

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

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

“Evaluación del proceso de Absorción del sulfito de sodio en
el músculo del camarón (*L. vannamei*) para el control de la
melanosis”

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

MAGISTER EN CIENCIAS ALIMENTARIAS

Presentada por:

Carmen Emperatriz Llerena Ramírez

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2011

AGRADECIMIENTO

A Dios, que guía mi vida y que me ha dado la fortaleza para vencer todos los obstáculos que se me han presentado. A mi madre por acompañarme incondicionalmente. A mi querido esposo que como compañero infalible me ha apoyado en todo lo que me he propuesto, a Klebercito y Davicito por robarles sus tardes de juegos. A mis maestros de toda la vida y muy especialmente a mis profesores, el M.Sc. Luis Miranda S, Dr. Raúl Díaz T. y el M.Sc. José Suárez., por su dedicación y continua ayuda en la elaboración de esta tesis.

DEDICATORIA

A MI MADRE

A MI ESPOSO

A MIS HIJOS

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ing. Karin Coello O.

DELEGADO DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing..José Suárez M

DIRECTOR DE TESIS

M.Sc. Priscila Castillo S.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la Espol)

Carmen Llerena Ramírez

RESUMEN

La melanosis en el camarón comúnmente conocida como mancha negra es un cambio de color de la superficie causado por formación enzimática de compuestos precursores los cuales pueden polimerizarse espontáneamente y/o reaccionar con componentes celulares para formar pigmentos insolubles.

La adición de sulfito en el camarón reviste una gran importancia en su manejo post cosecha, por cuanto el residual de sulfito puede dar una medida de la protección contra la producción de la melanosis cuya aparición ha originado grandes pérdidas económicas para los productores.

Se realizó un estudio retrospectivo de la influencia del residual de sulfito en cuatro zonas de cultivo pertenecientes a la Empresa Industrial Santa Priscila que abarcan áreas de cultivo con agua salobre y salada, en el período 2010.

Se tomó ejemplares vivos de camarón de la variedad *L.vannamei*, de origen de acuicultura (durante la cosecha), y se realizará el estudio de la cinética de absorción de metabisulfito de sodio a dos temperaturas (5 y 10 °C), dos concentraciones (4 y 8 %) en el músculo de camarón y se obtuvo los modelos matemáticos correspondientes.

Se realizó un diseño experimental de dos niveles y 3 variables, considerando como variables la concentración de la solución, el tiempo de inmersión y las tallas de camarón (pequeño y grande) para la determinación de las corridas experimentales del residual de sulfitos obtenido en el músculo del camarón durante el proceso de dosificación del metabisulfito de sodio. La determinación del residual de sulfito se realizará usando la técnica de Monier William modificado (método oficial).

Se evaluó el costo de la dosificación actual, y el costo de la dosificación propuesta, para proponer un ajuste del proceso.

ÍNDICE

RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ABREVIATURAS.....	VII
SIMBOLOGÍAS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE DE TABLAS.....	X
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES.....	2
1.1 Definición del Problema.....	3
1.2 Objetivos.....	4
1.2.1 General.....	4
1.2.2 Específicos.....	4
1.3 Marco Teórico.....	4
1.3.1 Importancia económico social.....	4
1.3.2 El camarón.....	5
1.3.3 Técnicas de conservación.....	17
1.3.4 Estructura de la Polifenol oxidasa.....	21
1.3.5 Bioquímica de oxidación de la polifenol oxidasa.....	21
1.4 Hipótesis.....	24
1.5 Marco Contextual.....	24

CAPÍTULO 2

2. PRUEBAS EXPERIMENTALES.....	27
2.1 Materiales y métodos.....	27
2.1.1 Materiales de estudio.....	28
2.1.2 Métodos de Cosecha de Camarón.....	28
2.1.3 Métodos de Aplicación de Sulfito en Finca durante el estudio	

Histórico.....	29
2.1.4 Método de toma de muestra en la Planta.....	30
2.1.5 Método de preparación de muestra para análisis.....	30
2.1.6 Determinación de Sulfito Residual usando la Técnica de Monier Williams modificada.....	30
2.1.7 Métodos de Aplicación de Sulfito Propuesto para la finca.....	31
2.2 Estudio histórico de los residuales de sulfito en tres zonas de cultivo de camarón durante el período 2010.....	33
2.3 Determinación de la cinética de absorción del residual de sulfito empleando dos temperaturas y dos concentraciones.....	34
2.4 Diseño experimental.....	35
2.4.1 Variables y Niveles para pruebas experimentales.....	35
2.4.2 Determinación de corridas experimentales.....	35
2.5 Determinación del residual de sulfito a diferentes concentraciones, empleando diferentes tiempos de contacto, considerando dos tallas de camarón (pequeño – grande).....	36

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS.....	37
3.1 Análisis estadístico de los datos histórico del residual de sulfito en cuatro zonas producción durante el período 2010.....	37
3.2 Modelación de la cinética a dos temperaturas, y dos Concentraciones de la absorción del sulfito en el músculo de camarón.....	47
3.3 Evaluación de las pruebas experimentales de dosificación usando dife- rentes concentraciones y diferentes tiempos de contacto, pues las tallas comerciales: pequeño y grande.....	54

CAPÍTULO 4

4. ANÁLISIS TÉCNICO - ECONÓMICO.....	61
4.1 Costos de la dosificación actual.....	61
4.2 Costos de la nueva dosificación propuesta.....	63
4.3 Ajuste del proceso.....	65

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	66
BIBLIOGRAFÍA.....	68
ANEXOS.....	74

ABREVIATURAS

Na ₂ S ₂ O ₅	Metabisulfito de sodio
pH	Potencial de Hidrógeno
lbs	Libras
E223	Código Gras asignado al metabisulfito de sodio.
E301	Código Gras asignado al ácido Ascórbico.
AM4	Metabisulfito encapsulado
E920	Código Gras asignado a la cisteína.
EDTA	
E586	4 Hexilresorcinol
GRAS	Grado alimenticio
FDA	Food and drug administration
EC	Comisión de enzimas
PPO	Polifenol oxidasa
%	Porciento
h	horas
SO ₂	Sulfito
Art	Artículo
Cat	Catálogo
No	Número
HCl	Ácido Clorhídrico
N	Normalidad en mol / l
NaOH	Hidróxido de sodio
S	Azufre

SIMBOLOGIA

t	=	toneladas
g	=	gramos
l ó L	=	litros
°C	=	grados Celsius
mg	=	miligramos
kg	=	kilogramos
ml	=	centímetros cúbicos/ mililitros

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.1 Oxidación de la Polifenol Oxidasa.....	38
Figura 3.1 Gráficas de Caja de Bigotes.....	64
Figura 3.2 Gráficos de Caja – Bigotes.....	69
Figura 3.3 Modelo de Potencia, 40 G/L y Temperatura de °C.....	75
Figura 3.4 Modelo “Rational Function”, 40 G/L y Temperatura de 5°C.....	76
Figura 3.5 Modelo de Harris, 40 G/L y Temperatura de 5°C.....	76
Figura 3.6 Modelo de MMF, 40 G/L y Temperatura de 5°C.....	77
Figura 3.7 Gráfico de Pareto.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1.1 Composición Química del Camarón (Wong 2004).....	7
Tabla 1.2 Especificaciones de Calidad.....	14
Tabla 1.3 Reglamentación de la Comunidad Económica Europea que Definen la máxima Concentración Autorizada de Sulfitos en Crustáceos Expresados en MG/KD o MG/L.....	16
Tabla 3.1 Zona 1.....	37
Tabla 3.2 Zona 2.....	38
Tabla 3.3 Zona 3.....	38
Tabla 3.4 Zona 1 Análisis estadístico de diferentes zonas de Producción.....	38
Tabla 3.5 zona 2.....	39
Tabla 3.6 Zona 3.....	39
Tabla 3.7 Análisis de varianza entre las 11 fincas de producción durante los 13 meses estudiados	40
Tabla 3.8 zona 1 Análisis estadístico del residual de sulfito del producto en proceso en planta donde se recargan las tolvas con 0,5% - 1% de metabisulfito de sodio	41
tabla 3.9 zona 2	42
Tabla 3.10 zona 3.....	43
Tabla 3.11 : Análisis Estadístico del Proyecto en Proceso en Las Diferentes Zonas de producción	43
Tabla 3.12 zona 2.....	43
Tabla 3.13 zona 3.....	43
Tabla 3.14 Análisis de varianza entre las 11 fincas durante el proceso de empaque camarón etapa en la cual se adiciona metabisulfito ente 0,5 % - 1% durante los 13 meses.....	47
Tabla 3.15 Comparación entre los residuales de sulfito de la materia prima y del camarón en proceso en planta al cual se le adicionó entre un 0,5 % - 1% de una disolución de metabisulfito de sodio.....	45

Tabla 3.16	Análisis de rangos múltiples de Duncan.....	46
Tabla 3.17	Análisis comparativo del valor de sulfito residual (mg/kg): materias primas vs producto en proceso	47
Tabla 3.18	Cinética de absorción del camarón usando una disolución de metabisulfito de sodio al 4 % en un intervalo de 1 a 10 minutos a temperaturas de 5°c.....	48
Tabla 3.19	Cinética de absorción del camarón usando una disolución de metabisulfito de sodio al 8 % en un intervalo de 1 a 10 minutos a temperaturas de 5°c.....	48
Tabla 3.20	Cinética de absorción del camarón usando una disolución de metabisulfito de sodio al 8 % en un intervalo de 1 a 10 minutos a temperaturas de 12°c.....	48
Tabla 3.21	Cinética de absorción del camarón usando una disolución de metabisulfito de sodio al 8 % en un intervalo de 1 a 10 minutos a temperaturas de 12°C.....	49
Tabla 3.22	Modelos matemáticos propuestos para la absorción de sulfito en el camarón.....	49
Tabla 3.23	Expresión matemática de los modelos analizados.....	50
Tabla 3.24	Valores de los coeficientes del modelo “rational function”, para las condiciones estudiadas.....	53
Tabla 3.25	Diseño experimental propuesto.....	55
Tabla 3.26	Matriz codificada del diseño experimental.....	55
Tabla 3.27	Resumen de análisis del diseño experimental.....	56
Tabla 3.28	Análisis de varianza del diseño experimental.....	57
Tabla 3.29	Resumen de análisis de modelo modificado eliminando el coeficiente no significativo.....	58
Tabla 3.30	Análisis de varianza del modelo planteado eliminado coeficientes no significativos.....	59
Tabla 3.31	Coeficientes del nuevo modelo.....	60
Tabla 3.32	Análisis de respuesta optimizado.....	61
Tabla 3.33	Muestras comparativas entre camarón con textura firme y camarón con la textura muy blanda (mudado).....	61
Tabla 4.1	Tabla de dosificaciones	63
Tabla 4.2	Costo de dosificación de metabisulfito de sodio en dólares por cada tanque preparado.....	64
Tabla 4.3	Costo por libra procesada.....	64
Tabla 4.4	Ajuste del proceso.....	65

INTRODUCCIÓN

El impacto del sector acuícola en la economía del Ecuador, en los últimos 30 años, es de una indiscutible importancia, como fuente generadora de divisas y empleo puesto que la producción y exportación del camarón han contribuido significativamente en el aparato productivo nacional. (1)

El presente trabajo trata de evaluar la absorción del sulfito en el camarón y la influencia de la concentración de la solución de tratamiento, la talla del camarón (pequeño y grande) y el tiempo de inmersión en la solución de metabisulfito de sodio. Se evaluará el tratamiento adecuado, el cual está enfocado en retardar el obscurecimiento de la cutícula del camarón provocado por la enzima polifenol oxidasa, esta reacción enzimática comienza inmediatamente después de la muerte del animal, de allí que se trata con metabisulfito de sodio a los camarones vivos, para que la absorción sea mejor.

