

**Escuela Superior Politécnica del Litoral**

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción**

Estudio prospectivo de ascidias coloniales para su aplicación como  
ingrediente en una barrita nutritiva

INGE 22-95

**Proyecto Integrador**

Previo la obtención del Título de:

**Ingenieras en Alimentos**

Presentado por:

Andrea Stephania Montoya Llamuca

Kristhel Denisse Rodríguez Castañeda

Guayaquil - Ecuador

Año: 2023

## Dedicatoria

---

El presente trabajo se lo dedico a mis padres, por su amor y apoyo incondicional durante estos años de estudio.

A mis hermanas, por creer en mí y siempre darme ánimos.

A Diego, por motivarme y acompañarme durante este arduo proceso.

A mi abuelita, por su cariño y apoyo brindado, y aunque ya no estés físicamente estoy segura de que este logro te habría hecho feliz.

A Zunlla, por ser mi fiel compañera en mis noches de estudio.

**Andrea Montoya LI.**

## Dedicatoria

---

El presente proyecto está dedicado a mi familia, quienes, a pesar de los desafíos y las dificultades siempre han estado presentes con amor, aliento y comprensión. Sus sacrificios y su fe en mi capacidad han sido mi mayor motivación. A ustedes les dedico este trabajo con profundo agradecimiento y amor. Sin su constante respaldo, este logro no habría sido posible.

**Kristhel Rodríguez C.**

## Agradecimientos

---

Agradezco a Dios por haberme brindado la fuerza y la sabiduría para culminar esta etapa de estudios.

A nuestra tutora Ph. D Karín Coello por su invaluable apoyo y dedicación, sus conocimientos y sugerencias contribuyeron significativamente a este proyecto.

A mi familia y a Diego por sus palabras de aliento, apoyo y comprensión, este logro no hubiera sido posible sin ustedes.

**Andrea Montoya LI.**

## Agradecimientos

---

Expreso mi agradecimiento a mi familia por su apoyo incondicional en esta travesía académica, sobre todo a mi abuelo Emilio Castañeda, quien me enseña día a día a nunca rendirme, también a quienes contribuyeron al desarrollo y culminación de este proyecto. A mis amigos y compañeros quienes estuvieron a mi lado en los momentos de tensión y alegría en esta extensa y desafiante travesía, les agradezco sinceramente.

**Kristhel Rodríguez C.**

## Declaración Expresa

---

Nosotras Andrea Stephania Montoya Llamuca y Kristhel Denisse Rodríguez Castañeda acordamos y reconocemos que:

La titularidad de los derechos patrimoniales de autor (derechos de autor) del proyecto de graduación corresponderá al autor o autores, sin perjuicio de lo cual la ESPOL recibe en este acto una licencia gratuita de plazo indefinido para el uso no comercial y comercial de la obra con facultad de sublicenciar, incluyendo la autorización para su divulgación, así como para la creación y uso de obras derivadas. En el caso de usos comerciales se respetará el porcentaje de participación en beneficios que corresponda a favor del autor o autores. La titularidad total y exclusiva sobre los derechos patrimoniales de patente de invención, modelo de utilidad, diseño industrial, secreto industrial, software o información no divulgada que corresponda o pueda corresponder respecto de cualquier investigación, desarrollo tecnológico o invención realizada por nosotras durante el desarrollo del proyecto de graduación, pertenecerán de forma total, exclusiva e indivisible a la ESPOL, sin perjuicio del porcentaje que nos corresponda de los beneficios económicos que la ESPOL reciba por la explotación de nuestra innovación, de ser el caso.

En los casos donde la Oficina de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) de la ESPOL comunique los autores que existe una innovación potencialmente patentable sobre los resultados del proyecto de graduación, no se realizará publicación o divulgación alguna, sin la autorización expresa y previa de la ESPOL.

Guayaquil, 06 de febrero del 2024.



---

Andrea Stephania  
Montoya Llamuca



---

Kristhel Denisse  
Rodríguez Castañeda

## **Evaluadores**

---

**Ph. D. Tania Guzmán**

Profesor de Materia

---

**Ph. D. Karín Coello Ojeda**

Tutor de proyecto

## Resumen

El estudio prospectivo aborda los desafíos ecológicos de la capacidad de fijación de las ascidias, organismos marinos que al desplazarse afectan la diversidad de especies nativas en las costas ecuatorianas impactando en actividades cruciales como la pesca y la cría de cultivos de bivalvos en Ecuador. El estudio se enfoca en la selección e incorporación de una especie de ascidias, que sea rica en proteínas, en barras de cereales para elevar su calidad nutricional, planteando una solución sostenible a la invasión de ascidias. Las muestras, proporcionadas por CENAIM-ESPOL, fueron analizadas para identificar su contenido proteico, además, se planteó un diseño factorial para la formulación de las barras a las cuales luego se le realizaron análisis como grasas, humedad, cenizas y pH con el fin de determinar algunas propiedades fisicoquímicas tanto de las ascidias seleccionadas como de las barras diseñadas. Finalmente, se llevó a cabo una evaluación sensorial para medir la aceptación y preferencia de las barras, se seleccionó la ascidia ASC-003 con ~36% de proteína para enriquecer la barra, sustituyendo el 10% en la formulación. Los resultados de los análisis fisicoquímicos de las dos barras fueron similares y la prueba sensorial demostró aceptación y preferencia hacia la apariencia y textura de la barra enriquecida, destacándose la viabilidad de las ascidias como una fuente de proteína alternativa.

**Palabras Clave:** Ascidias, proteínas, barras nutritivas.

### **Abstract**

*The prospective study addresses the ecological challenges of the attachment capacity of ascidians, marine organisms that affect the diversity of native species in the Ecuadorian coasts impacting crucial activities such as fishing and breeding of bivalve crops in Ecuador. The study focuses on the selection and incorporation of a protein-rich ascidian species in cereal bars to increase their nutritional quality, proposing a sustainable solution to the ascidian invasion. The samples, provided by CENAIM-ESPOL, were analyzed to identify their protein content, and a factorial design was proposed for the formulation of the bars, which were then analyzed for fat, moisture, ash and pH in order to determine some physicochemical properties of both the selected ascidians and the designed bars. Finally, a sensory evaluation was carried out to measure the acceptance and preference of the sticks. The ascidian ASC-003 with ~36% protein was selected to enrich the bar, replacing 10% in the formulation. The results of the physicochemical analysis of the two bars were similar and the sensory test showed acceptance and preference for the appearance and texture of the enriched bar, highlighting the viability of ascidians as an alternative protein source.*

**Keywords:** *Sea squirts, experimental design, nutritional bars, sea squirt protein.*

## Índice General

Resumen.....	I
Abstract.....	II
Índice General.....	III
Abreviaturas.....	VI
Simbología.....	VII
Índice de figuras.....	VIII
Índice de tablas.....	IX
Capítulo 1.....	1
1. 1 Introducción.....	2
1.2 Descripción del problema.....	3
1.3 Justificación del problema.....	4
1.4 Objetivos.....	5
1.4.1 Objetivo general.....	5
1.4.2 Objetivos específicos.....	5
1.5 Marco teórico.....	6
1.5.1 Generalidades de las ascidias.....	6
1.5.2 Usos de las ascidias.....	7
Capítulo 2.....	9
2.1 Metodología.....	10
2.2 Traslado y almacenamiento de las ascidias.....	10

2.3 Preparación de las muestras de ascidias para análisis de proteínas .....	10
2.4 Acondicionamiento de las ascidias para integrarlas como ingrediente.....	12
2.5 Diseño experimental y formulación de las barras de cereales.....	13
2.6 Proceso de obtención de las barras enriquecidas con ascidia alta en proteína.....	14
2.7 Análisis fisicoquímicos.....	16
2.7.1 Determinación de proteínas.....	16
2.7.2 Determinación de grasas.....	17
2.7.3 Determinación de cenizas totales.....	17
2.7.4 Determinación del contenido de humedad.....	18
2.7.5 Determinación del pH.....	18
2.8 Evaluación sensorial de las barras.....	18
Capítulo 3.....	20
3.1 Resultados y análisis.....	21
3.1.1 Contenido de proteínas de las ascidias.....	21
3.1.2 Formulación final de las barras.....	22
3.1.3 Resultados de los análisis fisicoquímicos.....	23
3.1.4 Evaluación sensorial.....	25
3.1.5 Análisis de Costos.....	27
Capítulo 4.....	29
4.1 Conclusiones y recomendaciones.....	30
4.1.1 Conclusiones.....	30
4.1.2 Recomendaciones.....	31

Referencias ..... 33

Apéndices ..... 38

## Abreviaturas

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
USFQ	Universidad San Francisco de Quito
OMS	Organización Mundial de la Salud
INEN	Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización
LDPE	Polietileno de baja densidad
PSP	Intoxicación paralítica por mariscos

