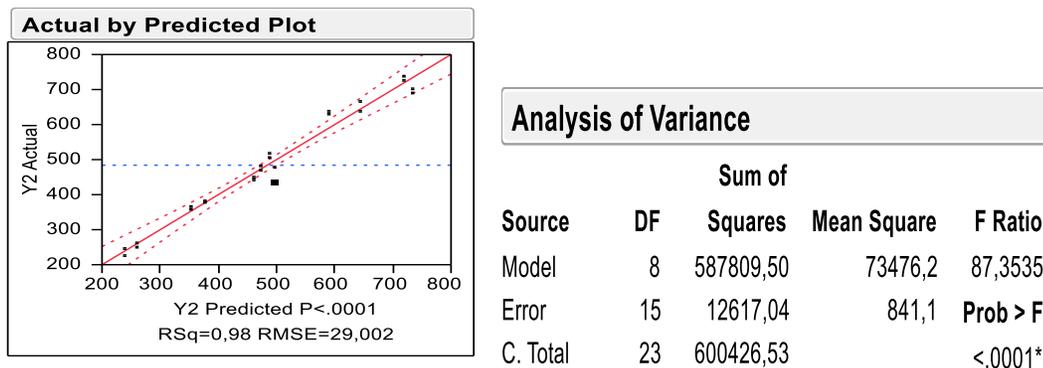


Figura 44. Bondad de ajuste para modelo de predicción para la variable respuesta Y₂

Modelo de predicción para la variable respuesta Y₂: conductividad eléctrica (CE)

$$CE = 446,99 + 126,27 * X_2 + (-658,78) * X_3 + 581,25 * X_1 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (636,91) + (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-2283,79) + (X_3 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-440,81) + (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 2037,19 + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 1428,24 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (-31480,52) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-5838,38)$$

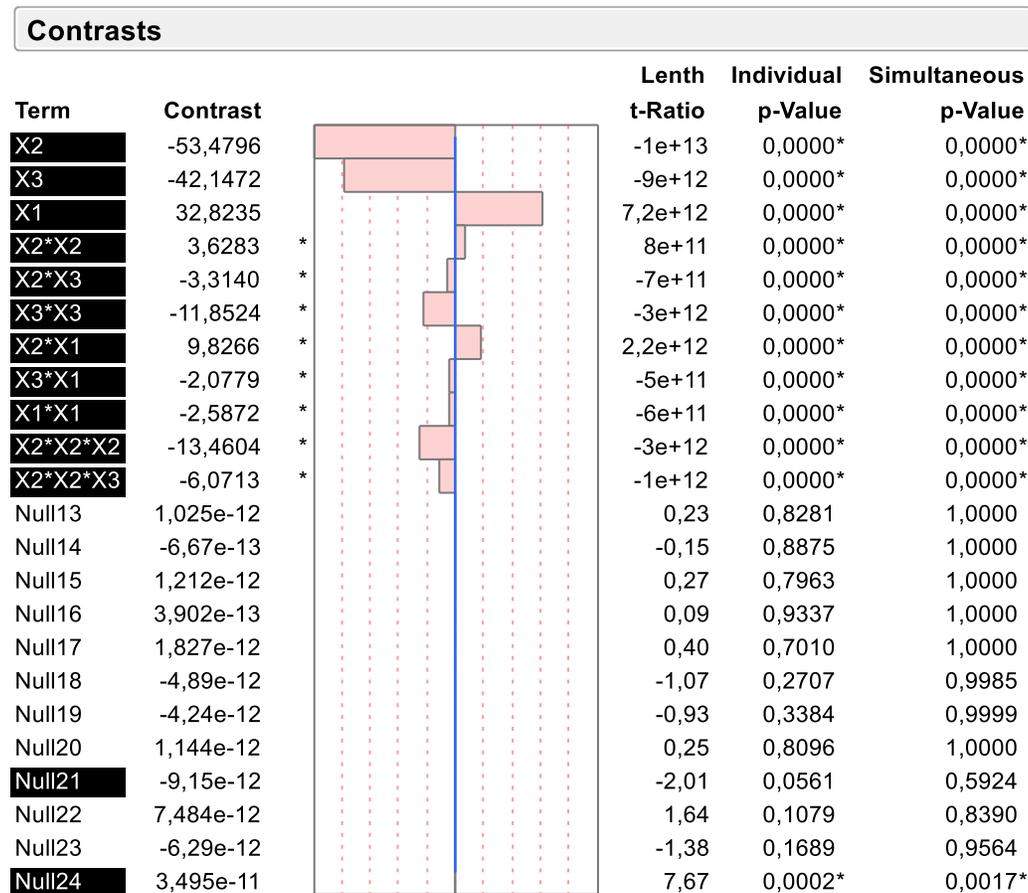


Figura 45. Términos/análisis del modelo de la respuesta Y₃: sólidos disueltos totales (SDT)

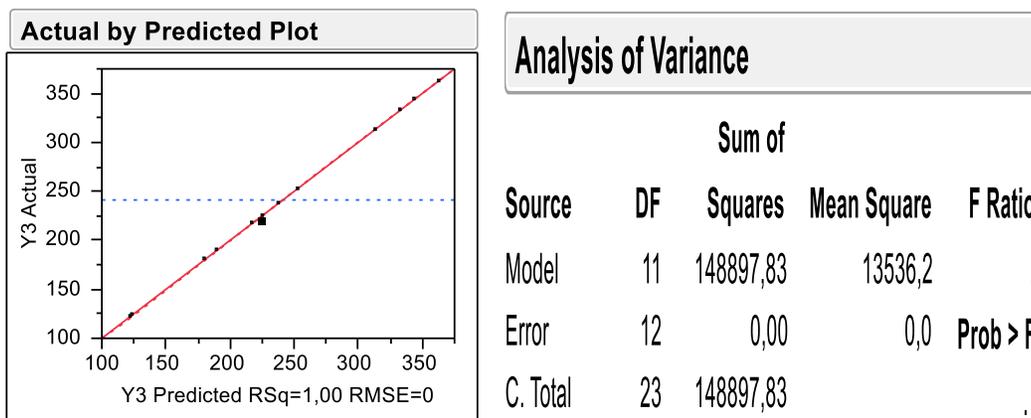


Figura 46. Bondad de ajuste para el modelo de predicci3n para la variable respuesta Y₃

Modelo de predicci3n para la variable respuesta Y₃:s3lidos disueltos totales (SDT)

$$Y_3 = (-202,75) + 635,51 * X_2 + 27,64 * X_3 + 353,75 * X_1 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (-1317,70) + (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-2588,77) + (X_3 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * 607,78 + (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (2262,70) + (X_3 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (1136,29) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 3116,17 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (-39358,57) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-33363,82)$$