Esta tesis se desarrollará por el auspicio de un grupo empresarial dedicado a la producción, cría, y empaque de camarón, en el sector de Chanduy, Taura, y el Golfo de Guayaquil. Las concentraciones de sulfito en el tejido del camarón son determinadas a través del método estándar Monier - Williams modificado, el cual es el método oficial en el Ecuador y el objetivo de la misma es evaluar la variación del residual de sulfito en el músculo del camarón durante su cosecha, utilizando diferentes tiempos de inmersión y diferentes concentraciones de metabisulfito de sodio, tomando en cuenta el efecto de la talla.

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES

El impacto del sector acuícola en la economía del Ecuador, en los últimos 30 años, es de una indiscutible importancia, como fuente generadora de divisas y empleo puesto que la producción y exportación del camarón han contribuido significativamente en el aparato productivo nacional. El vertiginoso desarrollo de la actividad camaronera lo ubicó en uno de los sectores relevantes de la economía nacional cuando en 1998 las exportaciones camaroneras generaron más de 870.000.000,00 de dólares alcanzando su máximo nivel de representación que convirtió al camarón en uno de los rubros más importantes, como generador de ingresos no petroleros al país, y a su vez en la segunda industria exportadora con más de 150 mil plazas de trabajo directos en cuatro provincias costeras del Ecuador. (1)

El camarón (*L. vannamei*) es un marisco de gran aceptación en el mercado internacional y nacional, y el cultivo en granjas ha hecho posible aspirar a producir un alimento con atributos sensoriales y organolépticos que lo convierten en una “delicatessen” para el consumidor y de alto valor para el productor. Un factor importante a tener en cuenta durante todo el proceso tecnológico es la ocurrencia de Melanosis que consiste en la aparición de una coloración negruzca sobre la cutícula del camarón, la cual constituye un serio problema para los productores, la alta variabilidad de la absorción del sulfito en el músculo provoca la necesidad de lograr un proceso rápido y eficiente antes de la

congelación, ya que este fenómeno de origen enzimático por la reacción de la polifenol oxidasa (PFO) al oxidarse los compuestos fenolíticos en quinonas comienza, por lo general, inmediatamente después de la muerte del animal, aunque en algunos casos ha tenido lugar en especímenes vivos. La melanosis se presenta en todas las especies de camarones. (2)

La Polifenol oxidasa se activa de 18 a 20 horas después de la muerte del camarón. La Melanosis es una reacción química natural que ocurre en el camarón y se extiende desde la cabeza hasta la cola, ramificándose por las extremidades. Para que se desarrolle la melanosis debe existir la PFO, un ambiente de pH alto, una alta temperatura y la exposición a la luz y oxígeno molecular. Esta reacción no es un problema de inocuidad alimenticia sino un problema cosmético o de aspecto producido por las reacciones químicas naturales relacionadas únicamente con la cáscara y el ciclo de muda en el camarón. La melanosis es considerada por las normas oficiales de los Estados Unidos, como una mancha, y no como una alteración bacteriana. (3)

Es muy importante que el camarón deba ser tratado en la granja para prevenir el desarrollo de melanosis (manchas negras) y para reducir el potencial de bacterias nocivas. Los tratamientos de las manchas negras con metabisulfito son más eficaces si se aplican inmediatamente después de cosechar, incluso mientras el camarón está todavía vivo ya que se cree que este tratamiento es más eficaz si el camarón activamente "ingiere" la solución para matar cualquier bacteria interna, entonces, hay que aplicar la solución mientras el camarón vive. El metabisulfito es ampliamente usado como conservante. La fórmula química es $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, tiene un pH de 3,5 – 5,0 y una solubilidad en agua de 470 g/l a 20 °C. (4).

1.1 Definición del problema

La disminución de la calidad sensorial por pérdida de la apariencia apropiada, debida a los cambios de color del producto terminado (camarón congelado en bloques), se debe a la melanización (ennegrecimiento de la cáscara) provocada por la enzima polifenol oxidasa y causa que el camarón sea rechazado por los mercados de Europa y Estados Unidos, Colombia, Chile, etc, y por lo tanto su valor comercial se vea afectado, ya que debe ser comercializado a nivel local. Este cambio en la apariencia no tiene implicaciones químicas o microbiológicas,

solo afecta las características visuales del producto. Esta oxidación puede ser controlada con la adición de antioxidantes como el metabisulfito de sodio el cual debe ser dosificado cuidadosamente por ser una sustancia alergénica que no puede exceder los niveles permisibles de los estándares internacionales definidos por la Unión Europea y el FDA.

1.2 Objetivos

1.2.1 General

Evaluar la variación del residual de sulfito en el músculo del camarón durante su cosecha, utilizando diferentes tiempos de inmersión y diferentes concentraciones de metabisulfito de sodio, tomando en cuenta el efecto de la talla.

1.2.2 Específicos

- 1.2.2.1 Realizar un estudio retrospectivo de residual de sulfito en el músculo de camarón en las tres principales zonas de producción de la empresa en estudio usando el procedimiento actual. (Durante este estudio se unificaron dos zonas y en lugar de cuatro zonas de producción tendremos tres).
- 1.2.2.2 Determinar la cinética a dos temperaturas, y dos concentraciones de metabisulfito de sodio de la absorción del sulfito en el músculo de camarón y obtener los modelos correspondientes.
- 1.2.2.3 Determinar el residual de sulfitos obtenido en el camarón durante el proceso de dosificación, usando diferentes concentraciones en las soluciones de inmersión y diferentes tiempos de contacto, para las tallas comerciales: pequeño y grande.

1.3 Marco Teórico

1.3.1 Importancia Económica y Social.

La industria camaronera del Ecuador logró en algo más de una década uno de los éxitos de acuicultura más sorprendentes del mundo. Desde 1975, la piscicultura del camarón emergió como la principal actividad económica en la zona costera del Ecuador, originando una nueva fuente de exportación. Existen registros de que la producción de camarones en escala significativa comenzó desde 1952, con buques de arrastre. Hasta 1955 la producción fue menor que 1.000 toneladas, se duplicó en 1956 y superó las 3.000 t en 1958. En la década de los 60 aumentó 3,5 veces hasta un máximo cercano a 9.000 t. en 1969.

Luego de que los primeros empresarios camaroneros tuvieran excelentes resultados con el cultivo del crustáceo, se impulsó la actividad en otras provincias de la costa ecuatoriana como Guayas, Manabí y Esmeraldas, por el año de 1976; en ese año la producción fue de 9.000 t. y alcanzó un máximo de 44.600 t en 1983 (35.700 t, de cultivos). En 1984 y 1985 la producción en estanques cayó a 33.600 y 30.205 t respectivamente, lo que fue atribuida a la falta de postlarvas para la siembra. De ahí en adelante el desarrollo de la industria camaronera se expandió en forma sustentable, a tal punto de convertirse en uno de los principales rubros de exportación para el país, esto permitió fomentar una de las industrias de mayor auge en los últimos 30 años.

Luego de la mayor producción experimentada en el año de 1998 con 252'985.907 libras, en 1999 se produjo el primer descenso de la misma al caer a 209'040.500 libras, luego en el año 2000 bajo la cifra de 82'955.793, es decir en más del 60%, en el año 2001 la producción no cae mas y se logran 99'801.296 libras. Desde el 2002 las cifras empiezan a demostrar la recuperación del sector, ese año se obtiene 103'033.746 libras, en el 2003 126'750.834 libras, en el 2004 la producción llego a las 158'460.630 libras, en el año 2005 fueron 194'463.010 libras. (1)

Los mercados de destino de las exportaciones ecuatorianas de camarón son principalmente Estados Unidos, seguido de la unión europea (España e Italia). En el periodo del 2003 al 2007 las exportaciones de camarón se destinaron en promedio 52% a EE.UU, 43% a la unión Europea (España, Italia, Francia) y 5% a otros países como Japón, Chile y Canadá. (1)

1.3.2 El camarón

1.3.2.1 Biología:

El camarón *peneido* es un crustáceo decápodo, de respiración branquial, provista de 2 pares de antenas, perteneciente al *Phylum Astthropoda*, género *Penaeus (Litopenaeus)*, los cuales se caracterizan por tener los apéndices segmentados y el exoesqueleto revestido de quitina. (5) (6)

Existen diferentes especies, de ellas, el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* es también conocido como *Penaeus vannamei*. La clasificación biológica de este crustáceo será como sigue (7)

Phylum:	Arthropoda
Clase:	Malacostraca
Orden:	Decapoda
Suborden:	Dendobranchiata
Superfamilia :	Penaeoidea
Familia :	Penaeidae
Género:	Litopenaeus
Especie:	vannamei

Este crustáceo se caracteriza por presentar coloración blanca con puntos marrón en todo el cuerpo, dos antenas y porción terminal conocida como telson con cuatro urópodos de color rojizo siendo más intensa la coloración en los machos (7). El camarón se divide en dos regiones principales: cefalotórax (conocido también como cabeza) y abdomen (denominada también cola), esta última es la porción que se consume. La cola está constituida por 6 segmentos o somitas que terminan en el telson (5) (8).

Esta especie presenta sexos independientes y la apariencia de las hembras y los machos no difiere marcadamente, aunque las hembras adultas suelen lograr mayor tamaño que los machos (9).

1.3.2.2 Composición Química y Valor Nutricional

La composición química constituye un criterio importante al seleccionar los alimentos sobre todo en aquellos países donde su capacidad de compra es alta. La composición química del camarón varía con diferentes factores entre ellos la alimentación, hábitat, estación del año y edad (10), no obstante se caracterizan por un elevado porcentaje de proteína y bajo contenido en lípidos. (11)

Tabla 1.1 Composición Química del Camarón (11)

Componente	Porcentaje
Proteína	20.
Lípidos	0.9
Humedad	76.5
Cenizas	1.6
Carbohidratos	1.0
Total	100

1.3.2.3 Cultivo del Camarón

La acuicultura representa un importante sector de la producción alimentaria mundial y constituye una elemental fuente de proteínas, empleo e ingresos, siendo la base del sustento de una gran parte de la población mundial. En concreto, el camarón es un producto de alto valor, que se produce principalmente en Asia y América Latina, fundamentalmente para su exportación, generando riqueza en muchos de los países en vías de desarrollo de estas regiones. (12).