**Simbología**

g	Gramos
pH	Potencial de Hidrógeno
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
Fe	Hierro
Mg	Magnesio
Cu	Cobre
P	Fósforo
Zn	Zinc
Na	Sodio
Ca	Calcio
K	Potasio
\$	Dólar
ASC	Ascidia
BASC	Barrita con ascidia
m	Masa de la muestra, en g.
mm	Milímetros
v	Volumen

**Índice de figuras**

Figura 1. <i>Representación esquemática de una ascidia solitaria (izquierda) y colonial (derecha).....</i>	7
Figura 2. <i>Ascidia laminada .....</i>	11
Figura 3. <i>Ascidias laminadas dentro de los envases de vidrio.....</i>	11
Figura 4. <i>Láminas de ascidias desodorizadas colocadas en una bandeja.....</i>	12
Figura 5. <i>15Diagrama de flujo para la elaboración de la barra nutritiva enriquecida con ascidia alta en proteína.....</i>	15
Figura 6. <i>Aceptabilidad de la barra de cereal enriquecida con ascidia alta en proteína .....</i>	26
Figura 7. <i>Preferencia entre la barra control y la barra enriquecida con ascidia alta en proteína</i>	27
Figura 8. <i>Punto de equilibrio.....</i>	28

## Índice de tablas

Tabla 1. Corridas experimentales del diseño factorial .....	13
Tabla 2. Porcentaje de ingredientes en la formulación de barra de cereales con incorporación de ascidias .....	14
Tabla 3. Porcentaje promedio de proteína obtenido para cada muestra de ascidia .....	21
Tabla 4. Formulación final de las barras .....	22
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de la barra enriquecida con ascidia alta en proteína y el control .....	24
Tabla 6. Contenido de proteína estimado con una sustitución de 15% y 20% .....	25

## Capítulo 1

## 1. 1 Introducción

Las ascidias son un grupo de invertebrados marinos que se caracterizan por su cuerpo gelatinoso y su capacidad de fijación a superficies sólidas, estos urocordados o tunicados pueden ser solitarias o coloniales, y se encuentran en una amplia variedad de hábitats marinos, desde aguas poco profundas hasta profundidades abisales (Bastida y col., 2014).

Estos organismos desempeñan un papel vital en los ecosistemas marinos, actúan como filtradores cruciales contribuyendo a la purificación de las aguas costeras, además, representan un eslabón esencial en la cadena alimentaria marina siendo una fuente significativa de alimento para peces y crustáceos (Ares y col., 2020). En Ecuador, las ascidias invasoras se han convertido en un problema ecológico y económico, estas especies que no son originarias del país se introdujeron accidentalmente por la navegación marítima y se han extendido rápidamente por las costas de Ecuador y de las Islas Galápagos afectando a los ecosistemas marinos, además de las actividades económicas relacionadas con el mar como la pesca y el cultivo de bivalvos (Lambert, 2019). Algunos casos, estas ascidias se adhieren a las jaulas del cultivo, dificultando la filtración del agua y reduciendo la productividad de los cultivos y en otros casos la muerte de los moluscos como lo indica la ingeniera Gabriela Agurto, investigadora experta en el estudio taxonómico y ecología de ascidias en Ecuador. El problema de las ascidias invasoras en Ecuador es un desafío complejo que requiere una solución integral, es importante investigar formas de aprovechar las ascidias invasoras lo que podría contribuir a mitigar los impactos negativos de estas especies.

La utilización de ascidias invasoras en la producción de alimentos emerge como una propuesta multifacética sugerida por diversos autores, buscando aprovechar estos organismos para contrarrestar los impactos negativos de su presencia en el medio ambiente, además de ofrecer una solución ambiental, la producción de alimentos basada en ascidias invasoras podría ser una fuente potencial de beneficios económicos para Ecuador.

Las ascidias son conocidas por su contenido proteico, que puede ser significativo en algunas especies, estas proteínas pueden ser objeto de interés en investigaciones relacionadas con la alimentación y la nutrición como la formulación de alimentos enriquecidos (Chun-yan y col., 2007). La idea de elaborar barras nutricionales con la inclusión de ascidias es una solución innovadora, práctica y factible para abordar el problema de estas invasiones en las costas de Ecuador, que representarían una fuente rica en proteínas, complementada con nutrientes esenciales.

## **1.2 Descripción del problema**

Las ascidias coloniales se adhieren a los sustratos bentónicos, especialmente a la túnica de otras ascidias adultas lo que puede causar graves daños a los ecosistemas marinos. También se pueden encontrar en rocas, troncos, conchas de otros organismos y cualquier otro sustrato duro del intermareal o submareal, además, pueden competir con las especies nativas por el alimento y el espacio, lo que puede provocar su disminución o incluso su extinción (Pérez y col., 2017).

Las ascidias son organismos bentónicos, con capacidad de fijación que les permite desplazarse involuntariamente, esta particularidad plantea desafíos ecológicos al afectar la diversidad de especies nativas en la costa ecuatoriana e Islas Galápagos, generando consecuencias perjudiciales en actividades como la pesca y la cría de ciertas especies marinas con valor comercial. Los tunicados se adhieren a las jaulas de las líneas de cultivo de bivalvos (moluscos), cubriéndolos y obstaculizando la filtración de agua, lo que causa la mortalidad por falta de alimentación. No solo afectan a los bivalvos, sino que también recubren diversos sustratos bentónicos retardando a su crecimiento. Las ascidias son tunicados altamente propensas a colonizar nuevos entornos como especies invasoras, por lo que se han convertido en una especie animal relevante que afecta al mar, además, compiten por oxígeno y nutrientes con mariscos de consumo humano como los mejillones, ostras, entre otros (Gao y col., 2023).

### 1.3 Justificación del problema

El presente proyecto integrador forma parte de la investigación desarrollada en la convocatoria Beneficio Colateral 2023, titulado "Aprovechamiento de ascidias solitarias invasivas en cultivos de moluscos para aplicaciones biotecnológicas y nutricionales", el cual cuenta con la participación de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) y la Universidad San Francisco de Quito (USFQ).

Las ascidias, por lo general, tienen un alto valor nutricional debido a que son ricas en proteínas y bajas en calorías. Algunas pueden contener diferentes vitaminas (C, E y B<sub>12</sub>) y minerales (Na, Ca, Fe, P, K, Mg, Cu y Zn) (Marhamati y col., 2021). Según el trabajo de Chun-yan y col. (2007) las ascidias son una fuente importante de proteínas con un contenido de 39.60% de proteína cruda. Además, las ascidias son ricas en otros nutrientes, como los ácidos grasos omega-3, vitaminas y minerales (Chun-yan y col., 2007). A pesar de poseer un buen perfil nutricional, la tasa de utilización de las ascidias es mínima, prácticamente todo es desechado generando una carga ambiental adicional y un desperdicio de recursos (Lv y col., 2023).

En la actualidad, la demanda de alimentos nutritivos está creciendo en todo el mundo, y adoptar una dieta equilibrada es una forma adecuada para prevenir o aplacar problemas de salud (Marques y col., 2015). La OMS (2004) también impulsa la creación de productos alimenticios innovadores que representen alternativas nutritivas para los consumidores. Las barras nutritivas enriquecidas responden a esta tendencia y han ganado popularidad como una opción alimenticia saludable y nutritiva debido a sus elevados niveles de proteína, que las convierte en una alternativa beneficiosa para aquellos que buscan snacks saludables (Jiang y col., 2021). Generalmente, las barras nutritivas se preparan utilizando ingredientes como salvado de cereales, avena, cebada entre otros ingredientes ricos en nutrientes, además pueden o no pasar por un proceso de horneado. Es importante conocer las características químicas y nutricionales

de las barras nutritivas por lo que comúnmente se les realizan análisis de contenido de humedad, proteínas, cenizas totales, grasas y fibra dietética (Rawat y Darappa, 2015).

Por los motivos previamente expuestos, las ascidias representan una opción atractiva para la industria alimentaria por tal razón, en este trabajo se busca aprovechar el nivel de nutrientes que poseen las ascidias, incorporándolas como un nuevo ingrediente en una barra de cereales, y permitiendo elevar la calidad nutricional de este producto muy apreciado a nivel global. De esta manera, las ascidias que son desechadas en la actualidad puedan convertirse en un valioso bio-ingrediente. Adicionalmente, la presente propuesta contribuye a la búsqueda de fuentes de proteínas alternativas necesarias para aminorar la crisis alimentaria y la desnutrición, problema latente que se ha ido profundizando en los últimos años.

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo general**

Incorporar ascidias con alto contenido de proteínas en una barra de cereales elevando su calidad nutricional.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

1. Determinar el nivel de proteínas de ascidias coloniales colectadas por CENAIM-ESPOL.
2. Aplicar la especie con el más alto nivel proteico como ingrediente en una barra de cereales mediante un diseño de experimentos.
3. Evaluar las propiedades fisicoquímicas de la barra enriquecida con el nuevo ingrediente.
4. Evaluar sensorialmente atributos de apariencia y textura de la barra nutritiva mediante una prueba hedónica.