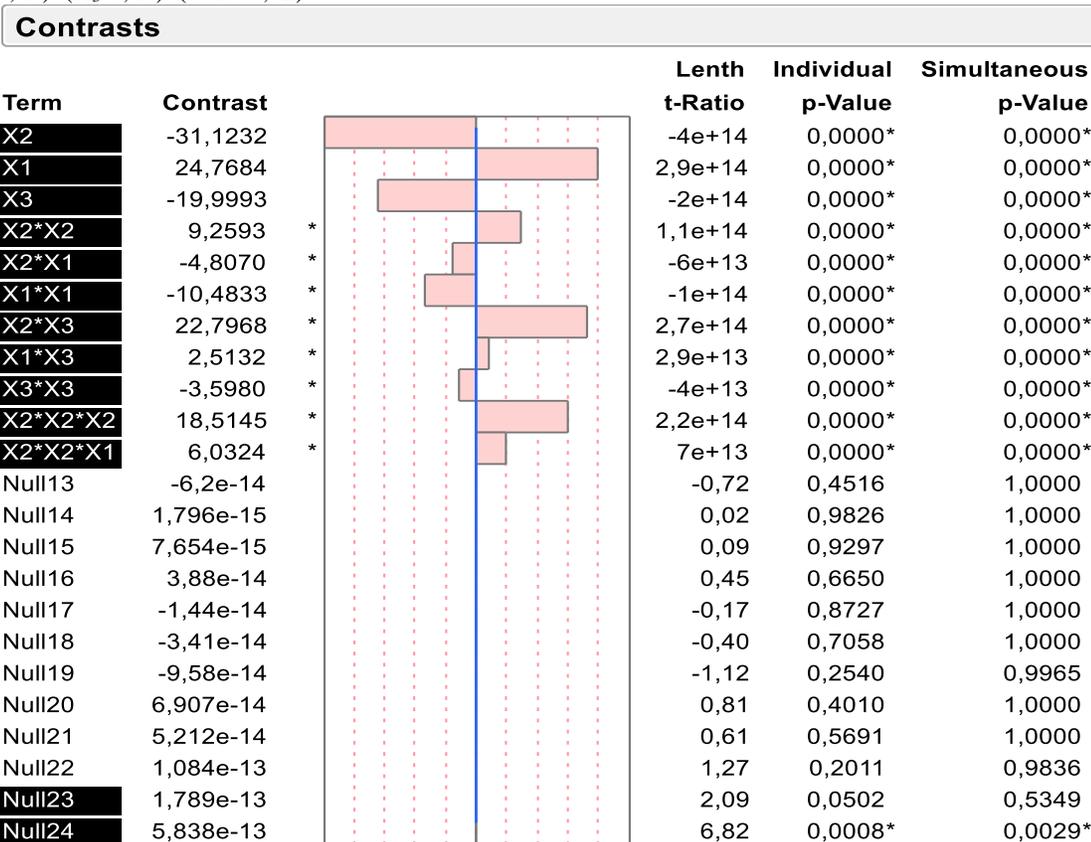


Figura 47. T3rminos/an3lisis del modelo para respuesta Y₄: potencial 3xido-reducci3n (POR)

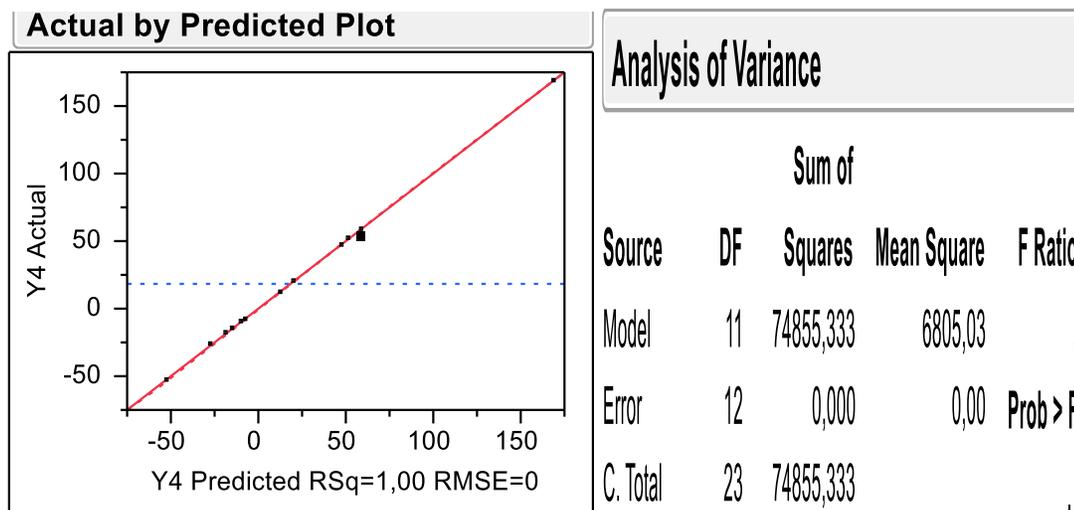


Figura 48. Bondad de ajuste para el modelo de predicción para la variable respuesta Y₄

Modelo de predicción para la variable respuesta Y₄: potencial óxido/reducción (POR)

$$Y_4 = 301,40 + (-569,049) * X_2 + 63,75 * X_1 + (-68,30 * X_3) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * 540,94 + (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (-1909,97) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (-2620,42) + (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * 2152,94 + (X_1 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-845,49) + (X_3 - 0,4) * (X_3 - 0,4) * (-1860,24) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * 17792,18 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 13068,19$$

Metamodelo del quimioacidulante (QMAO)

$$\text{pH} = -15,77 + 23,65 X_1 + 16,05 X_3 + 224 X_2 + (X_1 - 0,40) * ((X_1 - 0,40) * 42,88) + (X_1 - 0,40) * ((X_3 - 0,4) * (-56,87) + (X_3 - 0,4) * ((X_3 - 0,4) * 21,96) + (X_1 - 0,40) * ((X_2 - 0,40) * 63,00 + (X_3 - 0,4) * (X_2 - 0,40) * (-77,4937030569434) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * 67,18) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (-896,37) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-1309,82))$$

$$\text{CE} = 446,99 + 126,27 * X_2 + (-658,78) * X_3 + 581,25 * X_1 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (636,91) + (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-2283,79) + (X_3 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-440,81) + (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 2037,19 + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 1428,24 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (-31480,52) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-5838,38)$$

$$\text{SDT} = (-202,75) + 635,51 * X_2 + 27,64 * X_3 + 353,75 * X_1 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (-1317,70) + (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-2588,77) + (X_3 - 0,4) * (X_3 - 0,4) * 607,78 + (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (2262,70) + (X_3 - 0,4) * (X_1 - 0,40) * (1136,29) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 3116,17 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (-39358,57) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,40) * (-33363,82)$$

$$\text{POR} = 301,40 + (-569,049) * X_2 + 63,75 * X_1 + (-68,30 * X_3) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * 540,94 + (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (-1909,97) + (X_1 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * (-2620,42) + (X_2 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * 2152,94 + (X_1 - 0,40) * (X_3 - 0,4) * (-845,49) + (X_3 - 0,4) * (X_3 - 0,4) * (-1860,24) + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * 17792,18 + (X_2 - 0,40) * (X_2 - 0,40) * (X_1 - 0,40) * 13068,19$$

En los resultados anteriores se muestra que los modelos construidos tienen alta bondad de ajuste y muy bajo sesgo.

En la siguiente tabla 10, se presenta la fórmula o modelos encriptados en las columnas de la hoja de cálculo del simulador para uso en la optimización operativa

Tabla 10. Fórmula encriptada para la optimización de las variables respuestas

Variables experimentales			Fórmulas encriptadas de las respuestas			
AF	GDL	AL	pH	CE	SDT	POR
X1	X2	X3	Formula Y ₁	Formula Y ₂	Formula Y ₃	Formula Y ₄
0,49	0,24	0,20	1,59	699,05	344,00	169,00
0,60	0,35	0,35	2,00	645,02	332,00	47,00
0,42	0,42	0,42	1,85	467,66	225,00	59,00
0,38	0,20	0,38	2,45	727,98	363,00	51,00
0,56	0,56	0,49	2,63	447,79	217,00	12,00
0,31	0,60	0,27	2,9	358,35	180,00	-8,00
0,24	0,38	0,31	3,07	466,96	238,00	-19,00
0,20	0,53	0,45	3,33	260,54	123,00	-53,00
0,53	0,27	0,56	2,74	511,57	253,00	20,00
0,27	0,31	0,53	3,20	384,68	189,00	-27,00
0,46	0,46	0,24	2,98	635,79	313,00	-15,00
0,35	0,49	0,60	3,11	226,59	122,00	-10,00
0,49	0,24	0,20	1,59	699,05	344,00	169,00
0,60	0,35	0,35	2,00	645,02	332,00	47,00
0,42	0,42	0,42	1,85	467,66	225,00	59,00
0,38	0,20	0,38	2,45	727,98	363,00	51,00
0,56	0,56	0,49	2,63	447,79	217,00	12,00
0,31	0,6	0,27	2,90	358,35	180,00	-8,00
0,24	0,38	0,31	3,07	466,96	238,00	-19,00
0,20	0,53	0,45	3,33	260,54	123,00	-53,00
0,53	0,27	0,56	2,74	511,57	253,00	20,00
0,27	0,31	0,53	3,20	384,68	189,00	-27,00
0,46	0,46	0,24	2,98	635,79	313,00	-15,00
0,35	0,49	0,60	3,11	226,59	122,00	-10,00