Como toda actividad humana, la crianza de organismos acuáticos causa un deterioro en el medio ambiental (13).

Se ha comentado (14) que los principales problemas ocasionados por la acuicultura son el vertimiento de efluentes no tratados, con

lo que se contamina los cuerpos de aguas naturales con nutrientes y materia orgánica; en tal sentido, actualmente se busca realizar una acuicultura de menor impacto al medioambiente, en la que se usen microorganismos tal como bacterias y microalgas que sirvan como biorremediadores de los efluentes, y al mismo tiempo, se les utilice como fuente de alimento natural para las especies en cultivo. (15) (16).

El cultivo de camarón a nivel mundial se puede realizar en tres niveles de intensidad: extensivo, semintensivo, e intensivo, según el grado de desarrollo tecnológico y el diseño técnico que tenga una granja camaronera. (17).

El cultivo extensivo es empleado principalmente donde hay infraestructura limitada, pocos especialistas capacitados en acuicultura, tierra barata y altas tasas de interés. En este tipo de ambiente, los grupos de productores individuales y colectivos, generalmente carecen de acceso a créditos y son capaces de establecer sus operaciones con poca aportación y una limitada tecnología (18), mientras que los que los sistemas intensivos y semi - extensivos surgen como respuesta a la necesidad de maximizar la producción por área. (19).

Dos son las especies dominantes en el cultivo mundial del camarón. El denominado “camarón tigre” (*Penaeus monodon*) y el denominado “camarón blanco” (*Litopenaeus vannamei*). Este último, además de ser el predominante en Ecuador, ha ganado importancia a nivel mundial para el cultivo en granjas, desde que los lotes comerciales de especies domesticas libres de patógenos específicos se encuentran disponibles comercialmente. (20).

Los camarones son organismos acuáticos que abundan en las zonas costeras tropicales del mundo y Ecuador no es la excepción. El ciclo de vida natural del camarón se inicia cuando los adultos se reproducen en la plataforma continental. Ahí los huevos fecundados quedan a merced de las corrientes marinas donde eclosionan como larvas nauplio. Posteriormente, las larvas

se desarrollan, moviéndose hacia la costa en búsqueda de zonas de refugio en las lagunas costeras y los estuarios, los camarones permanecen en estas áreas salobres con vegetación sumergida y son utilizadas como áreas de crecimiento durante 7 a 9 meses, antes de migrar nuevamente al mar a donde arriban como adultos. (21).

El cultivo del camarón o camaronicultura se ha mantenido en constante crecimiento desde sus inicios. Como parte de esa expansión, se ha adoptado una variante de cultivo conocida como “cultivo de camarón tierra adentro” surgida en Tailandia, la cual utiliza aguas de baja salinidad en zonas alejadas de la costa. (22) (23). Esto es posible debido a la capacidad osmorreguladora de *L. vannamei* que le permite sobrevivir en un amplio intervalo de salinidades (de 0.5 a 45 g/ L) (24).

Durante la pasada década, surgieron considerables problemas en la camaronicultura, principalmente debido a enfermedades virales. En particular, en Latinoamérica, donde el *Penaeus vannamei* es la principal especie cultivada, se han sufrido severos problemas a consecuencia de enfermedades de tipo vírico desde principios de los noventa. (12).

Un factor importante que ha influido en la tendencia al “cultivo de camarón tierra adentro” ha sido la creencia de que, las áreas tierra adentro están libres de patógenos de camarones, y que en ellas no se presentan las enfermedades comúnmente reportadas en los ambientes costeros (22), sin embargo, existen reportes en zonas de cultivo en ambientes dulceacuícolas de la incidencia de algunos agentes patógenos y simbioses; como el Virus de la Mancha Blanca (WSSV), Virus de la Cabeza Amarilla (YHV) y protozoos *Zoothamnium* spp. (22) (25).

Se ha demostrado (26) que la presencia de epibiontes y agentes patógenos en diferentes ambientes, ponen en riesgo la supervivencia del camarón, especialmente cuando las condiciones de calidad del agua no son las adecuadas y especialmente hacia

el final del período de cultivo, cuando factores como el aumento en la biomasa y bajos valores de oxígeno disuelto incrementan el riesgo de mortalidad, colocando la producción del estanque en un punto crítico. El monitoreo permanente de los organismos de cultivo para detectar la presencia de epibiontes y patógenos, en conjunto con el monitoreo de la calidad del agua ayudará en la toma de decisiones para la optimización de la producción.

El impacto social y económico de las pandemias causadas por diferentes patógenos en aquellos países en los cuales el cultivo de camarón en granja constituye una fuente significativa de ingresos, ha sido profundo, por lo que la industria ha buscado los mecanismos para restablecer los niveles de producción de los años “pre-virus”. La aplicación de la bioseguridad en el cultivo, posee una gran importancia para estos esfuerzos., por lo que se ha trabajado en identificar las enfermedades más importantes, establecer las metodologías de diagnóstico y el desarrollo y uso de líneas comerciales de especies domésticas libres de patógenos específicos (27).

Como parte de este proceso, se recomienda que el biólogo o representante del cultivo acuda al laboratorio proveedor al momento de la compra de la postlarva, para realizar el conteo, pruebas de estrés de las postlarvas, constatar que el lote de larvas tenga sus respectivos certificados de sanidad libres de patógenos (para legitimar a la larva como libre de mancha blanca WSSV, cabeza amarilla YHV, virus del Taura TSV, entre otros).

Estos certificados deben ser del laboratorio de servicio que realizó el análisis de postlarvas y del Comité de Sanidad Acuícola, en caso de que exista; es importante solicitar copia de ellos, ya que se incluye en el registro de embarque.

Así mismo se deberá solicitar información sobre los parámetros fisicoquímicos de los estanques donde las larvas se encuentran y características de las mismas, para obtener una idea de su estado al momento del conteo y embarque (28).

Además de los aspectos sanitarios, un aspecto a considerar es si el cultivo del camarón en aguas de diferente salinidad puede tener incidencia en sus características organolépticas, según la literatura, el estudio de las características sensoriales de camarones cultivados a diferentes salinidades muestra cambios en el sabor que se atribuyen a los amino ácidos libres, que son al mismo tiempo los principales osmoreguladores y los principales responsables del sabor, por lo que los camarones cultivados en un ambiente de mayor salinidad pueden tener un sabor más intenso, si bien esto es dependiente de las diferencias de salinidad estudiadas (29).

Durante su cultivo, la proteína es el principal nutriente requerido para el crecimiento y uno de los componentes más caros en los alimentos balanceados. También, los camarones pueden utilizar fácilmente la proteína como una fuente de energía. Sin embargo, esto no es eficiente desde un punto de vista económico, ni tampoco adecuado ambientalmente porque incrementaría la cantidad de Nitrógeno liberada al agua en forma de amonio. La acumulación de nitrógeno disuelto especialmente amonio como resultado de la adición de alimento y la excreción de los organismos cultivados en alta densidad, es uno de los principales problemas en los sistemas de cultivo intensivo de camarón, afectando su ingestión de alimento, crecimiento y porcentaje de Supervivencia (30). La presencia de Fósforo y vitaminas en la dieta, también influye notable y favorablemente en la nutrición de este crustáceo, como ha sido reportado en la literatura (31) (32), pero, la continua descarga de nutrientes, principalmente fosfatos y nitrógeno en el agua residual estimulan el crecimiento de algas y otras formas de vida acuática fotosintéticas, acelerando la eutrofización del medio receptor, reducen significativamente la concentración del oxígeno disuelto y producen cambios indeseables en las poblaciones acuáticas (33). Estos efectos indeseables pueden ser reducidos a través del proceso de nitrificación llevado a cabo por parte de las bacterias nitrificantes (30).

Al término del ciclo de vida y una vez alcanzada la madurez adecuada, el camarón es cosechado, observándose en este proceso la presencia de diferentes tallas debido en parte al estado de madurez y en parte a las variables nutricionales mencionadas. La talla alcanzada es importante no solo desde el punto de vista comercial, sino también desde el punto de vista de la absorción de los agentes químicos que posteriormente se utilizan para evitar, retardar o disminuir la melanosis.

1.3.2.4 Ciclos de Cosecha

En el Ecuador al año se realizan dos ciclos de cosecha de 120 días cada uno, iniciándose el primero en el mes de Febrero y el segundo en el mes de Julio, todo inicia con la preparación y desinfección de estanques, luego el llenado para esperar la siembra que se realiza con postlarvas de camarón producidas en laboratorio locales o de países vecinos, estas postlarvas de camarón se tienen que aclimatar a las condiciones de los estanques para proceder a su siembra directa, la densidad de siembra de los estanques es de 12 camarones por metro cuadrado, la alimentación se realiza desde el primer día de cultivo en comederos especiales con el propósito de mantener en optimas condiciones la calidad del agua, vigilancia estricta de la alimentación y mejor manejo de los fondos, con esto se controla el exceso de nutrientes minimizando el impacto ambiental. La cosecha se realiza con bolsos de redes a través de las compuertas de drenaje, durante los llamados agujas lunares (Luna Llena o Luna Nueva) que han probado ser los mejores momentos para cosechar camarón con exoesqueleto duro (34). De los bolsos de cosecha los camarones son transferidos a recipientes especiales con hielo suficiente para su transporte a la planta de proceso donde son clasificados y empacados para su exportación en diferentes presentaciones, siendo la presentación de "Camarón Entero" la preferida del mercado europeo, que es el principal destino.

1.3.2.5 Proceso Industrial del Camarón

Para la presentación de “Camarón Entero”, una vez que han alcanzado el peso adecuado los camarones son cosechados y como primer paso del tratamiento post-cosecha, antes del transporte a la planta de proceso, se emplean agentes antioxidantes para evitar, reducir o al menos retardar la melanosis, un fenómeno común que puede ser observado en frutas y vegetales así como en los mariscos. Debido a los procesos enzimáticos, las heridas del exoesqueleto o el rompimiento de los animales causan el ennegrecimiento de forma rápida como resultado de la secreción de las glándulas que secretan tirosinasa, también llamada polifenol oxidasa. Esta enzima es muy importante para ciertas funciones fisiológicas de los crustáceos, tales como el endurecimiento del caparazón después de la muda o en la curación de heridas (3). Esta enzima endógena cataliza los pasos iniciales de la formación de la “mancha negra” y permanece activa durante todo el proceso post-cosecha, a menos que el camarón a menos que este sea sometido a cocción o congelación. En este último caso, la enzima puede reanudar su actividad en caso de que ocurra la descongelación. De esta manera, los pigmentos negros persistirán a través de todo el procesamiento, a menos que sean blanqueados o enmascarados (35).

En general e independientemente de la presentación, el producto proviene de piscinas propias, y llega a la planta con una rango óptimo de temperatura de $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ y con un peso de 30 a 35 lbs. en cada gaveta. Este producto es lavado y desinfectado con agua helada a $5^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, en esta etapa suele colocarse en esta agua concentraciones de metabisulfito entre 0,5 a 1% para mantener el residual, o reforzar si esta bajo respectivamente.