## 1.5 Marco teórico

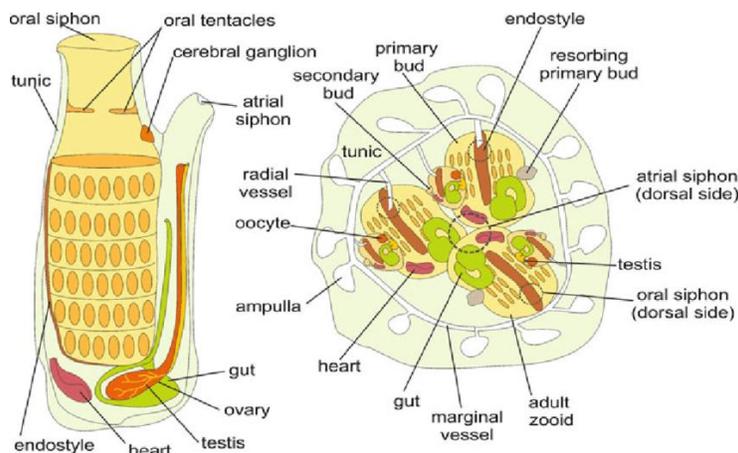
### 1.5.1 Generalidades de las ascidias

Las ascidias son una clase de organismos marinos pertenecientes al *Phylum Chordata* y al *Subphylum Urochordata*, poseen todas las características típicas de los cordados, pero se diferencian al carecer de una columna vertebral y en su lugar presentan una estructura llamada notocorda durante sus fases larvales (Bastida y col., 2014). Disponen de un cuerpo gelatinoso y una vida sésil, y se dividen en dos categorías principales: las solitarias, que viven de manera aislada, y las coloniales, que forman grupos compactos (Endara, 2011).

En cuanto a su morfología, puede estar dividida en dos secciones principales: la capa externa y los órganos internos. La capa externa, denominada túnica, es un tejido de soporte que preserva la forma del cuerpo y facilita la filtración del agua de mar, además consta de alrededor de un 60 % de celulosa (Gao y col., 2023). La túnica puede variar en color y textura, y puede ser translúcida o de tonalidades más opacas (González y col., 2021). Los órganos internos, cubiertos por una envoltura, comprenden las gónadas, la faringe, el corazón, el intestino, el estómago y el ano, los cuales tienen niveles altos de aminoácidos esenciales, minerales, ácidos grasos, entre otros (Gao y col., 2023). En la figura 1 se puede observar la morfología de los dos tipos de ascidias mencionadas anteriormente.

El proceso reproductivo de las ascidias es sexual, los huevos se generan en las gónadas y se liberan en el agua del mar, estos huevos fertilizados se transforman en larvas planctónicas que, después de un periodo de desarrollo, se adhieren al sustrato para convertirse en ascidias adultas (Endara, 2011).

**Figura 1.** Representación esquemática de una ascidia solitaria (izquierda) y colonial (derecha)



*Nota.* La figura fue tomada de Vanni y col. (2022). Studying Regeneration in Ascidians: An Historical [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2172-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2172-1_2)

### 1.5.2 Usos de las ascidias

Las ascidias se destacan por su elevado contenido nutricional, por ende, tienen potencial para ser aprovechadas como alimento humano y animal. En Asia, Chile y algunos países mediterráneos, comúnmente se consumen como productos frescos o secos (Gao y col., 2023). También, las ascidias han sido utilizadas para realizar alimentos como tacos, debido a que no tiene un sabor a marisco, lo que significa que puede imitar más fácilmente el sabor que prefieren muchos consumidores de carne. Esto conlleva a que se podría realizar otros alimentos populares con las ascidias como: hamburguesas, albóndigas, lasaña, pizza u otros y lograr resultados iguales o similares al que los consumidores están acostumbrados (NCE Seafood Innovation, 2023).

Por otro lado, las ascidias se han estado explorando como fuente sostenible de proteínas de alta calidad para reemplazar la harina de pescado, sirviendo como un componente nutritivo y llamativo para diversos peces, como el salmón del Antártico. Además, otras investigaciones

anteriores recomiendan que las ascidias pueden servir como alimento para el filosoma de la langosta (Gao y col., 2023).

## Capítulo 2

## **2.1 Metodología**

En el presente proyecto se planteó determinar el nivel de proteínas de varias muestras de ascidias coloniales colectadas por CENAIM-ESPOL; se planteó un diseño experimental factorial para formular barritas incorporando la especie de ascidia con el más alto nivel proteico en una barrita de cereales a base de avena. Se realizó análisis fisicoquímicos de proteínas, grasas, humedad, pH y cenizas comparando estas propiedades de las barritas con adición de ascidia alta en proteínas con un control sin adición de ascidias. El trabajo experimental concluyó con una prueba sensorial para evaluar la aceptabilidad de la barrita de cereales enriquecida con respecto a los atributos de apariencia y textura del control.

## **2.2 Traslado y almacenamiento de las ascidias**

Las muestras de ascidias fueron colectadas por el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM) de la ESPOL, localizado en Manglaralto, en la provincia de Santa Elena y fueron trasladadas hasta el laboratorio de Desarrollo y Procesamiento de Alimentos de la carrera de Ingeniería en Alimentos, localizada en el Campus Gustavo Galindo en la ciudad de Guayaquil. Cada muestra se encontraba congelada en forma de bloque en bolsas plásticas transparentes y se almacenaron a -20 grados.

## **2.3 Preparación de las muestras de ascidias para análisis de proteínas**

Las muestras de ascidias que se encontraban congeladas se laminaron sin descongelar utilizando una mandolina para obtener láminas delgadas (figura 2).

Las láminas de ascidias se colocaron dentro de envases de vidrio y fueron sometidas a un proceso de liofilización por 4 días a una temperatura de -80 °C (figura 3).

**Figura 2.** *Ascidia laminada*



**Figura 3.** *Ascidias laminadas dentro de los envases de vidrio*



Las muestras se dispusieron en frascos de vidrio acomodando en cada vial del equipo dos frascos tapados con aluminio y *parafilm* con pequeños orificios en la parte superior para permitir la eliminación del agua contenida en las ascidias. Las muestras liofilizadas se almacenaron envolviéndose en papel aluminio, dentro de bolsas de polietileno de baja densidad

(LDPE) y se sellaron al vacío empleando una selladora al vacío. Por último, se almacenaron en un congelador a temperaturas que oscilaban entre  $-15^{\circ}\text{C}$  y  $-20^{\circ}\text{C}$ .

#### **2.4 Acondicionamiento de las ascidias para integrarlas como ingrediente**

Las ascidias seleccionadas por su mayor porcentaje de proteínas se laminaron en una mandolina calibrada a 9 mm. Posteriormente, las láminas se desodorizaron para reducir el aroma característico a mar mediante inmersión directa en un recipiente donde se colocaron aproximadamente 20 g de la muestra en una malla fina y se sumergieron en una mezcla compuesta por 30% de agua y 70% hielo durante intervalos de 5 minutos, repitiendo este proceso 6 veces. Tras finalizar el proceso de desodorización, las láminas de ascidias desodorizadas se colocaron sobre bandejas (figura 4) y se secaron por medio de aire caliente utilizando el secador de bandejas a una temperatura de  $50^{\circ}\text{C}$  durante un periodo 24 horas. Finalmente, la muestra seca fue triturada en un mortero y se pulverizó en un molino manual de café para obtener un polvo fino.

**Figura 4.** Láminas de ascidias desodorizadas colocadas en una bandeja



*Nota.* Elaboración propia.

## 2.5 Diseño experimental y formulación de las barras de cereales

La formulación de la barra se realizó considerando diferentes proporciones de ingredientes distribuidas en dos fases bien diferenciadas. Los ingredientes sólidos-secos constituyeron la fase sólida (S) dispersa en la mezcla mientras que el jarabe correspondió a la fase líquida (L). Las proporciones de la fórmula base fueron elegidas tomando como guía el trabajo desarrollado por Coello y col., 2022.

A continuación, se detalla el diseño factorial con un total de 4 tratamientos para cada factor en dos niveles de proporciones de 65/35 y de 55/45. Luego de esta experimentación, se eligió uno de los tratamientos para la formulación de la barra control, sin adición de ascidias.

**Tabla 1.** *Corridas experimentales del diseño factorial*

Ingredientes	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Harina de avena	45%	35%	45%	35%
Arroz crocante	10.5%	15.5%	5.5%	10.5%
Mix semillas	6%	9%	3%	6%
Pasas	3.5%	5.5%	1.5%	3.5%
Jarabe	35%	35%	45%	45%

*Nota.* Elaboración propia.