Fuente: Luque 2022

En la siguiente figura 49, se muestra el resultado de la optimización operativa

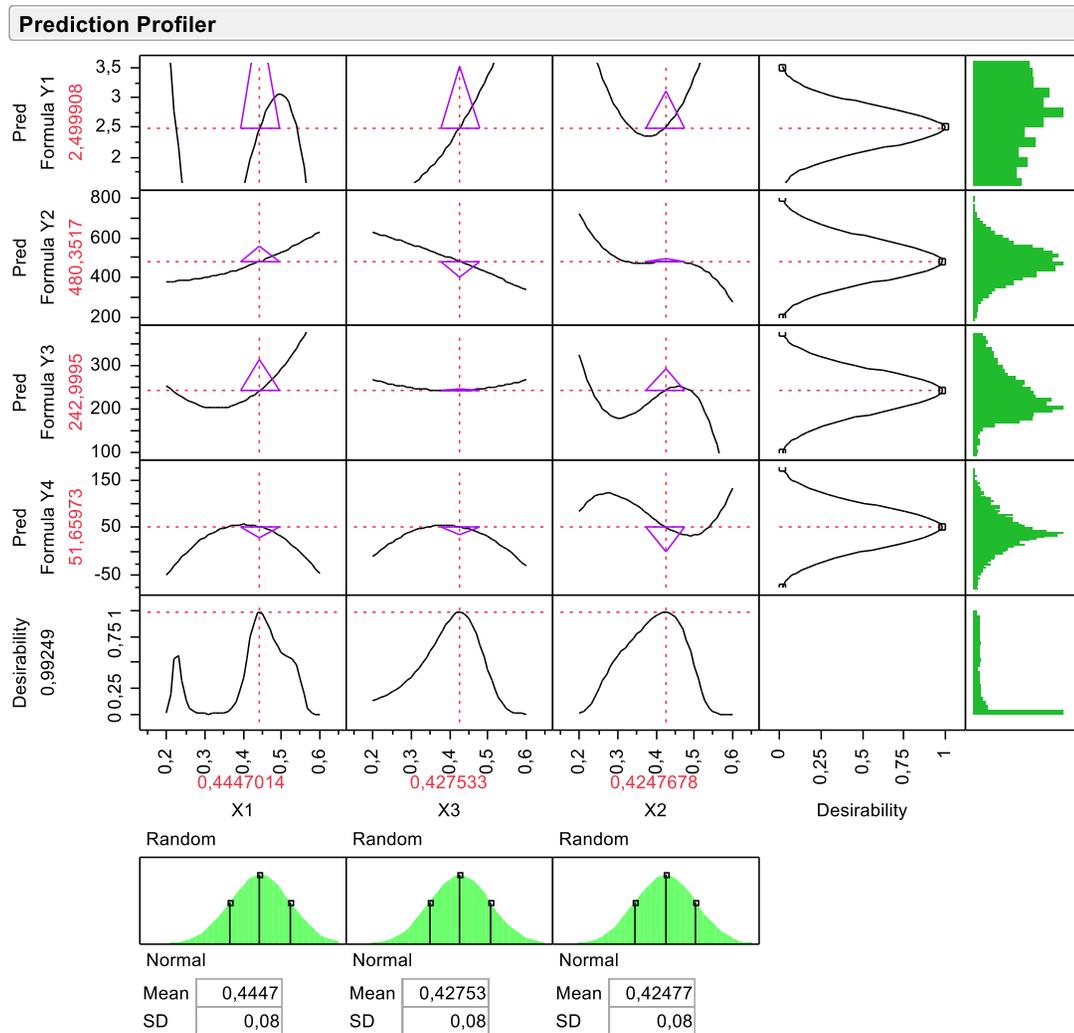


Figura 49. Interfaz del simulador de optimización operativa multifactor-multirespuesta, con un ajuste de 99,25 %.

Los resultados de simulación determinística indican que una mezcla de 44,47 de X1, 42,75 de X2 y 42,48 de X3, se obtiene una mezcla con las siguientes características. Y1 de 2,5, Y2 de 480,35, Y3 de 243 y Y4 de 51,66.

Donde la validación de la mezcla en laboratorio se corroboró su validez estadística.

Y1 de 2,7, Y2 de 476,35, Y3 de 251 y Y4 de 49,50.

Desde el punto de vista económico y ambiental es recomendable reducir el uso de al menos el ácido fórmico, entonces recomendando el simulador a dosis bajas de ácido fórmico, se obtiene una segunda alternativa de mezcla.

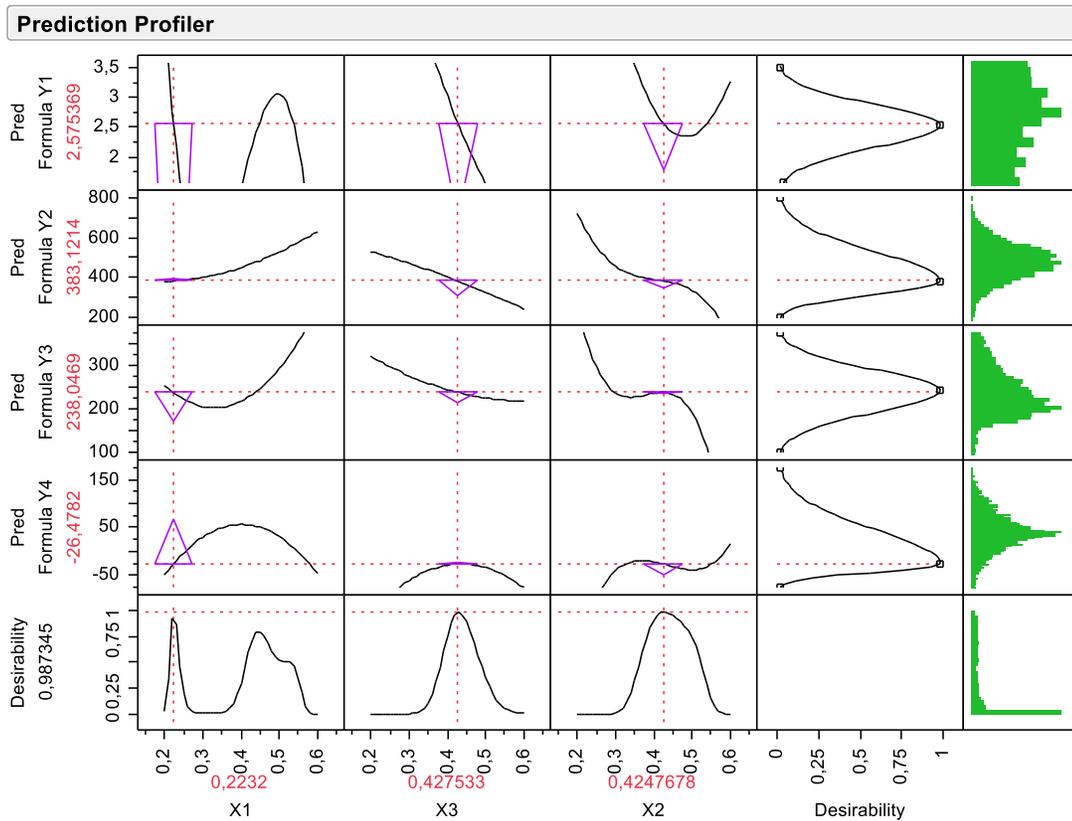


Figura 50. Interfaz del simulador de optimización operativa multifactor-multirespuesta, de una segunda alternativa del químico acidulante, con un ajuste de 98,73 %.