En la etapa de selección el proceso es continuo y se mantiene el producto a una temperatura de $6^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Se lo clasifica de acuerdo a su tamaño, para su posterior peso- empaque - rotulado.

Una vez empacado pasa a la etapa de congelación hasta que alcance $-18^{\circ}\text{C}/-1^{\circ}\text{C}$ durante seis horas en congeladores de placa.

Una vez congelado el producto terminado es encartonado y colocado en la cámara de almacenamiento con una temperatura de $-23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

La distribución final del producto se realiza en contenedores limpios y desinfectados con una temperatura de $-20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta su destino final.

1.3.2.6 Peligros Asociados al Proceso para el Camarón Crudo Congelado

Uno de los principales peligros que puede existir durante el proceso del camarón de acuicultura lo constituyen las sustancias químicas que se han añadido al mismo para evitar la melanosis. Esto se considera un punto crítico de control dentro de un sistema de inocuidad HACCP pues los sulfitos son alergénicos (36) que pueden ocasionar problemas a personas asmáticas desde fuertes crisis hasta la muerte.

1.3.3 Técnicas de Conservación de Camarón:

Durante el proceso del camarón los principales controles a realizar son los que se describen en la tabla 1.2.

Tabla 1.2 Especificaciones de Calidad (37)

CONSIDERACIONES DE CALIDAD	DEFECTOS	MEDIDAS PREVENTIVAS
Apariencia	Manchas negras	Uso apropiado de sulfito
	Maltrato y daño	Apropiados manejo y colocación en hielo
	Decoloración debido al calor	Colocación a tiempo del producto en hielo
	Cabezas caídas (camarón con cabeza)	Manejo apropiado del producto en hielo solamente.
	Cabezas rojas	Parar alimentación 48 horas antes de la cosecha.
	Cascaras suaves (camarón con cabeza o colas (Shell-on))	Cosecha en el tiempo apropiado basado en chequeos periódicos.
	Coloración amarillenta	Uso apropiado de sulfitos.
	Cascaras picadas o arenosas	Uso apropiado de sulfitos
	Camarones con apariencia lechosa	Extracción de la cosecha.

	Especies mezcladas	Separación de especies en la planta.
Olor/sabor	Descomposición	Colocación inmediata del producto en hielo.
	Cloro	Utilice concentración y tiempo de exposición apropiados.
	Olor petroquímico	Prevenga la contaminación con aceite, diesel, etc.
	Olor a choclo o tierra y cabeza amarga.	Prueba sensorial antes de la cosecha.
CONSIDERACIONES DE CALIDAD	DEFECTOS	MEDIDAS PREVENTIVAS
Textura	Textura esponjosa o suave.	Ración apropiada de hielo y camarón y su colocación a tiempo.
Defectos derivados del proceso.	Bajo peso	Chequeos rutinarios de las especificaciones apropiadas.
	Conteo inexacto	
	Uniformidad	Glaseado y empaque apropiado.
	deshidratación	

Como se puede observar muchos de los controles que se le hacen al camarón son organolépticos siendo siempre el más importante la apariencia. De allí que una de los aspectos más importantes a controlar es la aparición de la melanosis o manchas negras en los camarones después de la cosecha. La melanosis se da en todos los crustáceos y es el resultado de un bio mecanismo natural que no tiene impacto en el sabor y no es dañina para los consumidores. De cualquier manera, el aspecto manchado de los camarones melanizados afecta severamente la aceptación de estos productos por los consumidores y puede ser la causa de pérdidas económicas muy importantes (35).

La melanosis del camarón o “mancha negra” (“black spot”) consiste en una decoloración superficial causada por la formación enzimática de compuestos precursores que pueden polimerizarse espontáneamente o reaccionar con constituyentes celulares para formar pigmentos insolubles que se evalúan mediante una escala gráfica (ver Anexo A). Esto provoca un problema de apariencia análogo al pardeamiento de las manzanas o las papas, que reduce el valor comercial y la aceptación del producto.

Los elementos relacionados en el proceso de melanosis son (3)::

1. La enzima polifenol oxidasa (tirosinasa), cuya acción es inhibida con un valor de pH igual a 3, pero este grado de acidez desnaturaliza la carne de los camarones.
2. El oxígeno, el cual actúa directamente en todas las reacciones de oxidación. Es en este nivel que puede actuar un antioxidante.
3. La presencia de uno o más sustratos adecuados como la tirosina.
4. La influencia de varios factores externos, bióticos y abióticos, tales como el estado de muda, la especie, la temperatura, si tienen heridas, etc. A baja temperatura se hace lenta la reacción enzimática, pero no se detiene. De cualquier manera, este es uno de los motivos por los cuales el pronto enfriamiento en los camarones después de la cosecha es de vital importancia.

El uso de los agentes sulfitantes fue introducido desde la década de los 50 del pasado siglo (3), para inhibir la formación de estas manchas, y por años ha sido el método más empleado a nivel mundial (36) pero en la actualidad, existen regulaciones relativas a la cantidad residual de sulfito permisible en la carne del camarón.

Tabla 1.3 Reglamentación de la Comunidad Económica Europea que Definen la Máxima Concentración Autorizada de Sulfitos en Crustáceos Expresados en mg/kg o mg/l (3)

PRESENTACIÓN/TIPO/TALLA	MÁXIMO NIVEL EXPRESADO EN SULFITO (mg/kg o mg/l)
Camarón crudo congelado	
Hasta 80 unidades por kg	150
Entre 80 a 120 unidades por kg	200
Sobre las 120 unidades por kg	300
Camarón cocido de todas las tallas	50

El pardeamiento enzimático se puede controlar a través del uso de métodos físicos y químicos, en la mayoría de los casos, se emplean ambos, por ejemplo a los métodos físicos, como el calentamiento, deshidratación, irradiación o congelación, pueden asociarse métodos químicos que causan inhibición enzimática. Existen otros métodos físicos que incluyen la reducción de temperatura y/o oxígeno, uso de empaque en atmósferas modificadas o recubrimientos comestibles, tratamiento con

irradiación gamma o altas presiones (36) (39) (40) (2) (41). Los métodos químicos utilizan compuestos que inhiban la enzima, eliminen sus sustratos (oxígeno y fenoles) o funcionen como un sustrato preferido (3).

Entre las sustancias químicas conservantes para prevenir la melanosis tenemos como agentes reductores a el metabisulfito de sodio (E 223), el ácido ascórbico (E 301), AM4 (metabisulfito encapsulado), Cisteína (E 920), Glutación, como agentes quelantes tenemos el fostato, el EDTA, los ácidos orgánicos, como agentes acidulantes el ácido cítrico, el ácido fosfórico, como enzimas inhibitorias el ácidos carboxílicos aromáticos, alcohol alifático, peptidos, sustitutos del resorcinol (4- Hexilresorcinol E586), como tratamientos enzimáticos las oxigenasas, o metil transferasas, las proteasas, como agentes acomplejantes la ciclodextrinas (42). En el Ecuador el agente químico más utilizado es el metabisulfito de sodio, no obstante a nivel mundial y debido a los efectos dañinos para la salud humana en grupos vulnerables (36) se ha empleado como alternativa el 4-hexylresorcinol, el cual es considerado como una sustancia GRAS (36), solo o combinado con otros métodos de conservación (43). El método de conservación del camarón por lo general es químico, usando antioxidantes.

CONSERVACIÓN QUÍMICA DEL CAMARÓN.

En el camarón se han realizado numerosos estudios de conservantes químicos los cuales se fundamentan en la inhibición de la enzima polifenoloxidasas los cuales basan su acción en la eliminación de sus sustratos (oxígeno y fenoles) o bien funcionen como un sustrato preferido. Uno de los compuestos más usados ha sido el metabisulfito de sodio. El procesado de los camarones con metabisulfito de sodio debe ser llevado a cabo antes de que los mecanismos post-mortem den pie al inicio de la aparición de la melanosis. Cuando estos mecanismos empiezan, sólo se pueden retrasar con frío, y si esto ocurre el riesgo es alto, pues a la hora de descongelar el producto habrá un espectacular pico de melanosis, lo cual puede tener horribles consecuencias comerciales.

Generalmente el tratamiento post-cosecha consiste en sumergir los camarones inmediatamente después de la cosecha en dos baños de forma

sucesiva: primero en agua limpia y fría y después en una solución de metabisulfito de sodio. En función del tamaño de los camarones, la concentración empleada de metabisulfito de sodio puede variar entre 6 y 15% (3). El principal problema con este método es la incapacidad de mantener constante la concentración de metabisulfito de sodio en el segundo baño. Parte de éste es absorbida por los camarones, pero el principal factor de la variación es la dilución por la adición de hielo. Para reforzar la técnica del baño generalmente sólo se añade más metabisulfito en polvo, lo cual no es realmente eficiente porque éste no es fácilmente soluble en agua fría, y una gran parte cae al fondo del tanque, no siendo efectivo para el tratamiento.

Además, con el tiempo, la tasa de metabisulfito de sodio residual en los tejidos disminuye y cuando se vuelve insuficiente los mecanismos inician nuevamente. Es entonces aconsejable aplicar un tratamiento lo suficientemente fuerte para producir un efecto duradero, pero los residuales no deben exceder la tasa autorizada de sulfitos residuales en la carne del camarón. Los estándares con respecto a las tasas máximas autorizadas son precisos, pero varían de un mercado a otro. (3).

Antes de que la FDA revocará su estado GRAS en 1986 debido a su riesgo potencial a la salud expuesto por consumidores sensibles (44), los sulfitos se utilizaron ampliamente para controlar tanto el pardeamiento enzimático como el no enzimático. Debido a que se prohibió su aplicación en frutas y verduras para consumo en crudo, se pensó en la posibilidad de emplear otras sustancias químicas para prevenir el pardeamiento enzimático.

Actualmente la mayoría de los equipos que trabajan en la búsqueda de sustitutos de los sulfitos sólo han encontrado uno potencial, el 4-hexilresorcinol. Varios derivados del resorcinol son utilizados industrialmente hoy en día para controlar el fenómeno de oscurecimiento en algunos vegetales. El 4-hexilresorcinol ha sido utilizado por más de 40 años en la industria cosmetológica y farmacéutica sin problemas (3) y es considerado de uso aceptable para la prevención de la melanosis en crustáceos, siempre que sus residuos no excedan los 2mg/kg (45).

Uno de los compuestos más empleados a nivel industrial es el denominado "EverFresh", que consiste justamente, en una mezcla de sal común y 4-

hexilresorcinol, que ha dado buenos resultados en el camarón blanco y otras especies de crustáceos, pero que por sí sola no ha sido efectiva en el camarón rosado (36).