Una vez obtenida la fórmula de la barra con 0% de ascidia alta en proteína, que representa el control, se consideró cuatro alternativas de adición de las ascidias a las barras, sustituyendo una parte del contenido de avena en la formulación, tal como se detalla en la tabla 2.

**Tabla 2.** Porcentaje de ingredientes en la formulación de barrita de cereales con incorporación de ascidias

Relación S/L	Tratamientos	% Ingredientes					
		Ascidias	Harina de avena	Arroz crocante	Mix semillas	Pasas	Jarabe
65/35	T1	0%	45%	10.5%	6%	3.5%	35%
		10%	35%	10.5%	6%	3.5%	35%
		15%	30%	10.5%	6%	3.5%	35%
		20%	25%	10.5%	6%	3.5%	35%
	T2	0%	45%	15.5%	9%	5.5%	35%
		10%	25%	15.5%	9%	5.5%	35%
		15%	20%	15.5%	9%	5.5%	35%
		20%	15%	15.5%	9%	5.5%	35%

*Nota.* Elaboración propia.

## 2.6 Proceso de obtención de las barritas enriquecidas con ascidia alta en proteína

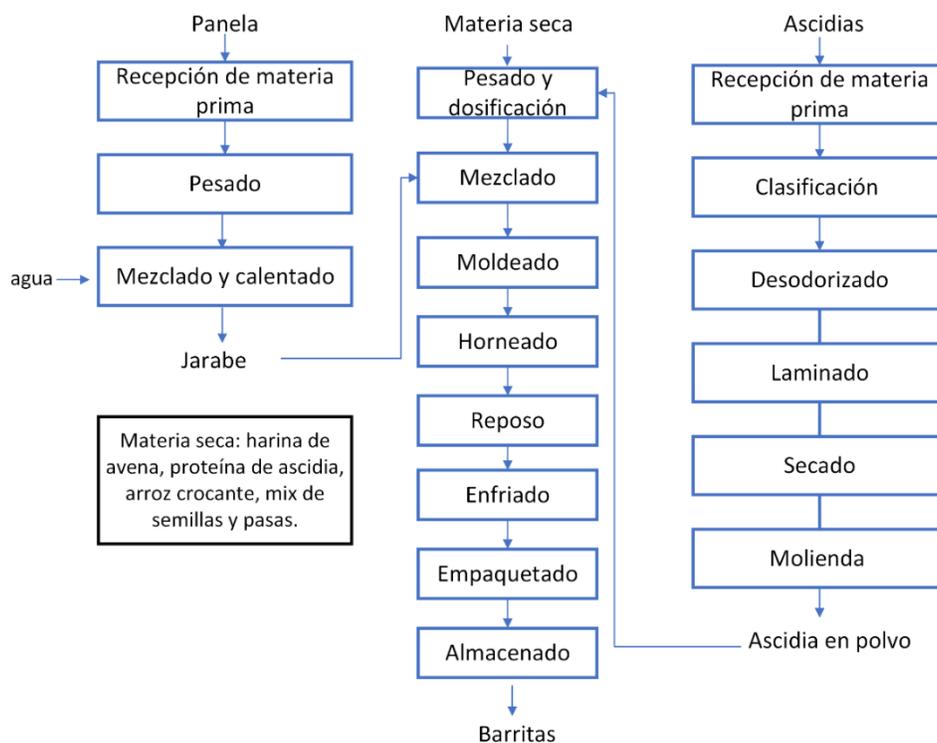
La elaboración de las barritas se llevó a cabo en el laboratorio de Desarrollo y Procesamiento de Alimentos de la carrera de Ingeniería en Alimentos de la Escuela Superior Politécnica del Litoral. El proceso empieza con el pesado y dosificación de los ingredientes sólidos. Entre estos ingredientes se utilizó: harina de avena, arroz crocante, mix de semillas y pasas. Simultáneamente se pesaron los ingredientes azúcar y agua para la preparación del jarabe.

En este trabajo, el jarabe elaborado con panela y agua constituyó la fase líquida (L). Para elaborar el jarabe se definió hacerlo en una relación 3:1 (panela: agua), se calentó agua potable a 40 °C y se incorporó poco a poco la panela de la marca Ta'Riko mientras se revolvía

constantemente, hasta lograr que se disuelva completamente. Se dejó calentar en llama baja durante 10 minutos hasta obtener un jarabe de aproximadamente 65 °Brix

A la vez se realizó la pre-mezcla de los ingredientes secos. El proceso se completa finalmente con la mezcla de ambas fases, vertiendo los sólidos sobre el jarabe sin enfriar hasta obtener una masa compacta si llegar a ser muy pegajosa. Posteriormente, esta mezcla se colocó en moldes, se prensó manualmente con la ayuda de una espátula, una vez que estuvieron bien compactadas dentro del mismo molde fueron sometidas a un proceso de horneado a 120°C durante 10 minutos con el objetivo de reducir la humedad de las barritas. Cada barrita, con un peso aproximado de 30 g, fue envuelta en papel aluminio y almacenada a temperatura ambiente para posteriormente realizarle los análisis fisicoquímicos. En la figura 5 se presenta el diagrama de flujo para la obtención de las barritas.

**Figura 5.** Diagrama de flujo para la elaboración de la barrita nutritiva enriquecida con ascidia alta en proteína



*Nota.* Elaboración propia.

## 2.7 Análisis fisicoquímicos

### 2.7.1 Determinación de proteínas

El análisis del contenido de proteínas de las ascidias y de las barritas se realizó siguiendo la metodología NTE INEN 0519 la cual consta de tres etapas: digestión, destilación y titulación. Para ello, se tomó 1 gramo de cada muestra, se envolvió en papel filtro y se introdujo en un tubo Kjeldahl que contenía sulfato de cobre, sulfato de potasio y perlas de vidrio, por último, se añadió ácido sulfúrico concentrado. La muestra en el tubo fue sometida a digestión en el equipo Kjeldahl, incrementando progresivamente la temperatura hasta que la muestra se volvió clara. Se enfrió y se destiló utilizando un matraz Erlenmeyer con ácido sulfúrico al 0.1 N y el indicador rojo de metilo, y se sometió a ebullición. Después de su destilación, se tituló con hidróxido de sodio al 0.1 N, hasta observar el viraje de color rosado a amarillo. Se registra el volumen de soda cáustica empleada en el viraje. Con toda esta información se aplicó la siguiente ecuación para el cálculo de proteína en masa seca:

$$P = (14.0)(F) \frac{(V_1N_1 - V_2N_2) - (V_3N_1 - V_4N_2)}{m(100 - H)}$$

Donde:

P= contenido de proteínas en porcentaje de masa.

$V_1$ = volumen de la solución 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, empleado para recoger el destilado de la muestra, en cm<sup>3</sup>.

$N_1$ = normalidad de la solución de ácido sulfúrico.

$V_2$ = volumen de la solución 0.1N de NaOH, empleado en la titulación, en cm<sup>3</sup>.

$N_2$ = normalidad de la solución de NaOH.

$V_3$ = volumen de la solución 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, empleado para recoger el destilado del ensayo en blanco, en cm<sup>3</sup>.

$V_4$ = volumen de la solución 0.1 N NaOH, empleado en la titulación del ensayo en blanco, en cm<sup>3</sup>.

m= masa de la muestra en g.

H= porcentaje de humedad en la muestra

F= factor para convertir el nitrógeno a proteínas. (F=6.25)

### 2.7.2 Determinación de grasas

El contenido de grasas de las barritas fue realizado siguiendo la metodología NTE INEN 0523, donde se tomó 2 g de la muestra, la cual se envolvió en papel filtro, se colocó en un dedal y luego se introdujo en el extractor Soxhlet, al cual se le añadió hexano. La extracción se realizó durante 4 horas, luego de la extracción se recuperó el disolvente por destilación en el mismo sistema. Finalmente, el balón que contenía la grasa se colocó en la estufa durante 30 minutos para terminar de evaporar el hexano, se dejó enfriar y se pesó el balón con la grasa. Se aplicó la siguiente ecuación para el cálculo del contenido de grasas:

$$G = \frac{(m_2 - m_1)}{m} \times 100$$

Donde:

G = contenido de grasa, en porcentaje de masa.

m = masa de la muestra, en g.

m1 = masa del balón vacío, en g.

m2 = masa del balón con grasa, en g

### 2.7.3 Determinación de cenizas totales

El contenido de cenizas totales de las barritas fue realizado siguiendo la metodología NTE INEN 0520, que se basa en la incineración de la materia orgánica de la muestra. Se tomó 5 g de la muestra y se colocó en un crisol de porcelana, el crisol se introdujo en la mufla a una temperatura de 550 °C durante 4 horas hasta lograr la obtención de cenizas con un tono gris claro. Finalmente, se retiró el crisol de la mufla, se dejó enfriar y se pesó el crisol con la ceniza. Se aplicó la siguiente ecuación para el cálculo del contenido de cenizas:

$$C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

C = contenido de cenizas en la muestra, en porcentaje de masa.

m = masa del crisol vacío, en gramos.

m<sub>1</sub> = masa del crisol con la muestra (antes de la incineración), en g

m<sub>2</sub> = masa del crisol con las cenizas, (luego de la incineración), en g.