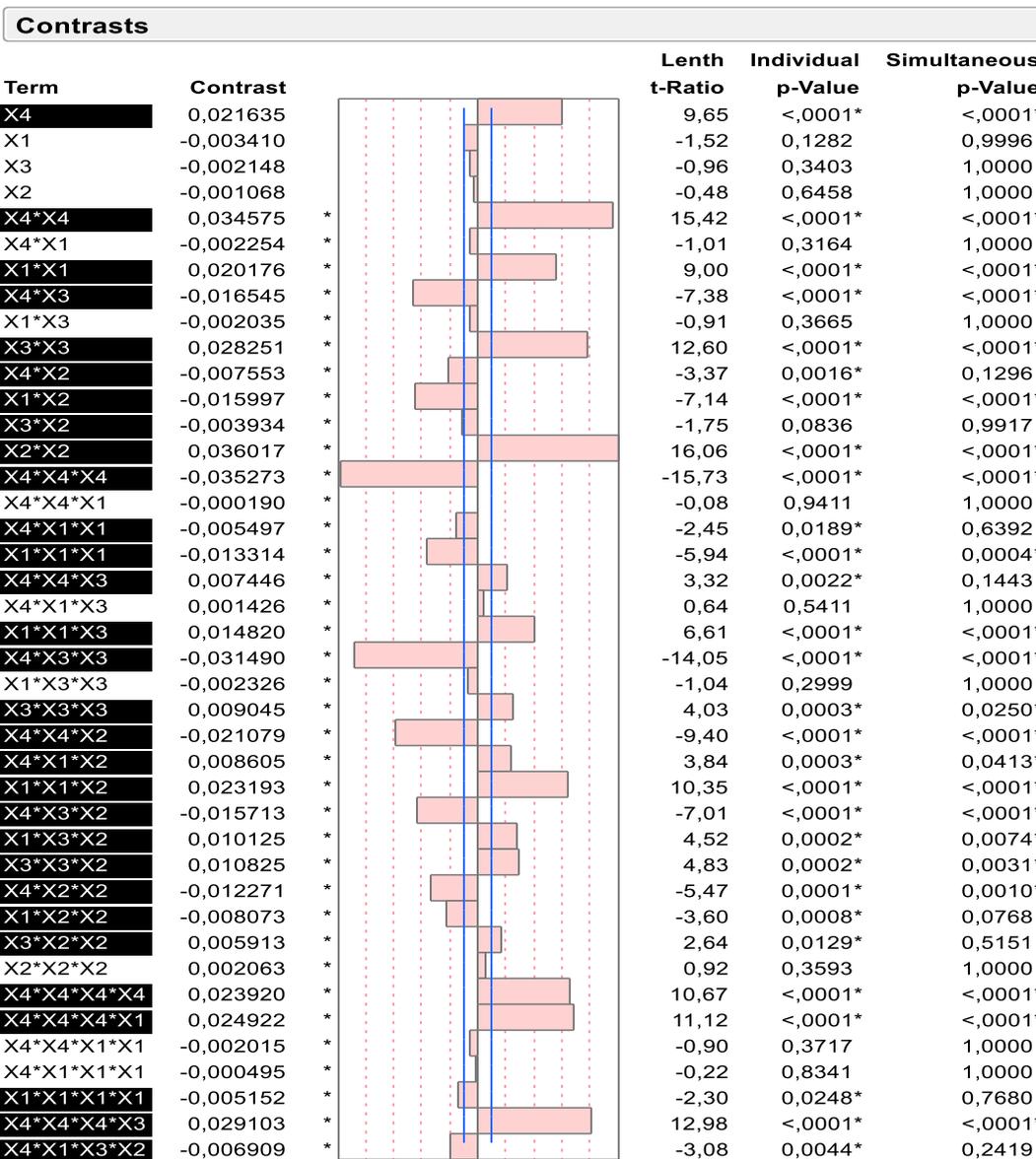


Figura 51. Análisis multivariado de varianza F, para la respuesta Y₁ (pH)
Fuente: Luque (2022)

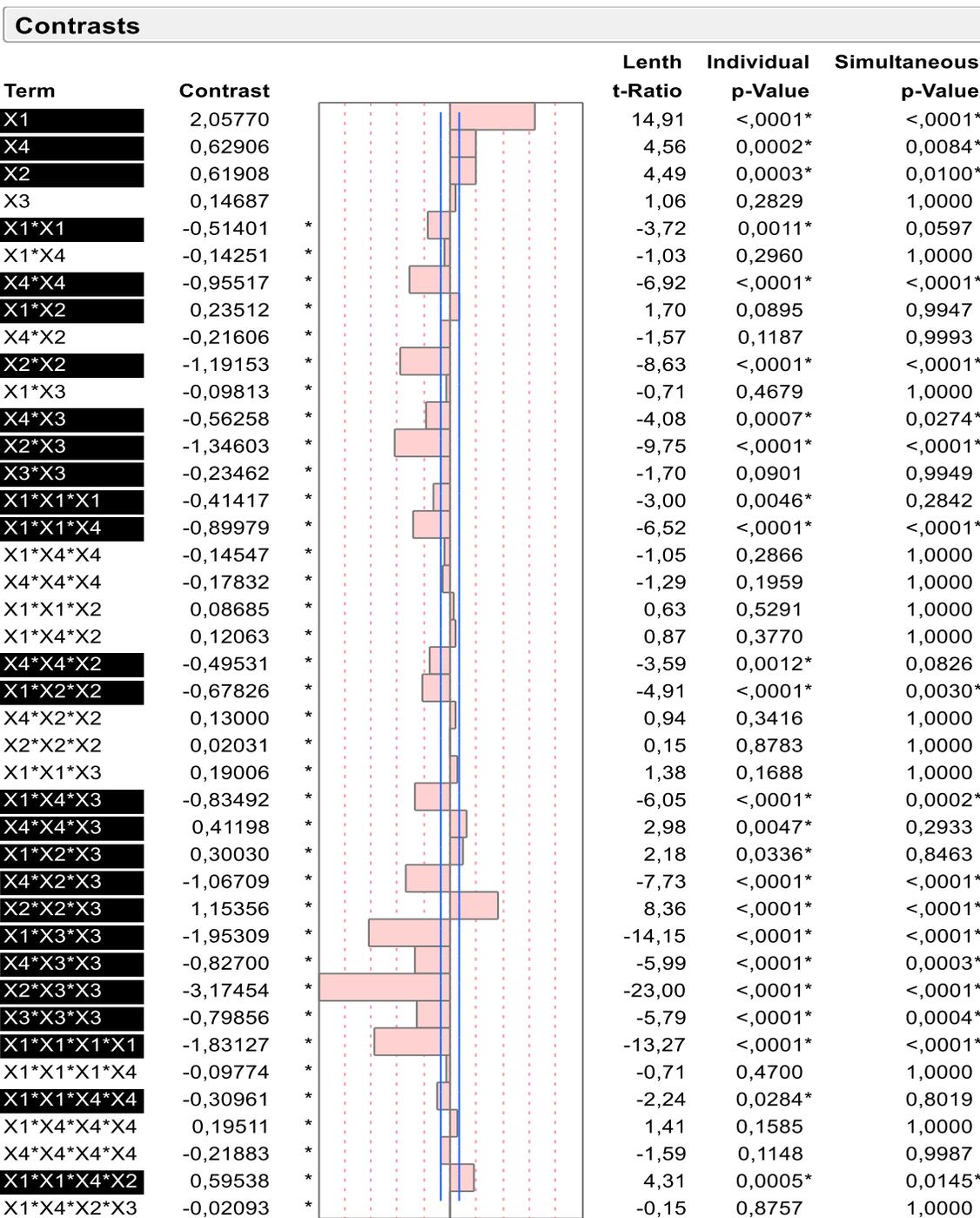


Figura 52. Análisis multivariado de varianza F, para la respuesta Y₂ (POR)
Fuente: Luque (2022)