CONSERVACIÓN A BAJAS TEMPERATURAS

Como es sabido, un descenso de temperaturas disminuye la velocidad de deterioro de los alimentos. Los pescados y crustáceos son organismos a los que les falta la termorregulación corporal, por lo que están adaptados a las bajas temperaturas del agua de mar. Este es un factor importante en el desarrollo de los procesos bioquímicos post-mortem y hace que se requieran temperaturas más bajas para su conservación que las requeridas por otros alimentos de origen animal, debido a una mayor velocidad de los procesos enzimáticos (2). Por estos motivos, para minimizar los problemas de deterioro del camarón, un enfriamiento rápido hasta temperaturas cercanas a 0°C y una manipulación bajo condiciones higiénicas son requeridas antes de que los mismos sean congelados. En cualquier caso se hace importante estudiar el comportamiento de los camarones durante su almacenamiento congelado pues ha sido reportado que se puede producir un 20.5% de reducción de residuos de sulfitos a lo largo de seis semanas de almacenamiento en los camarones tratados según el peso (46).

Otros autores (47) han reportado que durante la congelación y un breve período de almacenamiento congelado, hubo una pérdida promedio de un 17% en el residual de sulfito en camarones, donde el sulfito residual en la porción comestible varió desde 92.7 hasta 60.9 mg/kg, siendo el promedio 80.2 mg/kg,. Por otro lado existen otras afectaciones que pueden alterar la calidad del producto congelado debido al envejecimiento natural del mismo debido a procesos enzimáticos, de oxidación y de desnaturalización, entre otros.

Entre los defectos comúnmente observados durante el almacenamiento a bajas temperaturas, se encuentran la melanosis, el hepatopáncreas rojo y el semi descabezado (48).

Para la aparición del hepatopáncreas roja, se observa una notable presencia a partir de las 24 h. de almacenamiento en hielo, la cual

permanece sin mucha variación durante el resto del almacenamiento. Este fenómeno se debe a procesos enzimáticos que tienen lugar cuando el estómago del animal se encuentra ocupado con alimentos (37) (49), y ha sido observado en el *L. schmitti* entre las 20 y las 24 h de almacenamiento en hielo.

Con relación al semi-descabezamiento, éste comienza a aparecer a partir de las 24 h. de almacenamiento en hielo, lo que se debe a procesos enzimáticos que normalmente tienen lugar en los camarones (50). En el caso del camarón de cultivo *L. schmitti* se observa a partir de las 22 h de almacenamiento un considerable porcentaje de camarones afectados (49).

En el caso de la melanosis, ésta comienza a aparecer después de las 48 h de almacenamiento en hielo, producto del arrastre de sulfito que tiene lugar por el derretimiento del hielo, lo cual hace que disminuya la protección que ofrece el tratamiento con metabisulfito de sodio. En este mismo estudio, al evaluar los camarones sin defectos después de 24 h de almacenamiento, menos del 50% de los camarones se encontraron sin afectaciones aparentes, lo que demuestra la necesidad de efectuar un procesamiento rápido y evitar que el camarón permanezca mucho tiempo sin ser congelado (48).

También se observa en los fenómenos de semi-descabezamiento, de aparición de hepatopáncreas rojo y de melanosis, que se presenta un incremento de los camarones afectados a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento en hielo vinculado a que se produce una disminución en el residual de SO₂ debido, fundamentalmente, al efecto de lavado que tiene lugar por el derretimiento del hielo. Con referencia a la melanosis se ha encontrado (48) una tendencia a la disminución del porcentaje de piezas afectadas por este defecto a medida que se incrementan la concentración y tiempo de inmersión lo que comprueba una vez más la efectividad del metabisulfito de sodio en la prevención de este fenómeno. Sin embargo, debe señalarse que la mayor velocidad de absorción ocurre al principio del proceso de inmersión, especialmente durante el primer minuto (51)

Además, la presencia de los defectos semi-descabezamiento, hepatopáncreas rojo y melanosis se incrementa en los camarones

almacenados en congelación durante un año, a medida que aumenta el tiempo de permanencia en hielo previamente a la congelación (48).

ESTRUCTURA DE LAS POLIFENOL OXIDASAS.

Polifenol oxidasas (PFO) es un término genérico para un grupo de enzimas que catalizan la oxidación de los compuestos fenólicos para producir un color pardo o café sobre las superficies de corte de frutas y vegetales y también en las heridas de los crustáceos (52).

La característica estructural más importante de la PFO es la presencia en su centro activo de dos átomos de cobre, unidos a histidinas; alrededor de los cobres, se sitúan aminoácidos hidrofóbicos, con anillos aromáticos importantes para la unión de los sustratos (53) (54). Los sitios activos muestran una estructura piramidal trigonal coordinadas por las esferas formadas por los tres ligandos de histidina y la molécula del solvente como puente. El átomo de azufre de la cisteína 92 no se liga al centro del cobre pero está unido covalentemente al átomo del carbono de la histidina 109.

La PFO tiene dos actividades enzimáticas, una hidroxilando monofenoles (“cresolasa”) y otra oxidando difenoles a quinonas (“catecolasa”). Dependiendo de la fuente, la actividad “cresolasa” es mayor o menor, incluso inexistente en algunos casos. En cambio, todas las enzimas tienen actividad “catecolasa”.

BIOQUÍMICA DE OXIDACIÓN POR LA POLIFENOL OXIDASA

La PFO es una enzima muy importante para la industria de alimentos, debido a que su acción conduce a considerables pérdidas económicas en la industria de frutas frescas y vegetales, tales como papas, manzanas, uvas, bananos y otros (55) y también en la industria camaronera (35). Esta enzima es endógena y juega un papel de protección en los animales, sin que esté totalmente esclarecido su papel en los vegetales y microorganismos (52). En el hombre es la responsable de la formación de pigmentos del pelo y de la piel. En los cefalópodos produce el pigmento de la tinta, y en los artrópodos participa en el endurecimiento de las cutículas

del caparazón, al formar quinonas que reaccionan con las proteínas, insolubilizándolas.(54)

La Comisión de Enzimas (EC) clasifica la polifenol oxidasa, con el número 1.10.3.1. dentro de la clase de las óxido reductasas, actuando sobre difenoles con oxígeno como aceptor (56). La polifenoloxidasa conocida como tirosinasa, fenolasa, catecol oxidasa, o-difenoloxidasa, monofenol oxidasa cresolasa, fue descubierta y aislada inicialmente de champiñones; ella actúa sobre dos tipos de sustratos: monohidroxifenoles como por ejemplo el p-cresol hidroxilandolos en posición orto con respecto al grupo hidroxilo original, EC 1.14.18.1, y sobre o-dihidroxifenoles tales como el catecol, oxidándolos a benzoquinona por remoción de hidrógenos del grupo hidroxilo, EC 1.10.3.1. (57).

El pardeamiento enzimático es un conjunto complejo de reacciones, que se inicia por la o las reacciones catalizadas de forma enzimática. La primera de ellas, cuando el sustrato presente es un monofenol, es su transformación en difenol. La segunda, la transformación del difenol en quinona. En el caso de la tirosina (monofenol) se forma primeramente la dopa (difenol) y luego la dopaquinona (quinonas). La velocidad de estos procesos es gobernada por el pH, la temperatura, el contenido de enzima PFO activa, la presencia de sustancias oxidables como los fenoles, la presencia de amino ácidos y proteínas, etc. (58) (59) (60). Por otra parte, puede producirse también una pérdida nutricional, ya que aunque la polifenoloxidasa no oxida directamente al ácido ascórbico, esta vitamina puede destruirse al reaccionar con intermedios de la reacción (54).

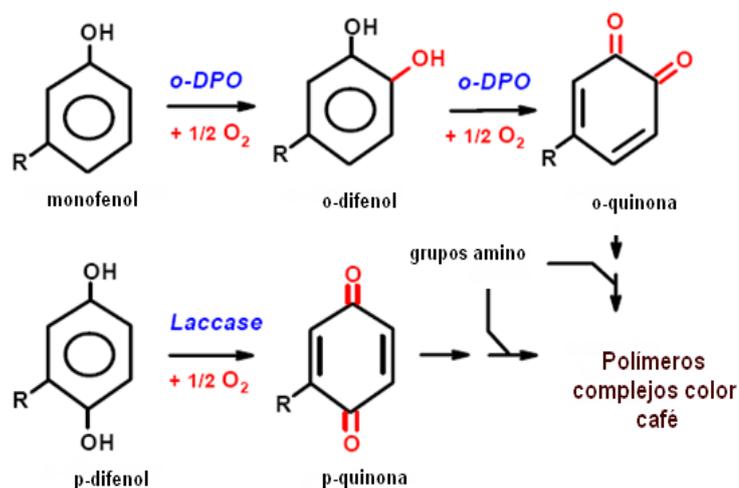


Figura 1.1 Oxidación de la Polifenol Oxidasa

A partir de la formación de la quinonas, la reacción progresa de forma espontánea. Las quinonas se pueden convertir en trifenoles por reacción con el agua, y posteriormente oxidarse a hidroxiquinonas. Todas estas sustancias son muy reactivas, dando lugar a polímeros y reaccionando con otras sustancias presentes en el alimento, especialmente proteínas. Los productos finales, llamados melaninas, son de color muy oscuro, o negro, e insolubles en agua. Estos polímeros tienen propiedades antimicrobianas, y podrían ser un mecanismo de defensa de los vegetales contra infecciones (54).

En el caso del camarón, las polifenol oxidasas son enzimas ubicadas en su estómago que catalizan la reacción dependiente de oxígeno que transforma o – difenoles en o – quinonas. Estas quinonas son especies muy reactivas capaces de modificar covalentemente un amplio abanico de especies nucleòfilas del interior de las células que conducen a la formación de polímeros de color obscuro, responsable de las pérdidas económicas en el mercado del camarón.

En los crustáceos (camarones), la polifenoloxidasa se encuentra en forma de proenzima, inactiva, que es activada por proteólisis por una proteasa endógena. Diversas sustancias producidas por microorganismos activan la proteólisis del proenzima y la formación de enzima activo (61).

DETERMINACIÓN DE RESIDUALES DE SULFITO EN mg/kg o mg/l

El método oficial de determinación de sulfitos en el camarón es el de Monier – Williams pero debido a que se necesita rapidez de detección basándose en este método oficial se ha desarrollado el método Monier Williams modificado por Laboratorio Nacional de Inspección de Productos Pesqueros en Estados Unidos (NSIL). Este consume menos tiempo y es menos caro que realizar el Método Monier – Williams, el cual está

desarrollado para definitivamente detectar camarón con residuales superiores a 100 mg/kg (62).

1.4 Hipótesis

El control del tiempo de inmersión y de la concentración de metabisulfito de sodio, tomando en cuenta la talla del camarón, permitirá obtener una concentración adecuada del residual de sulfito en el músculo del mismo.

Variables

Independiente: Concentración de solución, tiempos de inmersión, talla del camarón.

Dependiente: Concentración de sulfito residual en el músculo del camarón

1.5 Marco Contextual

Antecedentes

El impacto del sector acuícola en la economía del Ecuador, en los últimos 30 años es de una indiscutible importancia., la industria del camarón a escala comercial se inició en 1968, en las cercanías de Santa Rosa, en la provincia de El Oro, la cría de las especies nativas *L. vannamei*, *L. stylirostris*. Sin embargo, no es hasta fines de la década del 70 que la industria empezó su verdadera expansión con la utilización de grandes zonas costeras de la provincia de El Oro y Guayas, que posibilitaron el rápido desarrollo de la industria con bajos costos de producción.