#### **2.7.4 Determinación del contenido de humedad**

El contenido de humedad de las barritas fue realizado utilizando una balanza de humedad termogravimétrica de la marca Kern modelo Mlb 50-3, donde se colocó 2 g de la muestra en el equipo. Se registró la humedad que mostró la pantalla del equipo, basándose en la pérdida de peso que sufrió la muestra por calentamiento.

#### **2.7.5 Determinación del pH**

La determinación del pH de las barritas fue realizada utilizando un pHmetro Oakton modelo 3561344, el cual fue previamente calibrado con soluciones buffer 4.0, 7.0 y 10.0, para obtener una lectura con mayor precisión.

### **2.8 Evaluación sensorial de las barritas**

Una vez obtenida la formulación final para elaborar las barritas, se hizo una prueba de aceptación global empleando una escala hedónica de 5 puntos y además una prueba de preferencia. Esta evaluación se desarrolló en el Laboratorio de Evaluación Sensorial de la carrera de Ingeniería en Alimentos de ESPOL.

El panel contó con 13 jueces no entrenados, pero con cierto conocimiento en análisis sensorial, con edades entre los 18 a 30 años. Se presentaron a los jueces dos barritas (control y barrita enriquecida) en platos de plástico blanco donde se colocaron 15 g de cada muestra. Los

panelistas evaluaron la aceptabilidad y la preferencia, con respecto a la textura y apariencia, utilizando la hoja de evaluación (Apéndice B) proporcionada.

Los resultados de la prueba de aceptación fueron analizados estadísticamente utilizando la prueba *t de Student*, dado que se comparan únicamente dos muestras, con el objetivo de determinar si existen diferencias significativas entre las muestras con un nivel de confianza del 95%. Para ello, se compararon las medias de las puntuaciones otorgadas por cada juez a cada una de las muestras.

### Capítulo 3

### 3.1 Resultados y análisis

#### 3.1.1 Contenido de proteínas de las ascidias

En la tabla 3 se puede visualizar los porcentajes promedio de proteínas de las 7 muestras de ascidias, en donde se obtuvo que la ascidia con mayor valor proteico fue la ascidia 3 (ASC-003) seguida de la ascidia 7 (ASC-009), ambas con porcentajes mayor al 30%. Este hallazgo se alinea con el estudio que realizó Chun-yan y col. (2007) en la Universidad de Pesca de Dalian en China donde se determinó un 39.60% de proteína en ascidias mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). Además, Hassanzadeh (2011) determinó el contenido de proteínas de dos especies de ascidias por diferentes tratamientos con ácidos y álcalis obteniendo como resultado en una de las especies un contenido de proteína de hasta 32.6%, mientras que la otra especie alcanza hasta un 29.1%. Sin embargo, Ananthan y col. (2012) también determinaron el contenido de proteínas de diferentes especies de ascidias mediante el método de Biuret obteniendo un contenido que variaba del 3.8% al 20,01%.

**Tabla 3.** *Porcentaje promedio de proteína obtenido para cada muestra de ascidia*

N°	Código	Proteína (%)
1	ASC-001	14.76
2	ASC-002	29.80
3	ASC-003	35.94
4	ASC-004	13.85
5	ASC-005	9.25
6	ASC-006	23.48
7	ASC-009	33.67

*Nota.* Elaboración propia.

### 3.1.2 Formulación final de las barras

Después de llevar a cabo la experimentación con los cuatro tratamientos obtenidos del diseño factorial, se seleccionó el tratamiento dos, que contenía una proporción de sólido/líquido de 65/35 y un porcentaje de harina de avena de 35%. Esta elección se hizo considerando que estos parámetros permitieron lograr la textura característica de una barra tradicional. Además, Coello y col. (2022) observó que la formulación de una barra que contenía una proporción de fase sólido/líquido de 65/35 presentaba una mejor consistencia en comparación con otra proporción con una fase sólida mayor.

El porcentaje de sustitución de harina de avena por proteína de ascidia seleccionado fue del 10% que en 100 g fue de 3.5 g, principalmente debido a la limitada disponibilidad de ascidias. No obstante, productos como las barras proteicas de la marca Your Goal distribuidas en Canadá incorporan proteínas marinas provenientes de pescados como salmón, atún o bacalao aportando un contenido de 36 g de proteína por cada 100 g.

Este reemplazo tuvo la finalidad de mejorar el valor nutricional de la barra, y a la vez, disminuir la cantidad de avena empleada como principal ingrediente de las barras, que tiende a ser más costoso.

Las formulaciones empleadas para la elaboración de la barra control y la barra enriquecida con ascidia alta en proteína se detallan en la tabla 4. Además, se estimó que con 100 g de materia prima es posible obtener 3 barras de aproximadamente 30 g.

**Tabla 4.** *Formulación final de las barras*

Ingrediente	Barrita control	Barrita enriquecida
Harina de avena	35%	25%
Ascidia alta en proteína	0%	10%
Arroz crocante	15.5%	15.5%

Mix semillas	9%	9%
Pasas	5.5%	5.5%
Jarabe	35%	35%

---

*Nota.* Elaboración propia.

### 3.1.3 Resultados de los análisis fisicoquímicos

Los resultados de los análisis fisicoquímicos de la ascidia con mayor valor proteico (ASC-003) se detallan en la Tabla 5, evidenciando un contenido de grasa del 6.82%, de cenizas de 12.16%, de humedad de 6.66% y un valor de pH de 4.61.

El porcentaje de grasa concuerda con el estudio previamente mencionado de Chun-yan y col (2007), que informó un 6.53% de grasas para la ascidia *Halocynthia roretzi*. Sin embargo, Marques y col. (2022) también informaron la identificación del contenido de grasas en ascidias la cual variaba desde 0.06% hasta 44% de ácidos grasos totales, registrándose persistentemente ácido palmítico, ácido esteárico, ácido araquidónico, ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico.

Con respecto al porcentaje de cenizas, se observa una discrepancia en comparación con otras investigaciones. Ananthan y col. (2012) observaron que el contenido de cenizas en diferentes especies de ascidias varió entre 0.14% y 1.56%. Y Zlatanov y col. (2009) determinaron el contenido de cenizas de la ascidia *Microcosmus sulcatus* obteniendo un porcentaje del 7.5%.

En relación con el pH, nuestros hallazgos no coinciden con los estudios llevados a cabo por Kim y col. (2013), quienes realizaron la caracterización de la ascidia *Halocynthia roretzi sikhae*, obteniendo un pH de 6.5. En nuestro estudio se registró un pH de 4.61 mostrando una variación significativa con respecto a los resultados previamente reportados por Kim y su equipo.

La barrita enriquecida con proteína de ascidia (BASC-003) también fue sometida a análisis fisicoquímicos, en conjunto con la barrita control (CONTROL) con la finalidad de observar el efecto que se obtuvo al reemplazar la harina de avena por la de ascidia alta en proteína.

Como se puede observar en la tabla 5 el contenido de proteína de la barra enriquecida BASC-003 de 8.19%, fue ligeramente superior al del control con un valor de 8.05%.

**Tabla 5.** *Propiedades fisicoquímicas de la barra enriquecida con ascidia alta en proteína y el control*

<b>Muestra</b>	<b>Proteína (%)</b>	<b>Grasa (%)</b>	<b>Humedad (%)</b>	<b>Cenizas (%)</b>	<b>pH</b>
ASC-003	35.94	6.82	6.66	12.16	4.61
CONTROL	8.05	4.66	8.62	2.44	5.19
BASC-003	8.19	5.16	8.96	2.18	5.80

*Nota.* Elaboración propia.

Este resultado demuestra que la inclusión del 10% de ascidia rica en proteínas en la barra aporta un nivel de proteína prácticamente equivalente al proporcionado por la avena en la barra de control. En consecuencia, la ascidia se revela como una fuente de proteína alternativa viable, especialmente al considerar la aplicación de porcentajes más altos como se sugirió previamente con opciones del 15% o 20%. En el escenario de una sustitución del 15%, se observaría un aumento del 12.28% en el contenido de proteína, mientras que con una sustitución del 20%, este aumento se elevaría a un 16.38% como se puede observar en la Tabla 6. Sin embargo, es fundamental tener en cuenta que estas sustituciones podrían influir en atributos sensoriales clave, como color, sabor y textura ya que la función tecnológica de las proteínas afectar directamente a este factor, lo cual podría afectar la aceptación del consumidor y la calidad general del producto. Además, existe la posibilidad de que el aumento en la concentración de proteína de ascidia esté asociado con un mayor contenido de metales pesados u otros componentes contaminantes presentes en el entorno marino, como el vanadio, lo que podría tener implicaciones directas para la salud humana. Por lo tanto, se enfatiza la necesidad de realizar análisis toxicológicos exhaustivos antes de llevar a cabo sustituciones significativas,

asegurando así que las modificaciones en la composición de la barra no comprometan principalmente la seguridad alimentaria ni la salud de los consumidores.