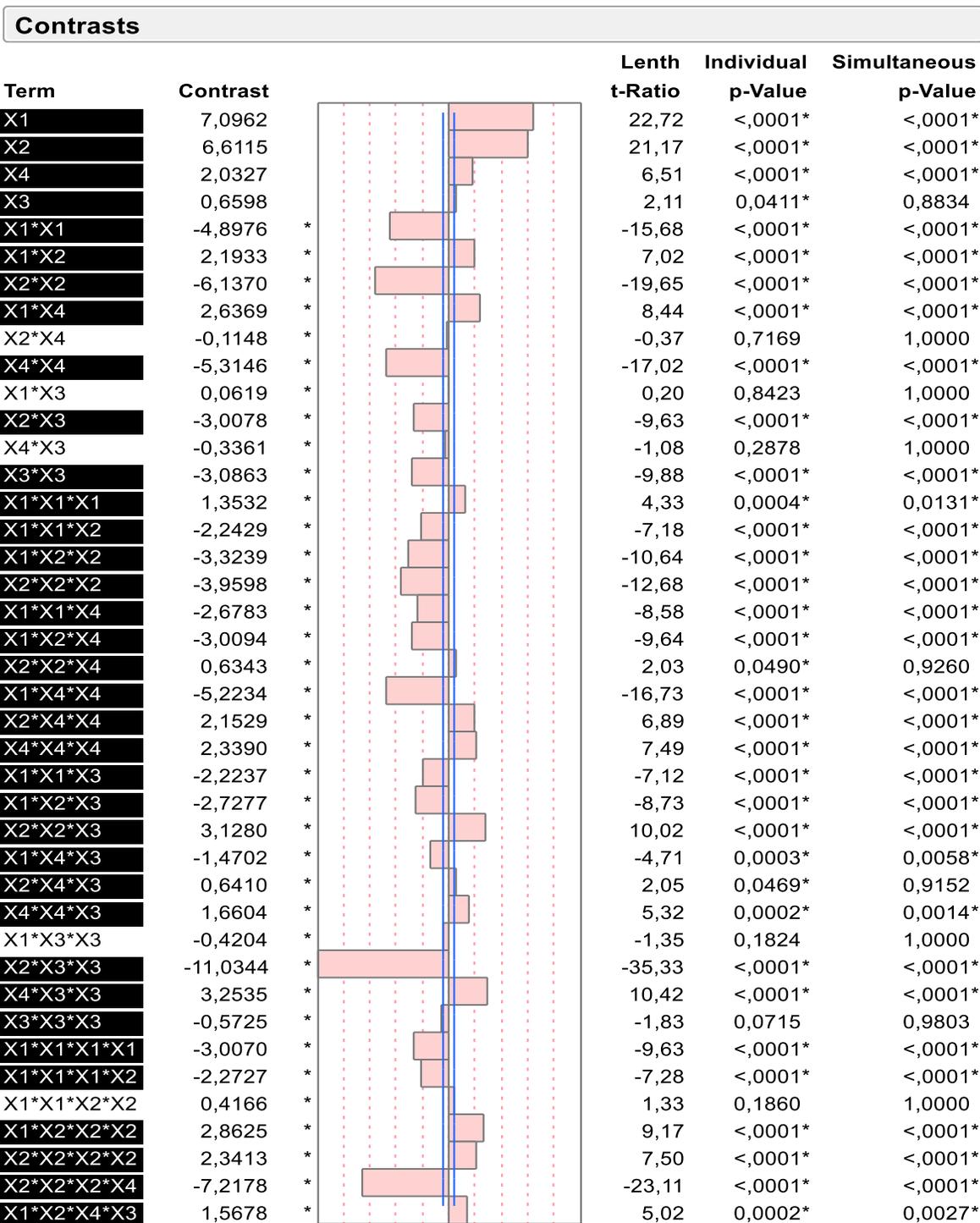


Figura 53. Análisis multivariado de varianza F, para la respuesta Y₃ (CB)
Fuente: Luque (2022)

Los ítems anteriores resaltados en negrilla significan aquellos términos (unidades de producto del modelo) que tienen mayor influencia en la respuesta medida. Por ello, en la tabla 6, se muestran los términos u unidades de producto seleccionados para cada uno de los modelos. Son cuatro ecuaciones que conformaran el metamodelo de simulación.

Tabla 11. Términos optimizados por Análisis de Regresión Screening Ridge requeridos para ajustar los modelos lineales múltiples aditivos de alto orden

Términos del modelo para cada respuestas medida de la mezcla de ácidos			
Y1: pH	Y2: POR	Y3: CB	Y4: ATT
X4	X1	X1	X4
X1	X4	X2	X3
X3	X2	X4	X1
X2	X3	X3	X2
X4*X4	X1*X1	X1*X1	X4*X4
X4*X1	X1*X4	X1*X2	X4*X3
X1*X1	X4*X4	X2*X2	X3*X3
X4*X3	X1*X2	X1*X4	X4*X1
X1*X3	X4*X2	X2*X4	X3*X1
X3*X3	X2*X2	X4*X4	X1*X1
X4*X2	X1*X3	X1*X3	X4*X2
X1*X2	X4*X3	X2*X3	X3*X2
X3*X2	X2*X3	X4*X3	X1*X2
X2*X2	X3*X3	X3*X3	X2*X2
X4*X4*X4	X1*X1*X1	X1*X1*X1	X4*X4*X4
X4*X4*X1	X1*X1*X4	X1*X1*X2	X4*X4*X3
X4*X1*X1	X1*X4*X4	X1*X2*X2	X4*X3*X3
X1*X1*X1	X4*X4*X4	X2*X2*X2	X3*X3*X3
X4*X4*X3	X1*X1*X2	X1*X1*X4	X4*X4*X1
X4*X1*X3	X1*X4*X2	X1*X2*X4	X4*X3*X1
X1*X1*X3	X4*X4*X2	X2*X2*X4	X3*X3*X1
X4*X3*X3	X1*X2*X2	X1*X4*X4	X4*X1*X1
X1*X3*X3	X4*X2*X2	X2*X4*X4	X3*X1*X1
X3*X3*X3	X2*X2*X2	X4*X4*X4	X1*X1*X1
X4*X4*X2	X1*X1*X3	X1*X1*X3	X4*X4*X2
X4*X1*X2	X1*X4*X3	X1*X2*X3	X4*X3*X2
X1*X1*X2	X4*X4*X3	X2*X2*X3	X3*X3*X2
X4*X3*X2	X1*X2*X3	X1*X4*X3	X4*X1*X2
X1*X3*X2	X4*X2*X3	X2*X4*X3	X3*X1*X2
X3*X3*X2	X2*X2*X3	X4*X4*X3	X1*X1*X2
X4*X2*X2	X1*X3*X3	X1*X3*X3	X4*X2*X2
X1*X2*X2	X4*X3*X3	X2*X3*X3	X3*X2*X2
X3*X2*X2	X2*X3*X3	X4*X3*X3	X1*X2*X2
X2*X2*X2	X3*X3*X3	X3*X3*X3	X2*X2*X2
X4*X4*X4*X4	X1*X1*X1*X1	X1*X1*X1*X1	X4*X4*X4*X4
X4*X4*X4*X1	X1*X1*X1*X4	X1*X1*X1*X2	X4*X4*X4*X3
X4*X4*X1*X1	X1*X1*X4*X4	X1*X1*X2*X2	X4*X4*X3*X3
X4*X1*X1*X1	X1*X4*X4*X4	X1*X2*X2*X2	X4*X3*X3*X3
X1*X1*X1*X1	X4*X4*X4*X4	X2*X2*X2*X2	X3*X3*X3*X3
X4*X4*X4*X3	X1*X1*X4*X2	X2*X2*X2*X4	X4*X4*X4*X1
X4*X1*X3*X2	X1*X4*X2*X3	X1*X2*X4*X3	X4*X3*X1*X2

Fuente: Luque (2022)

La bondad de ajuste de los modelos se muestra a continuación, las gráficas de valores medidos contra valores predichos y su coeficiente de regresión R^2 (figura 31). Deduciéndose de estas que los modelos tienen excelente bondad de ajuste.