Luego entre 1988 a 1990 sufrió el primer impacto en su producción con la aparición del síndrome de las “Gaviotas”, posteriormente en el año 1993, se presentó el denominado “síndrome de Taura” y finalmente, en los primeros meses de 1999, aparece la llamada “mancha blanca” (WSSV por sus siglas en inglés) que hundió la producción camaronera del país (-60%), y fue a partir del año 2002 la industria camaronera mantiene su proceso de recuperación (1).

Actualmente la única especie que se cultiva en el país es el *L.vannamei* que es la misma especie de camarón salvaje, esto se ha logrado mejorando las líneas genéticas de la especie para que sea más resistente a enfermedades y que se acople a la diversidad de los suelos donde se encuentran las piscinas camaroneras.

La regulación de la actividad acuícola camaronera desde el proceso de producción al de comercialización, corresponde principalmente Ministerio de Agricultura, Ganadería Acuicultura y Pesca (MAGAP), así como también al Ministerio del medio Ambiente, Ministerio de Relaciones Exteriores, Comercio, e Integración (MRECI), Ministerio Coordinador de la Producción, Competitividad y Comercialización (MCPC), Ministerio de industrias y Competitividad (MIC), Ministerio de trabajo y Empleo (MINTRAB), Servicio de Rentas Internas (SRI), Corporación Aduanera Ecuatoriana (CAE) etc., por lo que entre la normativa vigente en las diferentes instancias tenemos (1).

- Ley orgánica de régimen de la soberanía alimentaria. Publicado en el Registro Oficial No 583-S del 5 de mayo del 2009.
- Ley de pesca y desarrollo pesquero, codificación 7, publicado en el Registro Oficial 15, con fecha 11 de Mayo de 2005.
- Reglamento a la Ley de pesca y desarrollo pesquero, Decreto Ejecutivo 3198. Publicado en el Registro Oficial 690 con fecha 24 de Octubre de 2002.
 - Art. 74- Autorización para ejercer la actividad piscícola y/o de acuicultura, tierras altas.
 - Art 81 – 94 y 97.- Solicitud de renovación o cesión de los derechos de concesión.
 - Art 84.- Para la obtención de una concesión.
 - Art 117.- Autorización para el establecimiento y funcionamiento de laboratorios de producción acuícola.

JUSTIFICACIÓN

El 80% de la producción de la planta en estudio destina el camarón a la Comunidad Económica Europea y a los Estados Unidos pues se obtienen mejores precios y rendimientos, pero como la apariencia del camarón es uno de los atributos sensoriales más importantes en la calidad del mismo, la presencia de “melanosis” (black spot), constituye un demérito muy fuerte, que hace que el producto pierda su valor comercial, por lo que se emplea el metabisulfito de sodio para inhibir la aparición de este defecto pero a su vez los compradores controlan estrictamente el nivel de sulfito residual en el músculo el cual no debe exceder de los 150 mg/kg. Por este motivo evaluar el proceso de adición de metabisulfito de sodio al camarón (*L. vannamei*) de acuicultura para el control de la aparición de la melanosis durante la post cosecha y procesamiento industrial, considerando la

concentración de la solución de inmersión, el tiempo y la talla del camarón, es indispensable para mantener la concentración del residual entre 40 - 80 mg/kg.

FACTIBILIDAD

La factibilidad en la realización de esta tesis se basa el auspicio de la Gerencia General de la empresa auspiciante, la cual ha puesto a disposición del autor, para lugar de trabajo la camaronera Chanduy y Taura, ha implementado un laboratorio para análisis de Metabisulfito de sodio, usando la metodología de Monier William modificado, en cada planta procesadora, se facilitará la movilización con la respectiva escolta de seguridad y se aprobó un plan de trabajo en conjunto con un laboratorio de control oficial.

CAPÍTULO 2

2. PRUEBAS EXPERIMENTALES

1.1 Materiales y métodos

Todas las pruebas experimentales se realizaron con camarón vivo de la especie *L.vannamei*, en varios sectores de pesca de la empresa auspiciante.

Los datos históricos de un año en varias zonas de producción fueron medidos después de la aplicación de un tratamiento con metabisulfito de sodio consistente en el método descrito a continuación en el literal 2.1.3 y la medición del residual fue calculada usando el método Monier Williams modificado (Método Oficial en Ecuador) (62).

Entre los materiales y métodos que se han utilizado existen:

MATERIALES

Tinas de tratamiento

Gavetas

Hieleras

Fundas

Equipo de destilación

Fiolas

Bureta digital 100 ml Cat No 17124 – F merck

Pipetas

Sorbona marca Quimis

Balanza gramera

Licuadaora
Vidrio reloj
Peseta

REACTIVOS Y SOLUCIONES

Metabisulfito de sodio al 99%

Ácido clorhídrico (HCl) grado reactivo

Peróxido de Hidrógeno 30% grado reactivo

Solución de peróxido de Hidrógeno 3% grado reactivo

Solución hidróxido de sodio 0.01 N grado reactivo. Estándar de titulación: 4g de NaOH diluido en 100 ml con agua destilada, estandarizado con el estándar de referencia Aftalato ácido de potasio.

Etanol absoluto anhidro

Solución de rojo de metilo, indicador: disolver 250 mg de rojo de metilo en 100 ml de etanol.

Agua destilada

2.1.1 Materiales de Estudio

Camarón blanco de la especie *L. vannamei*, el cual fue criado en los laboratorios de larvas de la propia empresa es llevado a tanques de adaptación para ser transferidos a las piscinas de pre – criadero y luego trasladados a las piscinas definitivas cuando tienen aproximadamente 3 gramos, en donde permanecen aproximadamente tres meses hasta el momento de su cosecha.

La empresa auspiciante donde se realiza el estudio de esta tesis tiene diferentes zonas de producción entre las principales tenemos: la zona cercana al kilómetro 100 en Salinas, en el área conocida como Chanduy, la zona cercana a Naranjal, en el área conocida como Taura, y la zona cercana al Golfo de Guayaquil, en el área conocida como Cerecita. Estas zonas de producción camaronera se caracterizan por tener distintas salinidades. En el Anexo 2 se puede observar las diferentes zonas de producción en el Ecuador.

2.1.2 Método de Cosecha de Camarón

En la mayoría de las granjas el camarón se cosecha con una red o una bolsa que lo recoge mientras que se drena el estanque. Este proceso debe hacerse con un cierto nivel de cuidado para prevenir daños o acumulación excesiva de fango y suciedad mezclado con el camarón. La bolsa debe vaciarse en cestas, tinas o bins limpios aproximadamente cada 15 o 20 minutos.

Dependiendo de la cantidad a cosechar, las unidades del almacenamiento temporal deben pesar no más de 35 a 45 libras para permitir una manipulación razonable.

El camarón debe ser tratado en la granja para prevenir el desarrollo de melanosis para lo cual se debe aplicar metabisulfito de sodio

2.1.3 Métodos de Aplicación de Sulfito en Finca Durante el Estudio Histórico.

Durante la investigación se constató el empleo del procedimiento que se describe a continuación:

1. En una tina de capacidad real de 1000 litros, colocar 200 litros de agua.
2. Agregue de 4 a 6 sacos (aproximadamente cada saco pesa entre 40 – 45 kg) de hielo y agite bien la solución manteniendo siempre la temperatura del agua de la tinas entre 8 - 12 °C.
3. Se colocan aproximadamente 10 litros de agua a temperatura ambiente en un recipiente y se disuelve en la misma una funda de 8 kg de metabisulfito. Una vez que ya está bien disuelto el metabisulfito la solución obtenida debe tener un pH entre 4,1 – 4,2, Esta disolución se añade a la tina anteriormente preparada, donde se mantiene una temperatura de 5°C.
4. El camarón es cosechado como se explica en literal 2.1.2 usando una red o una bolsa que lo recoge mientras que se drena el estanque. Este

proceso debe hacerse con un cierto nivel de cuidado para prevenir daños o acumulación excesiva de fango y suciedad mezclado con el camarón.

5. El camarón cosechado es sumergido en la tina preparada anteriormente, el tiempo de inmersión varía entre 10 - 20 minutos, una vez pasado el tiempo estipulado, el operador procederá a sacar el camarón con una gaveta calada (con agujeros) y luego las coloca en las gavetas cónicas (cerradas) que irán a la planta, adicionando hielo en el fondo y en la parte superior para mantener el camarón a $8 \pm 2^{\circ}\text{C}$, durante el transporte y arribo a la planta procesadora.
6. Se usa la misma solución dos veces.

2.1.4 Método de Toma de Muestra en Planta (Periodo Agosto 2010 – Agosto 2011)

Las muestras de camarón son tomadas en la planta en el momento en que llega la pesca para lo cual se usa el siguiente procedimiento:

1. Se revisa la guía de recepción en donde están descritas el número de gavetas que han sido movilizadas por el camión.
2. Se obtiene la raíz cuadrada del número total de gavetas y se divide imaginariamente el camión en 3 partes (inicio – medio – final).
3. Se toman muestra tanto de las gavetas superiores como de las gavetas inferiores, hasta hacer un total de 2000 gr a los cuales se realizará el análisis de calidad organoléptico de la materia prima y se tomarán 20 camarones para el análisis de sulfito usando el método de preparación de muestra.

2.1.5 Método de Preparación de Muestra para Análisis

1. Se toma la muestra de camarón al momento que llega a la planta.
2. Se prepara el camarón, eliminado la cabeza o cefalotórax y la cáscara, dejando solo la parte comestible para el análisis
3. Se homogeniza la muestra usando una licuadora
4. Se pesan 30 g de la muestra homogenizada en una balanza calibrada usando un vidrio reloj.

5. Se coloca la muestra en un balón de destilación para iniciar el proceso de digestión en medio ácido.

2.1.6 Determinación de Sulfito Residual Usando la Técnica Monier Williams Modificada.

FUNDAMENTO.- Se basa en la digestión de la muestra por acción del ácido clorhídrico concentrado y calor, obteniéndose por destilación los sulfitos que se recogen en peróxido al 3 % neutro. La valoración se realiza con una disolución de Hidróxido de sodio conteniendo una cantidad de sustancia 0.01 mol/ L.

MÉTODO DE DIGESTIÓN DE LA MUESTRA

La muestra ya pesada se coloca en un balón Kjeldahl de 500 ml, se adiciona 150 ml. de agua destilada y 10 ml de ácido clorhídrico concentrado Q.P., al 37% y se lo lleva a ebullición moderada por un lapso de 20 minutos.