**Tabla 6.** *Contenido de proteína estimado con una sustitución de 15% y 20%*

Sustitución de harina de avena por ascidia alta en proteína en la barra (%)	Porcentaje de Proteína en la barra (%)
0	8.05
10	8.19
15	12.28
20	16.38

*Nota.* Elaboración propia.

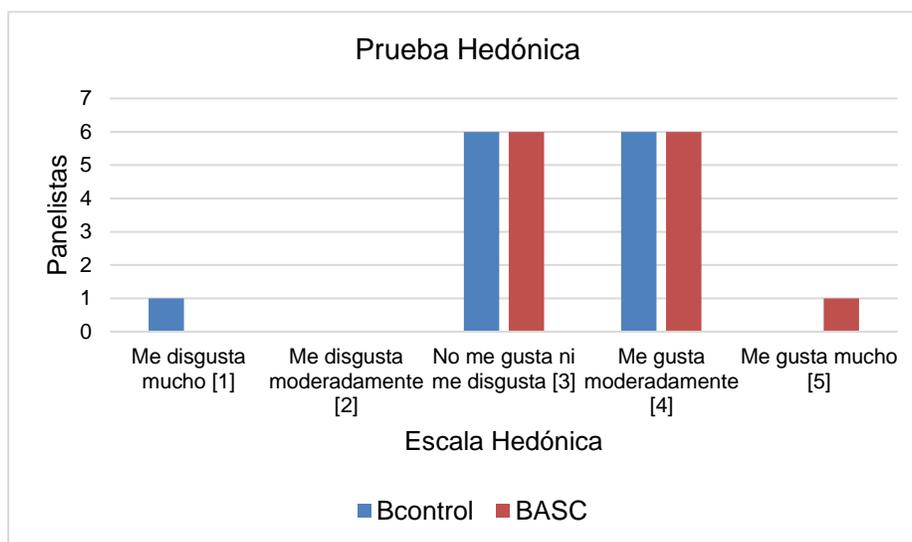
Con respecto al porcentaje de grasas, la muestra BASC-003 registró un porcentaje del 5.16%, mientras que el control presentó un total de 4.66%, el incremento de las grasas en la muestra BASC-003 se debe a la incorporación de la ascidia la cual según Gao y col. (2023) es una buena fuente de ácidos grasos tanto saturados como ácido palmítico y el ácido esteárico, también ácidos grasos insaturados como oleico, linoleico y linolénico.

La humedad que presentó la barra BASC-003 fue de 8.96%, mientras que la del control fue de 8.62%, estos valores se encuentran dentro del rango estipulado en la norma INEN 2595: Granolas. Requisitos, donde el valor máximo de humedad permitido en estos productos es del 10%.

### 3.1.4 Evaluación sensorial

Los resultados de la prueba sensorial (Apéndice C) informaron el nivel de aceptabilidad de la barra control y la barra enriquecida con ascidia, tal como se ilustró en la figura 6.

**Figura 6.** Aceptabilidad de la barrita de cereal enriquecida con ascidia alta en proteína



*Nota.* Elaboración propia.

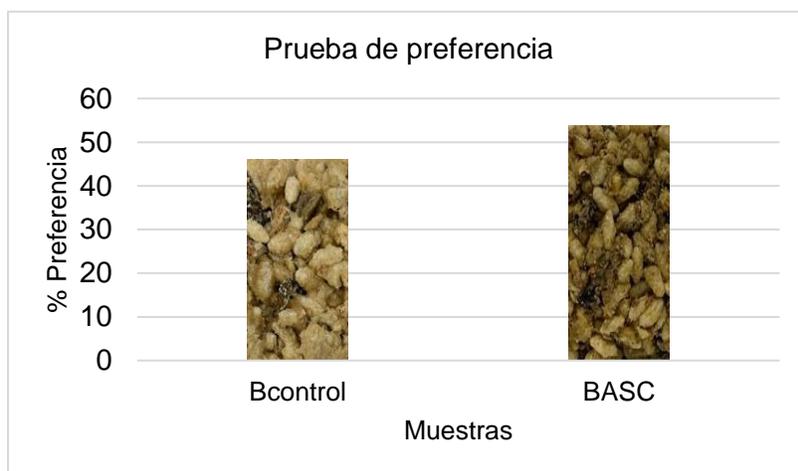
Estos resultados indicaron que el 53,84% de los panelistas mostraron un alto grado de aceptabilidad hacia la barrita enriquecida con ascidia ya que evaluaron a la barrita con “Me gusta mucho” y “Me gusta moderadamente” con respecto a atributos de textura, olor, color y apariencia en general. Algunos de los comentarios de los panelistas fueron “me gusta mucho el aroma de la muestra 987”, lo que nos indicó que se logró enmascarar el olor característico a mar de las ascidias, “la muestra 345 se desmorona más fácil” y “el sabor podría ser un diferencial para elegir”, refiriéndose a que el atributo sabor puede ser un factor clave al momento de tomar una decisión.

No se evaluó el atributo sabor dado que la ascidia usada para elaborar la barrita enriquecida no contaba con los análisis toxicológicos correspondientes que aseguren su ingesta segura. Gran parte de las ascidias acumulan metales pesados y poseen altos niveles de acumulación de toxina PSP, la cual se puede mantener durante un tiempo prolongado (Roje y Ujević, 2014). Sin embargo, las ascidias utilizadas para este estudio se colectaron en líneas ubicadas en zonas de cultivos de otras especies cosechadas por CENAIM.

Los resultados de la prueba hedónica fueron sometidos a un análisis estadístico mediante la prueba t de Student. El valor p obtenido fue de 0.344, superando al nivel de significancia establecido en 0.05. Por lo tanto, se concluyó que no existen diferencias significativas entre la barra control y la barra enriquecida con ascidia, con un nivel de confianza del 95%.

En la figura 7 se presenta el porcentaje de panelistas que mostraron preferencia por cada una de las muestras. Se evidenció que la barra enriquecida con proteína de ascidia tuvo un mayor porcentaje de preferencia (53.85%) en comparación con la barra control.

**Figura 7.** *Preferencia entre la barra control y la barra enriquecida con ascidia alta en proteína*



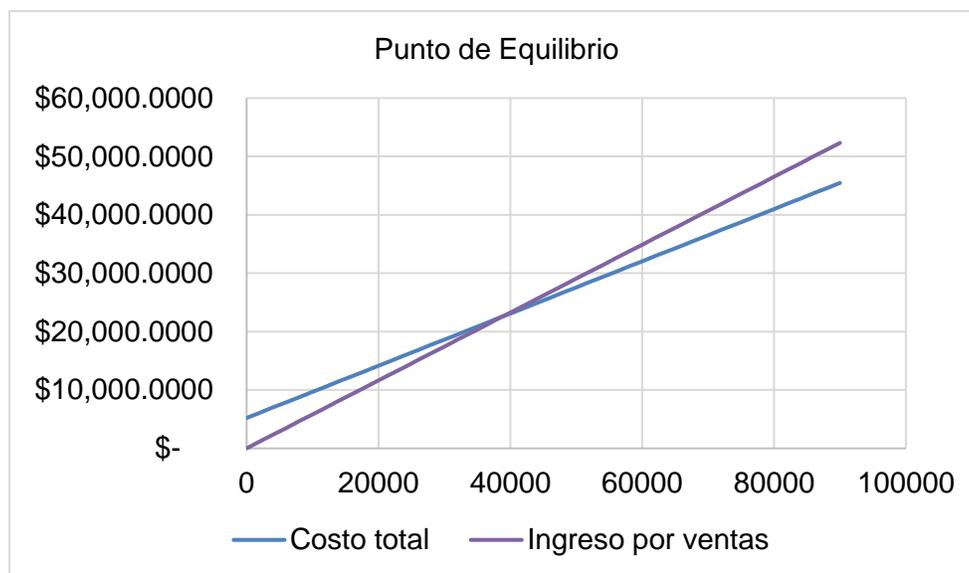
*Nota.* Elaboración propia.

### 3.1.5 Análisis de Costos

El detalle del análisis de costos se muestra en el Apéndice D. Después de analizar los costos fijos y variables y considerando una producción mensual de 120000 unidades, se determinó que el precio de venta al público estimado es de \$0.5814 por cada 30 g del producto, manteniendo un margen de ganancia del 30%. Considerando que, la barra enriquecida con ascidia tiene un valor notable de proteína y que las barras comerciales tienen un precio igual o mayor, se puede suponer que el valor de \$0.5814 es aceptable.