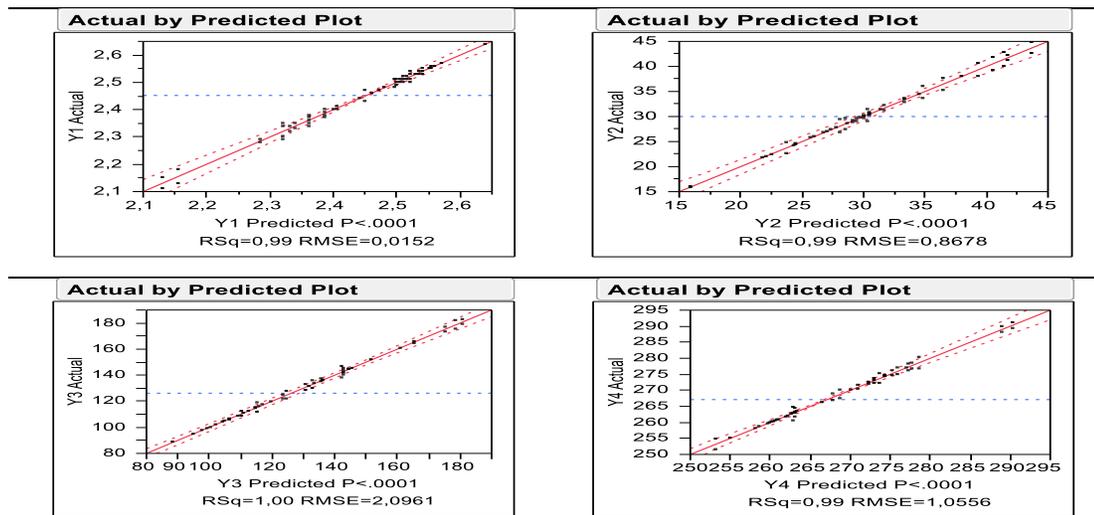


Figura 54. Gráfico bondad de ajuste para los modelos lineales aditivos y de alto orden. Fuente: Luque (2022)

Los resultados de la validación en laboratorio, de la capacidad predictoras de los modelos ensayados, indican que estos son muy buenos para emular el proceso de crear acidulantes con mezclas de ácidos.

Todas las mezclas producen respuestas muy parecidas; sin embargo, el modelo lineal aditivo de alto orden, predijo la mezcla más económica.

4.3. Resultados y discusiones

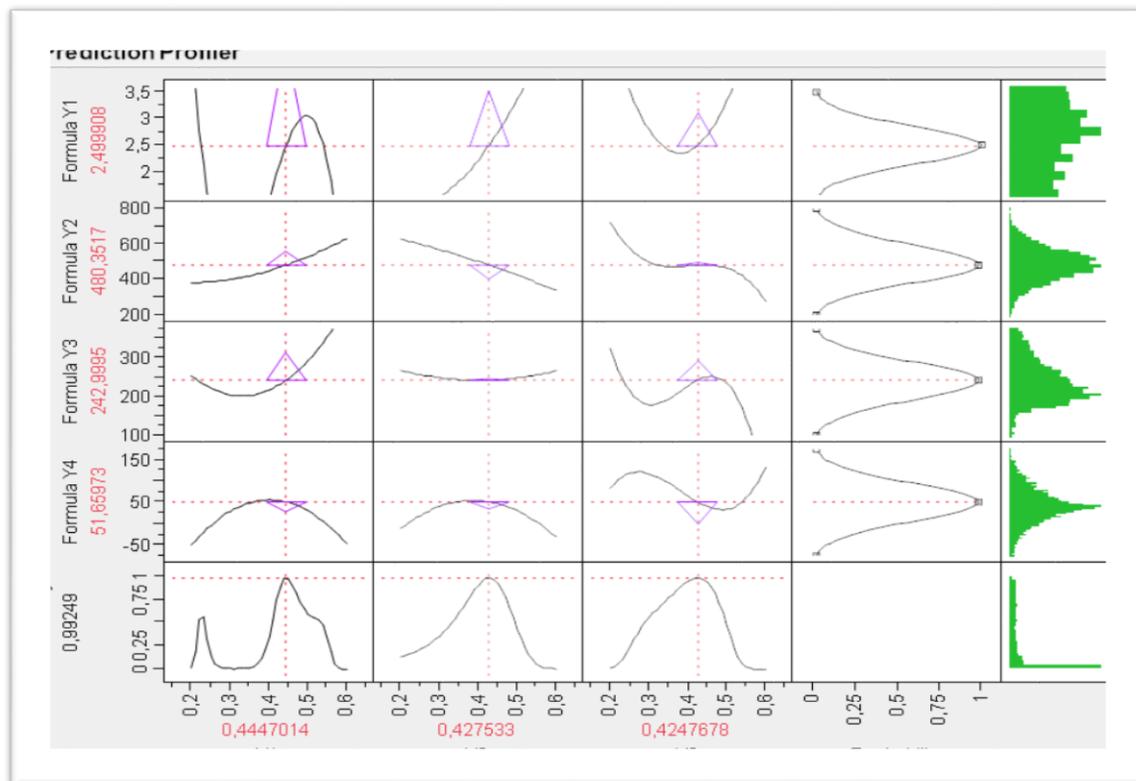


Figura 55. Valores óptimos determinístico de los factores y las respuestas
Fuente: Luque (2022)

4.3.1. Valores óptimos determinísticos de los factores y las respuestas

Variables independientes

X_1 , Ácido fórmico: 0,4447014.

X_2 , Ácido láctico: 0,4247678.

X_3 , GDL: 0,427533

Variables dependientes

Y_1 : 2,499908

Y_2 : 480,3517

Y_3 : 242,9995

Y_4 : 51,65973

4.3.2. Valores óptimos estocásticos de los factores y las respuestas. (Validación LITA)

Variables independientes

X_1 , Ácido fórmico: 0,4447014.

X_2 , Ácido láctico: 0,4247678.