MÉTODO DE CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

-
6. Cons.NaOH: consumo de cantidad de sustancia de NaOH 0.01 mg/L de la muestra
 7. Cons. Blanco: consumo de NaOH 0,01N por blanco de reactivos
 8. Normalidad: 0.01
 9. 32.03: mili equivalente de la masa mol S
 10. 1000: expresar los resultados en mg/L

MÉTODOS DE PREPARACIÓN DEL EQUIPO DE DESTILACIÓN

Todo el sistema de arrastre de vapor debe estar completamente limpio para analizar las nuevas muestras, para esto se coloca agua destilada y se enciende el equipo. El vapor producido mientras está encendido y el

arrastre de agua destilada desde la fiola de recuperación cuando el sistema es apagado, va a eliminar cualquier residuo de sulfito que permanezca en el destilador. Una vez limpio el equipo se procede a colocar las fiolas de recuperación preparadas con peróxido de hidrógeno al 3% y la muestra disuelta en agua y en presencia de ácido clorhídrico.

MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LA DISOLUCIÓN COLECTORA EN LAS FIOLAS DE RECUPERACIÓN

En una fiola de 250 ml se diluyen 10 ml de peróxido de hidrógeno al 30% en 90 ml de agua destilada para obtener una solución fresca de peróxido al 3%. A esta solución se le agregan 3 gotas de rojo de metilo y se neutralizan con una disolución de Hidróxido de sodio conteniendo una cantidad de sustancia 0.01 mol/L, la disolución dará cambio de color rosado a color amarillo pajizo. La fiola con la disolución ya neutralizada se coloca en la parte final del equipo de destilación para recoger el condensado de vapor de la muestra.

La presencia de metabisulfito en la muestra se diferencia por el viraje de color nuevamente a rosado debido a la presencia de sulfitos de naturaleza ácida.

MÉTODO DE PREPARACIÓN DEL BLANCO

En una fiola de 250 ml se adiciona 90 ml de agua destilada, 10 ml de Peróxido Hidrogeno al 30%, 3 gotas de Rojo de metilo y se valora la disolución de Hidróxido de sodio conteniendo una cantidad de sustancia 0.01 mol/L hasta la aparición de un color amarillo pajizo

2.1.7 Métodos de Aplicación de Sulfito Propuesto para la Finca

La metodología propuesta implica tiempos de inmersión de 5 a 10 minutos de, el uso de soluciones de concentración de 4 % y al 5%, también se ha considerado la talla del camarón se la divide en grande y pequeño la cual está directamente asociada con el peso del camarón, se propone el peso de 12 a 14 g para el camarón considerado como pequeño y mayor de 20 g para el camarón grande. Las zonas de trabajo fueron las de Chanduy y Taura.

1. En un tanque de capacidad real de 1000 litros, colocar 300 litros de agua.
2. Agregue de 4 a 6 sacos (aproximadamente cada saco pesa entre 40 – 45 kg) de hielo y agite bien la solución manteniendo siempre la temperatura del agua de la tinas entre 12 °C +/- 1°C.
3. Se colocan aproximadamente 10 litros de agua a temperatura ambiente en un recipiente rectangular se disuelve un saco de 24 kg, para la prueba con una concentración de metabisulfito de sodio del 8% y 12 kg para la prueba con una concentración de metabisulfito de sodio al 4%. Una vez bien disuelto, la disolución obtenida debe tener un pH de 4,1 a 4,2 y se la vierte en la tina anteriormente preparada, verificando que la temperatura se mantenga en 12°C.
4. El camarón es cosechado como se explica en literal 2.1.2 usando una red o una bolsa que lo recoge mientras que se drena el estanque. Este proceso debe hacerse con un cierto nivel de cuidado para prevenir daños o acumulación excesiva de fango y suciedad mezclado con el camarón.
5. El camarón cosechado es sumergido en las tinas con las disoluciones antes preparadas de sulfito (4% - 8%), el tiempo de inmersión varía entre (5 - 15) minutos, una vez pasado el tiempo estipulado el operador procederá a sacar el camarón con una gaveta calada (con agujeros) y luego las coloca en las gavetas cónicas (cerradas) que irán a la planta, adicionando hielo en el fondo y en la parte superior para mantener el camarón entre 8 +/- 2°C, durante el transporte y arribo a la planta procesadora.
6. Los tanques preparados serán usados máximo tres veces durante la cosecha, y será recargado con 6 kg de sulfito.

2.2 Estudio Histórico de los Residuales de Sulfito en Tres Zonas de Cultivo de Camarón Durante el Periodo 2010.

Para este estudio retrospectivo se tomaron los datos históricos de los valores residuales de sulfitos en camarón expresados en mg/kg, correspondientes al período agosto del 2010 – agosto del 2011, realizados por el laboratorio interno de la empresa Industrial Pesquera Santa Priscila. en las tres zonas de producción estudiadas.

Estas zonas de producción se caracterizan por tener distintas salinidades debido a que algunas de ellas están cercanas al mar (Chanduy – Pañamao), en terrenos salitrales (Taura, Churute, Nuracorp, Portillo), o encontrarse en la zona cercana al Golfo de Guayaquil (España, Canadá, Kansas, Argentina, Ruanda).

Durante este periodo, se usó el método de cosechas descritos en el literal 2.1.2, el método de tratamiento con metabisulfito de sodio descrito en el literal 2.1.3. y luego el camarón tratado con metabisulfito de sodio es transportado en gavetas cónicas colocándole una capa de hielo en el fondo y otra en la parte superior,

Se analizaron todos los datos muestreados en esta empresa tanto en materia prima como de producto en proceso, etapa en la cual suelen adicionar sulfito en las tolvas de la planta procesadora como se describe en el literal 1.3.2.4 (Proceso industrial del camarón para mantener el residual de sulfito). Se procesan todos los días al año y se explotan siempre estas 3 zonas de producción, las medias de estos resultados obtenidos se convierten en los 143 datos promedios utilizados para el análisis estadístico para lo cual se emplea el programa de computo Statgraphics Plus, en el cual se compararon las muestras múltiples de las tres zonas de producción mediante un análisis de varianza, para buscar diferencias significativas entre las zonas de producción y el tratamiento realizado.

También se comparó mediante este análisis de varianza el residual de sulfito de la materia prima y el residual del sulfito en proceso, los cuales se diferencian porque se refuerza con sulfito en las tolvas de lavado y desinfección,.

2.3 Determinación de la Cinética de Absorción del Residual de Sulfito Empleando dos Temperaturas y dos Concentraciones.

Para la elaboración de las curvas de absorción se tomaron ejemplares vivos con peso promedio de aproximadamente 12 g, los cuales se trataron por inmersión en soluciones de metabisulfito de sodio al 4% y 8%, durante períodos de tiempos comprendidos en el rango de 1 - 10 minutos. La disolución se encuentra en un rango de pH entre 4,1 – 4,2 y la temperatura se mantuvo a 5 ó 12 °C. Las zonas de cosecha del camarón son Chanduy y Taura, estos sectores de estudio se caracterizan por tener diferentes salinidades.

Posteriormente se tomaron muestras de los camarones tratados y se colocaron en fundas plásticas elaboradas con polietileno de alta densidad donde fueron transportados con hielo en proporción 1:1 (una parte de hielo por cada parte de camarón).

Las muestras fueron analizadas utilizando el método Monier-Williams modificado, para determinar el residual de sulfito en mg/kg (método de detección oficial de sulfito residual mg/kg), tanto en el laboratorio interno de la planta como en el laboratorio Oficial de Control perteneciente al Instituto Nacional de Pesca.

Con los resultados obtenidos se elaboraron las curvas de absorción de sulfito, usando el Programa Curve Expert v 1.3, con el cual se revisaron diferentes modelos buscando aquellos que presentaran el mejor ajuste estadístico y a la vez, tuvieran un significado físico.

2.4 Diseño experimental-

Con el objetivo de estudiar el efecto de las variables sobre la absorción de sulfito, se las evaluó en dos niveles, para obtener un modelo que relacione la variable dependiente con más de una variable independiente. En esta propuesta se plantean las interacciones, para determinar si los cambios afectan los resultados del residual de sulfito (mg/kg) absorbido en el músculo del camarón durante el tratamiento con metabisulfito de sodio en la finca

2.4.1 Variables y niveles para pruebas experimentales

Con el objetivo de estudiar el efecto de las variables en dos niveles será reconocido como alta el valor más alto del ensayo (1) y como bajo el valor más bajo del ensayo (-1), los valores que representan las dos concentraciones de la disolución del sulfito son 4% y 8%, las dos tallas de camarón son 12 g y 20 g y los dos tiempos de inmersión son 5 min y 15 min. Se plantea un diseño factorial 2^3 . y se utiliza el paquete estadístico Statgraph, para determinar el efecto de variables dependientes frente a una variable independiente, y evaluar si los cambios afectan los resultados del tratamiento al que está siendo sometido el camarón.

Se elaboró la matriz del proceso, y se debe garantizar que los coeficientes del modelo sean independientes y que el modelo mantenga ortogonalidad. Por lo cual primero se obtiene el modelo matemático y luego se analizaron los coeficientes.

2.4.2. Determinación de corridas experimentales

El diseño factorial 2^3 ordena el experimento (condiciones experimentales), de tal manera que plantea ocho corridas, las cuales serán replicadas una vez. Del mismo se obtienen datos, se estiman los coeficientes del modelo, se evalúa la calidad de ajuste, buscando siempre que sean los menores puntos experimentales. Para esto es necesario codificar las variables o factores y tomar los valores que representan las dos concentraciones de la disolución del sulfito que son 4% y 8%, las dos tallas de camarón que son 12 g y 20 g y los dos tiempos de inmersión que son 5 min y 15 min. Estos valores se deben representar estos dos niveles uno alto (1) y uno bajo (-1), como alto se tomó el factor más alto del ensayo y como bajo se tomó el valor más bajo del ensayo. Para todo esto se emplea el paquete estadístico Statgraphics,

Se elaboró la matriz del proceso, y esta debe garantizar que los coeficientes del modelo son independientes y que el modelo mantiene ortogonalidad, se debe demostrar que el error cambia de magnitud y la varianza cambia pero el cambio no es significativo. Por lo cual primero se obtiene el modelo matemático y luego se analizaron los coeficientes, buscando los coeficientes significativos y descartando los no significativos del modelo matemático propuesto, con esto también se puede determinar cuál de los coeficientes incide con más fuerza, y dependiendo del signo de los coeficientes, nos indica el sentido de la mejora a plantear.

2.5 Determinación de residuales de sulfito a diferentes concentraciones, empleando diferentes tiempos de contacto (2 tiempos) y dos tallas de camarón (pequeño – grande).

Las muestras fueron tomadas durante la cosecha, los tanques usados mantenían concentraciones del 4% y 8%, durante períodos de tiempos comprendidos en el

rango de 1 - 10 minutos, la temperatura se mantuvo en 5 °C ó 12 °C. Las zonas de cosecha del camarón son Chanduy y Taura, sectores de estudio caracterizados por tener diferentes salinidades.

Se empleó la técnica de análisis Monier William modificada, las pruebas fueron realizadas por duplicado, esto es fueron realizados por el laboratorio interno de Control de Calidad y el laboratorio de Control Oficial del sector pesquero del

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS

3.1 Análisis estadístico de los datos históricos del residual de sulfito en las tres zonas de producción en estudio, durante el período Agosto del 2010 a Agosto del 2011.