Además, se estima que la inversión total en equipos será de \$36.953,39, los mismos que van a contribuir en el desarrollo de las barras. El punto de equilibrio que se calculó fue de 38813 unidades, tomando en consideración que los costos fijos estimados fueron de \$ 5.207,945 y el costo unitario de producción de \$ 0,4473. La representación gráfica del punto de equilibrio se muestra en la figura 8.

**Figura 8.** *Punto de equilibrio*



*Nota.* Elaboración propia.

## Capítulo 4

## 4.1 Conclusiones y recomendaciones

### 4.1.1 Conclusiones

En esta investigación, se han logrado los objetivos específicos propuestos, dando valiosos aportes a los recientes estudios explorados por ESPOL sobre las ascidias.

- Las ascidias coloniales analizadas, recolectadas por CENAIM-ESPOL, tienen niveles de proteínas en rangos desde ~12% hasta ~32%.
- Dos de las especies identificadas tienen contenido proteico superiores al 30%. Este descubrimiento sienta las bases para la exploración de nuevas fuentes proteicas con potencial aplicación en la formulación de productos alimenticios.
- La aplicación de un diseño experimental permitió la formulación de barras a base de avena y otros cereales, adicionando 10% de la ascidia alta en proteína a la formulación base. Con esta incorporación se observó una mejora de las propiedades organolépticas, texturales y nutricionales de la barra final, por lo que se abre la puerta a oportunidades en innovaciones en la producción de alimentos enriquecidos de manera sostenible y saludable.
- Se observó un ligero incremento de proteínas, grasas, humedad, cenizas y pH en la barra con adición de 10% de ascidia alta en proteínas en comparación con la barra control, teniendo un impacto positivo en la mejora de la calidad del producto final.
- En la prueba hedónica de la barra enriquecida con ascidias, el 8% de los panelistas seleccionaron “Me gusta mucho”, el 46% “Me gusta moderadamente”, asimismo, 46% restante escogió “Ni me gusta ni me disgusta”. En la misma prueba, el 46,15% de los panelistas evaluó la barra control con “Me gusta moderadamente”, el 46,15% “Ni me gusta ni me disgusta” y el 8% escogió me disgusta mucho. Por otro lado, el 54% de los panelistas prefirieron la barra enriquecida con ascidias, mientras que, el 46% la barra control.

En suma, los hallazgos de esta investigación respaldan la viabilidad y el potencial de las ascidias para el desarrollo de barras de cereales como una alternativa nutricionalmente mejorada y sensorialmente aceptable en el competitivo mercado alimentario. Este enfoque innovador no solo responde a la creciente demanda de productos saludables y funcionales, sino que también abre perspectivas prometedoras para la incorporación de recursos marinos en la formulación de alimentos enriquecidos.

En resumen, los objetivos específicos alcanzados en esta investigación convergen de manera exitosa para cumplir con el objetivo principal de incorporar ascidias con alto contenido proteico en una barra de cereales, elevando así su calidad nutricional. La selección de la muestra adecuada, la formulación experimental, y las evaluaciones fisicoquímicas y sensoriales respaldan la mejora significativa del producto final y este estudio no solo avanza en la integración de recursos marinos en la industria alimentaria, sino también destaca el potencial de las ascidias como valiosa fuente proteica sostenible.

#### **4.1.2 Recomendaciones**

- Se recomienda la incorporación de ascidias en otros productos como sticks de carne o condimentos, por la creciente demanda de consumidores que buscan sabores auténticos y experiencias gastronómicas innovadoras. También, se podrían incluir en suplementos alimenticios y así obtener una formulación con perfiles nutricionales mejorados aportando nutrientes esenciales de manera efectiva.
- Para futuras investigaciones, se recomienda la realización de análisis toxicológicos exhaustivos como una prioridad para garantizar la seguridad de los productos derivados de ascidias. Asimismo, la determinación de la vida útil de las barras enriquecidas con ascidias es esencial para asegurar la calidad y aceptabilidad en el tiempo, considerando las características únicas de estos ingredientes.

- La ampliación de las evaluaciones sensoriales con un mayor número de panelistas proporcionará resultados más representativos, permitiendo una comprensión más profunda del perfil sensorial y optimizando así la satisfacción del consumidor.

## Referencias

- Ananthan, G., Karthikeyan, M. M., Selva, P. A., & Raghunathan, C. (2012). Studies on the seasonal variations in the proximate composition of ascidians from the Palk Bay, Southeast coast of India. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 2(10), 793–797. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60231-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60231-7)
- Ares, I., Santalices, A., & Mallo, A. (2020). Estudio del perifiton y otros organismos epibiontes de la ascidia phallusia mammillata y su influencia en posibles epizootias. *Consejo asesor*, 23, 39-46.
- Bastida, R., De León, A., Carballo, J. & Moreno, B. (2014). Cap. 19. Invertebrados bénticos exóticos: esponjas, poliquetos y ascidias.
- Coello, K. E., Frias, J., Martínez-Villaluenga, C., Cartea, M. E., Velasco, P., & Peñas, E. (2022). Manufacture of healthy snack bars supplemented with moringa sprout powder. *LWT*, 154, 112828. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112828>
- Cruz, V., Muñoz, M., Ramírez, S. y Aguila, R. (2021). Ascidas invasoras ¿un problema ambiental o una ventana de oportunidades. *Temas de ciencia y tecnología*, 25(75), 37-43. *Politécnico Nacional*, vol. 25(ISSN 2007-0977), pp 37-43.
- Chun-yan, L., Dan-tong, L., Xue-xiang, Y. (2007). Análisis y evaluación de la composición nutricional de la ascidia *Haloeynthia roretzi*. *Revista de la Universidad Dalian Ocean*, 2007, 22(5): 347-351.

- Dou, X., & Dong, B. (2019). Origins and Bioactivities of Natural Compounds Derived from Marine Ascidiaceans and Their Symbionts. *Marine drugs*, 17(12), 670.  
<https://doi.org/10.3390/md17120670>.
- Endara, P. (2011). Identificación taxonómica y caracterización de la gemación en ascidias de Colombia y Panamá.
- Gao, P., Khong, H. Y., Mao, W., Chen, X., Bao, L., Wen, X., & Xu, Y. (2023). Tunicates as Sources of High-Quality Nutrients and Bioactive Compounds for Food/Feed and Pharmaceutical Applications: A Review. *Foods*, Vol. 12.  
<https://doi.org/10.3390/foods12193684>
- García, M., Ruiz, J., & Fernández, J. (2022). Invasive ascidians as a potential source of protein for human consumption. *Trends in Food Science & Technology*, 125, 102491. Doi: 10.1016/j.tifs.2022.102491.
- González, K., Flores, B., Montiel, P., Gómez, G., & Alvarado, J. (2021). Ascidian diversity of Costa Rica, including new records for the North Pacific. *Revista de Biología Tropical*, 69, 234-245.
- Hassanzadeh, M. (2011). Composition and Application Potentials of Scandinavian Tunicates [Master Thesis Report Royal Institute of Technology]. <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:565784/FULLTEXT01.pdf>
- INEN INEN 2595. (2011). Granola. Requisitos. <https://archive.org/details/ec.nte.2595.2011>
- NTE INEN 0520. (1981). Harinas de origen vegetal. Determinación de la ceniza.  
<https://archive.org/details/ec.nte.0520.1981/mode/1up>

NTE INEN 0523 (1981). Harinas de origen vegetal. Determinación de la grasa.

<https://ia802909.us.archive.org/25/items/ec.nte.0523.1981/ec.nte.0523.1981.pdf>

NTE INEN 0519 (1981). Harinas de origen vegetal. Determinación de la proteína.

<https://ia802906.us.archive.org/28/items/ec.nte.0519.1981/ec.nte.0519.1981.pdf>

Jiang, Z., Wang, K., Zhao, X., Li, J., Yu, R., Fu, R., He, Y., Zhao, P., Oh, K.-C., & Hou, J.

(2021). High-protein nutrition bars: Hardening mechanisms and anti-hardening methods during storage. *Food Control*, 127, 108127.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108127>

Kim, J., Kim, M., Lee, J., Kim, K., Kim, Y., Heu, M., & Kim, J. (2013). Development and

characterization of Sea Squirt *Halocynthia Roretzi Sikhæ*. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46(1), 27-36. <https://doi.org/10.5657/kfas.2013.0027>

Lambert, G. (2019). Fouling ascidians (Chordata: Ascidiacea) of the Galápagos: Santa Cruz and Baltra Islands. *Aquatic Invasions*, 14(1), 132-149.