X_3 , GDL: 0,427533

Variables dependientes

Y_1 : 2,52

Y_2 : 478

Y_3 : 245

Y_4 : (+) 54

4.3.3. Variable alternativa económico-ambiental

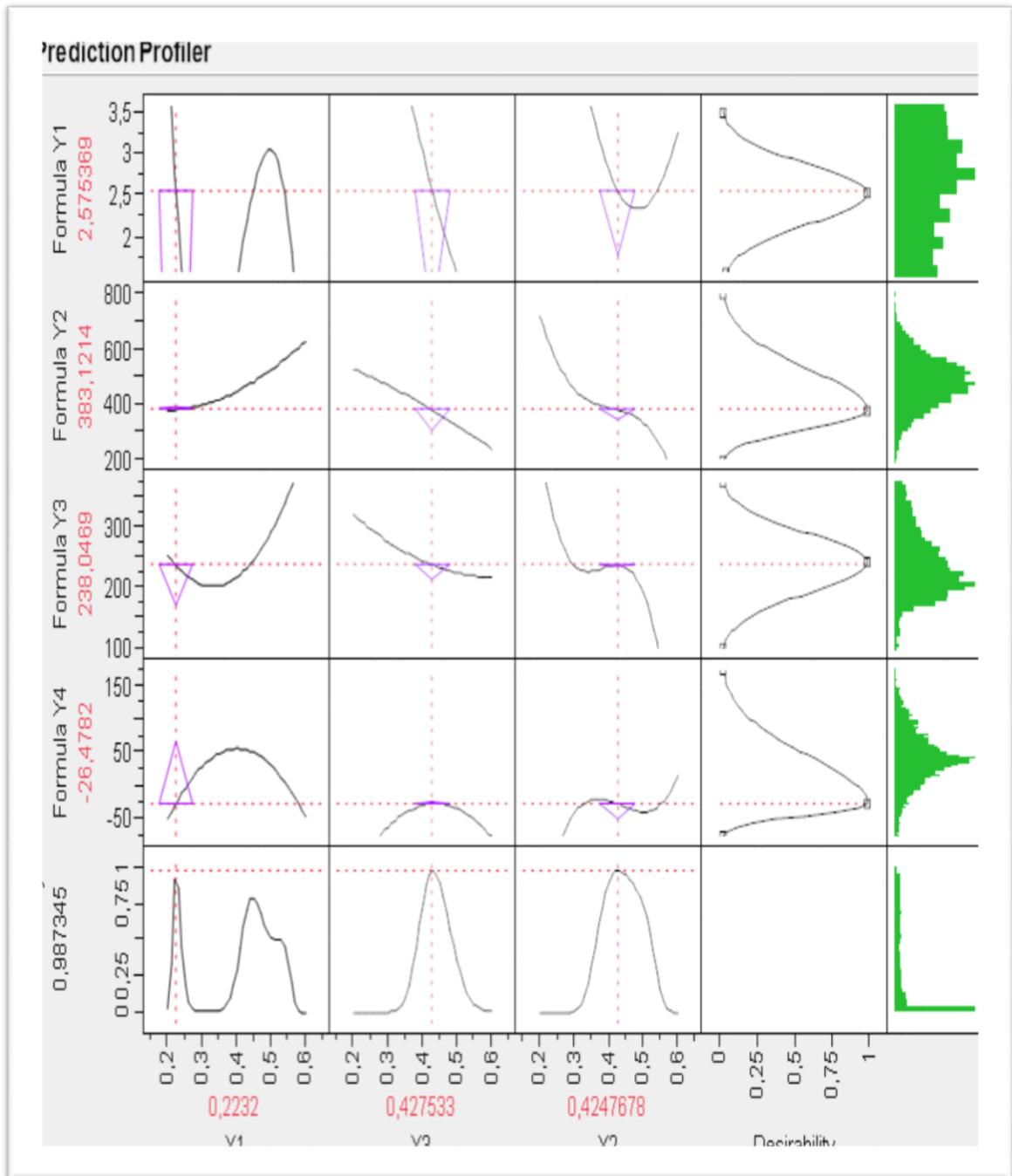


Figura 56. Valores óptimos determinístico de los factores y las respuestas. Variable alternativa económico-ambiental

Fuente: Luque (2022)

4.3.4. Valores óptimos determinísticos de los factores y las respuestas. (Alternativa 02, PC)

Variables independientes	Variables dependientes
X ₁ , Àcido fòrmico: 0,2232000	Y ₁ : 2,575369
X ₂ , Àcido làctico: 0,4247678	Y ₂ : 383,1214
X ₃ , GDL: 0,427533	Y ₃ : 238,0469
	Y ₄ : -26,4782

4.3.5. Valores óptimos estocásticos de los factores y las respuestas. (Alternativa 02, LITA)

Variables independientes	Variables dependientes
X ₁ , Àcido fòrmico: 0,4447014.	Y ₁ : 2,65
X ₂ , Àcido làctico: 0,4247678.	Y ₂ : 408
X ₃ , GDL: 0,427533	Y ₃ : 245
	Y ₄ : (-) 20

4.3.6. Validación del quimioacidulante creado para el embutido genérico



Figura 57. Validación del quimioacidulante creado para el embutido genérico

4.4. Resultados y discusiones



Figura 58. Validación del quimioacidulante creado para el embutido genérico



Figura 59. Seguimiento de variables indicadoras de cambios microbiológicos



Figura 60. Almacenamiento a condiciones ambientales durante veinte días (20 días)

4.5. CONCLUSIONES

1. La tecnología diseñada en la investigación (fórmula y esquema tecnológico), permitió obtener un embutido genérico a base de pulpa de cachama, como un producto innovador, apto para consumo humano

2. La metodología de optimización, vía simulación usada incluyó: el diseño de muestreo estadístico experimental Space filling (algoritmo D-optimal HL), la modelación “Screening Ridge” de mínimos cuadrados ordinarios matriciales y la optimización multifactorial-multiobjetivo, con reglas de deseabilidad difusas; permiten en forma versátil optimizar procesos en el área de alimentos

3. La tecnología de obtención de un quimioacidulante (mezcla de ácidos orgánicos), permitió estabilizar biológicamente el embutido genérico a base de pulpa de cachama, almacenado al ambiente sin refrigeración

4.6. RECOMENDACIONES

1. Aplicar la tecnología diseñada en el uso de pulpa de pescado, en otras especies de aguas continentales
2. Usar los diseños de muestreo estadístico experimental Space filling (algoritmo D-optimal HL); dada su robustez
3. Usar la modelación “Regresión Screening Ridge” de mínimos cuadrados ordinarios matriciales, dada su bajo sesgo, baja varianza y bajo ruido
4. Hacer un estudio de ingeniería robusta, para determinar el grado de ruido de cada uno de los factores estudiados
5. Usar en optimización de procesos de tecnología-ingeniería de alimentos simuladores determinísticos, asistidos con otros softwares estadísticos más avanzados
6. Diversificar el uso del quimioacidulante creado en otros derivados de pulpa de pescado, como también en otros derivados cárnicos y residuos

REFERENCIAS CONSULTADAS

- American Psychological Association (2010). Manual de Publicaciones de la American Psychological Association
- American Psychological Association (5 ed.). México, D.F., Editorial Psychological Association (6 ed.). México, D.F.: Editorial El Manual Moderno de la American Psychological Association.
- American Psychological Association (6 ed.). México, D.F.: Editorial El Manual Moderno.
- American Psychological Association, Normas APA (2002). Manual de Publicaciones de la American Psychological Association
- Amo, A. 1986. Industria de la Carne, Salazones y Chacinería. Editorial Aedos, Barcelona – España
- Anderson, M. J. and Whitcomb, P. J. 2014. Practical Aspects for Designing, 85-92.
- Área de Postgrado UNELLEZ. 2011. Líneas de investigación postgrado UNELLEZ. Áreas y líneas de investigación: Área ciencias económicas y sociales. [Documento en línea]. En: <http://www.postgradovipi.50webs.com/archivos/descargas/csceconomicas.pdf>. [Abril: 10, 2015].
- Aros, M., Cifuentes, M., Mardonez, J. 2011. Modelación, simulación y control de procesos de fermentación. Revista chilena de ingeniería.19 (2): 210-218.
- Ávila, 2013. Revalorización de residuos orgánicos usando ensilado químico y formulación de raciones balanceadas no convencionales para paces. Guía de estudio. Laboratorio UNELLEZ-VIPI
- Constitución de la República Bolivariana de Venezuela (CRB), 1999. Título VI, Del Sistema Socio Económico; Capítulo I, Del Régimen Socio Económico y la Función del Estado en la Economía, Artículo 305
- Cuenya, L., y Ruetti, E. (2010). Controversias epistemológicas y metodológicas entre el paradigma cualitativo y cuantitativo en psicología. Revista Colombiana de Psicología. 19(2) 271-277
- Deleuze Isasi, P. 1992. Código Alimentario Español y Disposiciones Complementarias. Segunda edición. Editorial Tecnos, S.A. Madrid – España.

- Deng, X., Hung, Y and Lin, C. D. (2015). Design for computer experiments with qualitative and quantitative factors. *Statistica Sinica* 25: 1567-1581
- Gil, W. y Bello, R. 1986. Caracterización y Aprovechamiento de la Cachama (*Collossoma macropomun*) en Venezuela. Seminario I de Postgrado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. UCV. Caracas–Venezuela.
- Guba, E y Lincoln, Y. (1994). Paradigmas en pugna en la investigación cualitativa. In N. Denzin e I. Lincoln, *Handbook of Qualitative Research* (pp. 105-117). London: Sage
- Gutiérrez, M. y Bello, R. 1990. Evaluación de la Calidad de Productos de Pulpa de Cachama (*Collossoma macropomun*), durante su Almacenamiento en Congelación. Trabajo de Grado. Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos, U.C.V. Caracas-Venezuela.
- Hernández, S. R., Fernández, C. C., y Baptista, L. M. 2010. Metodología de la investigación. McGraw-Hill. 5ta Ed. México. 656 p.
- Hernández, S. R., Fernández, C. C., y Baptista, L. M. 2010. Metodología de la investigación. McGraw-Hill. 5ta Ed. México. 656 p.
- Hui, Y; Guerrero, I y Rosmini, M., 2006. Ciencia y Tecnología de Carnes. Editorial Limusa, D.F México
- Hurtado, N. 1996. Manejo del Cultivo de la Cachama “I”. Ediciones Aguacampo. Cojedes Venezuela.
- Johnson, T. R., Montgomery, C. D., Jones, B. and Parker, A. P. 2010. Comparing Computer Experiments for Fitting High-order Polinomial Metamodels. *Journal of Quality Technology*.42(1): 86-102.
- Kodaira, M. (1995). Cambios Postmortem y Manipulación de Pescado Fresco. Ponencia presentada en el Curso: “Tecnología Postcosecha de Pescados de Aguas Continentales. San Carlos - Estado Cojedes, UNELLEZ-UCV.
- Kuhn, M. 2014. The desirability Package. [Artículo en línea]. Disponible en: <http://cran.r-project.org/web/packages/desirability/vignettes/desirability.pdf>
- Kujawski, E. 2014. Interaction Effects in the Design of Computer Simulation Experiments for Architecting Systems-of-Systems. *Systems Engineering*. 17(4): 426–441.

- Laurenco, L. 1993. Aprovechamiento de la Cachama (*Colossoma macropomun*), Cultivada para la Elaboración de Productos Emulsificados. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, UCV, Caracas.
- Lee, Y. L., Cesario, T., Owens, J., Shanbrom, E. y Thrupp, L.D. (2002). Antibacterial activity of citrate and acetate. *Journal of Nutrition* 18: 665-666.
- Luque, M. A. 2012. Elaboración de ensilado químico, obtenido y conservado con ácido fórmico; usando residuos generados en el proceso de despulpado mecánico de la cachama híbrido, (*Colossoma x Piaractus*). Trabajo de ascenso. UNELLEZ-VIPI. San Carlos-Cojedes.
- Machín, D.H. 1986. The use of formic acid preserved meat and fish offal silages in pig and poultry feeding. PhD Thesis, Reading University. 221 p.
- MathWorks, 2014. Optimization Toolbox. R2014b For Use with MATLAB®, MATLAB, USA. En <http://www.mathworks.com/>
- Metodología de la Investigación. 1ª Edición. Mcgraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. México, D.F.
- Mieres, A. 1991. Formulación de un Producto Congelado a Base de Mezcla de Pulpa de Cachama (*Colossoma macropomun*) y Curvinata (*Macrodón ancylodon*). Tesis de Maestría Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, UCV, Caracas.
- Ortiz, H. y Bello, R. 1990. Estudio Comparativo de la Estabilidad de los Ácidos Grasos de Cachama (*Colossoma macropomun*) y de Sardina (*Sardinella, anchovia*) durante Almacenamiento a 10°C y 20°C. Trabajo de Grado. Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, U.C.V. Caracas-Venezuela.
- Perez, R. 1995. Fish silage for feeding livestock. *World Animal Rev.*, 82: 34-42.
- Phoenix Integration, 2014. PHX model center. En: <http://www.phoenix-int.com/>.
- Piffl, M. y Stadlober, E. (2015). The depth-design: An efficient generation of high dimensional computer experiments. *Journal of Statistical Planning and Inference* 164: 10–26.
- Price, J.F. y Scheweigert, B 1976. Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza-España.
- Pronzato, L. and Muller, W. G. 2012. Design of computer experiments: Space Filling and beyond," *Statistics and Computing*. 22: 681-701.
- Ramírez, A. y Latouchet, G. (2014). Optimización operativa de la estabilización biológica con acidificación secuencial, aplicando mezcla de “meta-propa-eta-

- hexadrie noico”, a subproductos del beneficio de aves. Trabajo de grado Ingeniería agroindustrial. UNELLEZ. Cojedes.
- Ricoy, C. (2006). Contribución sobre los paradigmas de investigación. Revista del Centro de Educación, 31, 11-22.
- Rodríguez, H. F. M. 2012. Diseño Robusto en Sistemas de Control. En: <http://probayestadistica.cimat.mx/sites/default/files/PDFs/TesisFranciscoManuelRodriguezHuerta.pdf>
- Roshan, V. J., Evren, G. and Shan, B. (2015). Maximum projection designs for computer experiments. *Biometrika*. 102 (2): 371-380.
- SAS JMP 8. 2008. Software SAS Institute Inc. JMP business unit SAS.JMP: John's McIntosh Program. System for window. Cary NC: SAS.
- SAS JMP 8. 2010. Design of Experiments Guide. JMP versión 8, A Business Unit of SAS, 323 p.
- Suzuki, T. 1987. Tecnología de las Proteínas de Pescado y Krill. Zaragoza – España. Editorial Acribia, S.A.
- UNELLEZ. 2008. Plan general de investigación de la UNELLEZ, 2008-2012. En <http://investigacion.unellez.edu.ve/descargas/PLAN%20GENERAL%20DE%20INVESTIGACION%202008%20-pdf>
- Venezuela 1999. Constitución de la República Bolivariana de Venezuela (CRB), 1999. Título VI, Del Sistema Socio Económico; Capítulo I, Del Régimen Socio Económico y la Función del Estado en la Economía, Artículo 305
- Viana, F. A. C. 2013. Things you wanted to know about the Latin hypercube design and were afraid to ask. 10th World Congress on Structural and Multidisciplinary Optimization, Orlando, Florida, USA. En: <http://www2.mae.ufl.edu/mdo/Papers/5176.pdf>
- Vining, G. Kulahci, M. and Pedersen, S. 2015. Recent Advances and Future Directions for Quality Engineering. EN <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/qre.1797/epdf>
- Vitalis. 2013. Situación Ambiental de Venezuela. 2012. Análisis de Percepción del Sector. Editores y Compiladores: D. Díaz Martín, Y. Frontado, M. Da Silva, A. Lizaraz, I. Lameda, V. Valera, C. Gómez., E. Monroy, Z. Martinez, J. Apostólico y G. Suárez. 42 pp. [Documento en línea]. En: www.vitalis.net. [Consulta: Marzo 3, 2014].

- Waite T. W. and Woods. D. C. 2015. Designs for generalized linear models with random block effects via information matrix approximations. *Biometrika*. 102 (3): 677-693.
- Weinling, H.E. 1973. *Tecnología Práctica de la Carne*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza- España.
- Wirth, F. 1992. *Tecnología de los Embutidos Escaldados*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza – España.
- Yong Tan, M. H. 2014. Robust Parameter Design with Computer Experiments Using Orthonormal Polynomials. *Technometrics*. 57 (2):105-115.