Lv, X., Han, J., Liu, M., Yu, H., Liu, K., Yang, Y., Sun, Y., Pan, P., Liang, Z., Chang, L., & Chen, J. (2023). Overview of preparation, modification, and application of tunicate-derived

nanocellulose. *Chemical Engineering Journal*, 452, 139439.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139439>

Marhamati, Z., Marhamatizadeh, M. H., & Mohebbi, G. (2021). Evaluation of the

Physicochemical, Antioxidant, and Antibacterial Properties of *Tunichrome* Released from *Phallusia nigra* Persian Gulf Marine Tunicate. *Journal of Food Quality*, 2021, 5513717.

<https://doi.org/10.1155/2021/5513717>

- Marques, T. R., Corrêa, A. D., de Carvalho Alves, A. P., Simão, A. A., Pinheiro, A. C., & de Oliveira Ramos, V. (2015). Cereal bars enriched with antioxidant substances and rich in fiber, prepared with flours of acerola residues. *Journal of food science and technology*, 52(8), 5084–5092. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1585-2>
- Marques, L., Calado, R., & Lillebø, A. (2022). Potential of Ascidiaceans as Extractive Species and Their Added Value in Marine Integrated Multitrophic Aquaculture Systems—From Pests to Valuable Blue Bioresources. *Frontiers in Marine Science*, 9, 849870. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.849870>
- NCE Seafood Innovation. (2023). Sea squirt is the new taco ingredient. <https://seafoodinnovation.no/2023/06/22/sea-squirt-is-the-new-taco-ingredient/>
- Organización Mundial de la Salud. (2004). Global strategy on diet, physical activity and health.
- Pérez, M., Figueroa, D., & Rojas, C. (2017). Ciclo reproductivo de la ascidia *Pyura chilensis* (Urochordata: Ascidiacea) procedente de líneas de cultivo de mitílidos. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(2), 333-342.
- Rawat, N., & Darappa, I. (2015). Effect of ingredients on rheological, nutritional and quality characteristics of fibre and protein enriched baked energy bars. *Journal of food science and technology*, 52(5), 3006–3013. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1367-x>
- Reyes, G. (2021). Caracterización del biofouling asociado a los cultivos de *Crassostrea gigas* y *Argopecten purpuratus*, revisión bibliográfica 2021. La Libertad. UPSE, Matriz. Facultad de Ciencias del Mar. 51p.

- Roje-Busatto, R., & Ujević, I. (2014). PSP toxins profile in ascidian *Microcosmus vulgaris* (Heller, 1877) after human poisoning in Croatia (Adriatic Sea). *Toxicon*, 79, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.12.014>
- Vanni, V., Ballarin, L., Gasparini, F., Peronato, A., & Manni, L. (2022). Studying Regeneration in Ascidiaceae: An Historical Overview. In *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.) (Vol. 2450, pp. 27–48). [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2172-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2172-1_2)
- Zlatanov, S., Laskaridis, K. and Sagredos, A. (2009), Determination of proximate composition, fatty acid content and amino acid profile of five lesser-common sea organisms from the Mediterranean Sea. *International Journal of Food Science & Technology*, 44: 1590-1594. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01870.x>

## Apéndices

## Apéndice A

### Datos Brutos

#### Datos brutos de pH de las barritas

Códigos	R1	R2	R3	Mean
ASC-003	4.61	4.63	4.60	4.61
BASC-003	5.86	5.71	5.84	5.80
CONTROL	5.15	5.13	5.27	5.19

#### Datos brutos de humedad de las barritas

Códigos	R1	R2	R3	Mean
ASC-003	6.27	7.33	6.38	6.66
BASC-003	8.97	9.42	8.49	8.96
CONTROL	8.83	9.35	7.68	8.62

#### Datos brutos de cenizas de las barritas

Códigos	R1	R2	R3	Mean
ASC-003	12.22	12.06	12.19	12.16
BASC-003	2.44	2.43	2.45	2.44
CONTROL	2.20	2.14	2.18	2.18

## Apéndice B

### Hoja de evaluación para la prueba de aceptación

Hoja de evaluación		
<b>Nombre y Apellidos:</b>	<b>Fecha:</b>	
<b>Producto: Barrita nutritiva enriquecida con proteína de ascidias</b>		
<b>Instrucciones:</b>		
Por favor evalúe la apariencia, color, olor y textura de cada muestra. Evalúe las muestras en el orden entregado, de izquierda a derecha. Indique el nivel de agrado marcando con un "X" en el reglón que corresponda a la calificación de la muestra.		
<b>¡NO PRUEBE LAS MUESTRAS!</b>		
<b>MUESTRAS</b>		
	<b>345</b>	<b>987</b>
<b>ESCALA</b>		
Me gusta mucho	-----	-----
Me gusta moderadamente	-----	-----
No me gusta ni me disgusta	-----	-----
Me disgusta moderadamente	-----	-----
Me disgusta mucho	-----	-----
<b>¿Cuál muestra prefiere?</b>		
	<b>345</b> _____	<b>987</b> _____
<b>COMENTARIOS:</b> _____		
_____		
<b>¡Muchas gracias!</b>		

**Fuente:** Elaboración propia.

### Apéndice C

#### Resultados de la evaluación sensorial

No de panelista	Puntaje escala hedónica de 5 puntos		Preferencia		Comentarios
	Barrita Control (345)	Barrita Enriquecida (987)	Barrita Control (345)	Barrita Enriquecida (987)	
1	4	3	x		
2	3	3	x		
3	4	3	x		
4	4	3	x		El sabor podría un factor fundamental para elegir
5	1	4		x	
6	4	3	x		
7	3	4		x	La muestra 345 se desmorona más fácil sin embargo tiene un color más apetecible
8	3	4		x	
9	3	4		x	Me gusta mucho el aroma de la 987
10	3	4		x	
11	4	5		x	Me parece más suave la 987
12	4	3	x		
13	4	5		x	
Total	44	48	6	7	

**Fuente:** Elaboración propia.

## APENDICE D

### Costos

#### Detalle de estimación de costos de materia prima y material de empaque

Materia prima y material de empaque	Unidad	Cantidad	Costo Unitario	Costo por batch	Costo mensual
Ascidias	kg	5,2	\$ 6,30	\$ 32,76	\$ 655,20
Jarabe	kg	70	\$ 4,20	\$ 294,00	\$ 5.880,00
Harina de avena	kg	46,8	\$ 14,50	\$ 678,60	\$ 13.572,00
Mix semillas	kg	26	\$ 1,91	\$ 49,66	\$ 993,20
Arroz crocante	kg	39	\$ 9,40	\$ 366,60	\$ 7.332,00
Pasas	kg	13	\$ 8,33	\$ 108,29	\$ 2.165,80
Cajas de cartón	unidad	1000	\$ 0,66	\$ 660,00	\$ 13.200,00
Empaque	unidad	8000	\$ 0,03	\$ 208,00	\$ 4.160,00
<b>Total</b>					<b>\$ 47.958,20</b>

#### Detalle de estimación de costos de mano de obra directa

Trabajador	Cantidad	Costo unitario	Costo mensual
Jefe de planta	1	\$ 800,00	\$ 800,00
Personal operativo	8	\$ 450,00	\$ 3.600,000
<b>Total</b>			<b>\$ 4.400,000</b>

**Detalle de estimación de costos de activos**

Equipo	Cantidad	Costo unitario	Costo total	Vida útil (años)	Depreciación anual	Depreciación mensual
Balanza	1	\$ 60,02	\$ 60,02	8	\$ 6,00	\$ 0,50
Horno	1	\$ 7.173,41	\$ 7.173,41	10	\$ 717,34	\$ 59,78
Carrito y bandejas	2	\$ 474,62	\$ 949,24	12	\$ 94,92	\$ 7,91
Mezcladora	1	\$ 3.496,30	\$ 3.496,30	10	\$ 349,63	\$ 29,14
Envasadora	1	\$ 8.620,00	\$ 8.620,00	10	\$ 862,00	\$ 71,83
Moldeadora y cortadora	1	\$ 9.000,00	\$ 9.000,00	10	\$ 900,00	\$ 75,00
Mesas de acero inoxidable	2	\$ 442,21	\$ 884,42	12	\$ 88,44	\$ 7,37
<b>Total</b>			<b>\$ 30.183,39</b>		<b>\$ 3.018,34</b>	<b>\$ 251,53</b>

**Detalle de estimación de costos fijos**

Servicios	Costo mensual
Energía eléctrica	\$300,00
Agua	\$100,00
Teléfono	\$25,00
Internet	\$40,00
Limpieza y desinfección	\$40,00
<b>Total</b>	<b>\$505,00</b>

**Precio de venta al público estimado**

Producción	120000 unidades
Costo total de producción	\$ 53.671,14
Costo unitario de producción	\$ 0,4473
Porcentaje de utilidad	30%
Precio de venta unitario	\$ 0,5814