Se recopilaron los datos correspondientes a los análisis del residual de sulfito realizados en cada mes, de acuerdo al número de cosechas efectuadas en cada período. Los datos fueron procesados para obtener los promedios mensuales por finca, de las diferentes zonas de producción.

Tabla 3.1: Datos Promedios Mensuales del Residual de Sulfito en mg/kg Determinados en Materia Prima de las Tres Principales Zonas de Producción Donde se Realizó el Estudio Retrospectivo Comprendido Desde Agosto del 2010 – Agosto 2011.

Tabla 3.1 Zona 1

MESES	CHANDUY	PAÑAMAO
AGOSTO	28.16	23.67
SEPTIEMBRE	29.89	25.96
OCTUBRE	30.04	23.04
NOVIEMBRE	29.86	35.92
DICIEMBRE	27.23	35.92
ENERO	34.50	24.67
FEBRERO	35.82	34.13
MARZO	38.19	48.34
ABRIL	29.04	31.65
MAYO	39.11	38.14
JUNIO	39.96	32.09
JULIO	28.45	27.99
AGOSTO	25.30	22.54

Elaborado por: Carmen Llerena

TABLA 3.2 ZONA 2

MESES	TAURA	PORTILLO	CHURUTE	NURACORP
AGOSTO	27,95	23,47	23,24	33,35
SEPTIEMBRE	31,29	22,14	26,22	28,28
OCTUBRE	23,33	37,77	22,72	24,54
NOVIEMBRE	28,99	38,29	22,72	46,12
DICIEMBRE	37,86	32,54	33,25	64,87
ENERO	32,65	25,61	33,32	35,03
FEBRERO	35,77	46,15	35,39	32,61
MARZO	39,59	43,57	45,79	40,76
ABRIL	30,59	34,14	36,14	35,92
MAYO	50,75	74,02	34,14	57,26
JUNIO	42,68	35,80	24,54	40,65
JULIO	31,65	44,11	33,33	37,34
AGOSTO	29,17	24,01	41,61	24,54

Elaborada por: Carmen Llerena

TABLA 3.3 ZONA 3

MESES	ZONA 3				
	KANSAS	ARGENTINA	ESPAÑA	CANADA	RUANDA
AGOSTO	32,33	36,95	26,16	28,13	28,86
SEPTIEMBRE	22,56	35,77	26,80	25,84	33,20
OCTUBRE	29,42	39,59	33,62	36,26	35,22
NOVIEMBRE	24,48	30,59	29,80	31,49	35,44
DICIEMBRE	47,76	45,79	25,95	41,26	29,01
ENERO	32,29	36,14	35,64	33,76	37,09
FEBRERO	27,82	34,14	32,83	53,35	35,43
MARZO	41,77	24,54	38,95	40,49	28,27
ABRIL	27,42	34,14	29,34	37,52	47,98
MAYO	39,92	24,54	41,96	35,96	49,09
JUNIO	31,98	33,33	35,68	35,96	38,61
JULIO	36,27	41,61	42,95	33,48	31,98
AGOSTO	26,49	36,55	30,55	29,52	25,43

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.4 Análisis Estadísticos de las Diferentes Zonas de Producción

TABLA 3.4 ZONA 1

Estadísticos	Chanduy	Pañamao
Frecuencia	13	13
Media	31,9654	31,0815
Desviación típica	4,91327	7,49768
Mínimo	25,3	22,54
Máximo	39,96	48,34
Curtosis típica	-0,902122	0,557527
Coficiente de variación	15,3706%	24,1226%

Elaborado por: Carmen Llerena

TABLA 3.5 ZONA 2

Estadígrafos	TAURA	PORTILLO	CHURUTE	NURACORP
Frecuencia	13	13	13	13
Media	34.0208	37.0477	31.7238	38.5592
Desviación típica	7.24786	13.7901	7.40408	11.8692
Mínimo	23.33	22.14	22.72	24.54
Máximo	50.75	74.02	45.79	64.87
Curtosis típica	0.822945	2.74856	-0.485608	0.665454
Coefficiente de variación	21.3042%	21.3042	23.3392%	30.7817%

Elaborado por: Carmen Llerena

TABLA 3.6 ZONA 3

Estadígrafos	KANSAS	ARGENTINA	ESPAÑA	CANADA	RUANDA
Frecuencia	13	13	13	13	13
Media	32.3469	34.8985	33.0946	35.6169	35.0469
Desviación típica	7.32887	5.99783	5.72787	7.0011	7.11586
Mínimo	22.56	24.54	25.95	25.84	25.43
Máximo	47.76	45.79	42.95	53.85	49.09
Curtosis típica	0.0329018	0.245381	-0.654222	1.94417	0.299732
Coefficiente de variación	22.6571	17.1865%	17.3076%	19.6567%	20.3038

Elaborado por: Carmen Llerena

Como puede observarse, en ningún caso el promedio de las zonas alcanzó el límite mínimo esperado de 40 mg/kg de metabisulfito de sodio residual, lo que demuestra la existencia de un punto crítico en la cadena de producción. Además, no existió diferencia significativa en los valores alcanzados en esta variable de control, atribuible a las diferencias en salinidad de las aguas empleadas para el cultivo del camarón que son debidas a la ubicación geográfica de las zonas de cultivo.

También se aprecia, como es de esperar tomando en cuenta que se trata de un material biológico, un valor elevado del coeficiente de variación, a lo que contribuye que no existe un control adecuado de la variación que sufre con el tiempo el contenido de metabisulfito de sodio en las piscinas donde se realiza la inmersión de los camarones cosechados, pues los operarios lo van añadiendo periódicamente de acuerdo a las instrucciones pre establecidas, pero sin que medie un control de la concentración alcanzada. A esta conclusión contribuye el análisis de los recorridos, donde se aprecia que ocasionalmente algunos valores se encuentran entre 50 y 75 mg/kg, siempre por debajo del límite máximo deseado que es de 80 mg/kg. Estos valores se observan sin que exista una asociación con el periodo del año, o la zona geográfica.

Tabla 3.7 Análisis de Varianza Entre las 11 Fincas de Producción Durante los 13 Meses Estudiados.

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valo
Entre grupos	725,462	10	72,5462	1,08	0,3843
Intra grupos	8890,78	132	67,3544		
Total (Corr.)	9616,24	142			

Elaborado por: Carmen Llerena

El resultado del procesamiento de los datos mediante el análisis de varianza descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El valor F, que en este caso es igual a 1.07708, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del estadígrafo F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 11 fincas estudiadas a un 95,0% de confianza.

Esto puede interpretarse como que las diferencias entre las fincas, debidas a las diferencias en salinidad o entre grupos de trabajo (personal que realiza la cosecha) no afectan el comportamiento del residual de sulfito en el músculo del camarón. Esto se corrobora con lo mostrado en el gráfico de cajas y bigotes (figura 3.2) donde se puede observar como las medias se solapan.

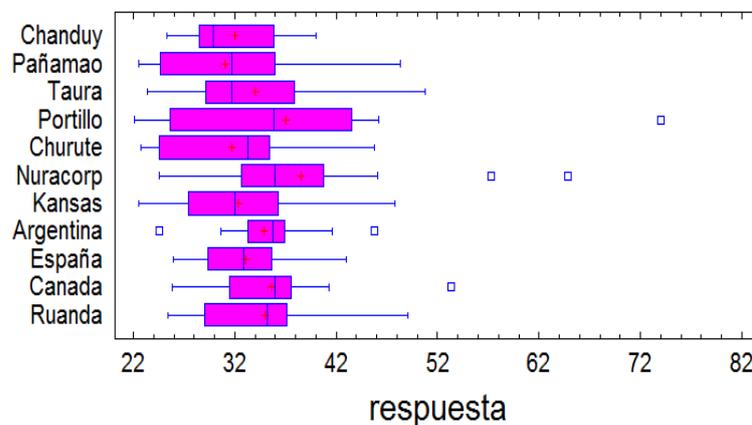


Figura 3.2. Gráfica de Caja y Bigotes del Análisis de los Datos de Residuales mg/kg de Camarón que Llega a la Planta

Elaborado por: Carmen Llerena

Debido a que los valores de residual de sulfito obtenidos en todas las fincas son bajos, es práctica común en la industria camaronera añadir más metabisulfito de sodio durante el proceso industrial, para lo cual se adiciona esta sustancia en las tolvas de recepción, sin que esté demostrado estadísticamente el efecto de este proceso.

Las tablas 3.8 – 3.9 – 3.10 se muestran los datos promedios de los residuales mensuales después de la recarga con metabisulfito de sodio en rangos de 0,5 al 1 %, analizados durante el periodo estudiado, para cada finca de producción en las distintas zonas estudiadas y en las tablas 3.11 – 3.12 – 3.13 se encuentran los resultados de los estadígrafos aplicados, donde se detallan los valores de las medias, desviación típica, mínimo, máximo, coeficiente de variación.

Tabla 3.8.- Análisis Estadístico del Residual de Sulfito del Producto en Proceso en Planta Donde se Recargan las Tolvas con 0,5% - 1% de Metabisulfito de Sodio

Tabla 3.8.- Zona 1

MESES	CHANDUY	PAÑAMA
AGOSTO	40,05	39,1
SEPTIEMBRE	40,80	39,96
OCTUBRE	41,15	38,16
NOVIEMBRE	45,70	42,72
DICIEMBRE	38,72	39,72
ENERO	44,66	41,56
FEBRERO	41,73	45,4
MARZO	39,98	45,4
ABRIL	48,02	35,28
MAYO	45,26	49,8
JUNIO	39,02	42,62
JULIO	33,42	36,84
AGOSTO	33,79	44,14

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.9.- Zona 2

MESES	TAURA	PORTILLO	CHURUTE	NURACORP
AGOSTO	35,92	23,47	41,7	32,81
SEPTIEMBRE	52,46	42,32	37,6	42,96
OCTUBRE	45,67	36,51	24,27	37,3
NOVIEMBRE	50,09	53,82	24,27	43,84
DICIEMBRE	50,09	19,74	41,97	46,01
ENERO	40,76	19,74	39,48	40,42
FEBRERO	43,61	48,15	46,41	35,21
MARZO	40,22	49,08	35,79	77,62
ABRIL	40,22	35,21	49,92	30,94
MAYO	35,34	81,36	38,41	38,41
JUNIO	52,28	40,54	30,94	37,88
JULIO	58,79	34,14	40,24	59,75
AGOSTO	28,8	33,61	40,24	30,17

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.10.- Zona 3

MESES	KANSAS	ARGENTINA	ESPAÑA	CANADA	RUANDA
AGOSTO	40,9	40,24	42,01	39,41	39,61
SEPTIEMBRE	38,81	42,96	38,09	39,42	41,99
OCTUBRE	39,2	48,47	40,93	41,19	45,74
NOVIEMBRE	48,19	41,52	48,47	51,04	41,17
DICIEMBRE	41,81	49,92	36,00	34,14	58,68
ENERO	40,71	58,68	35,60	42,57	42,18
FEBRERO	39,23	42,62	35,22	37,34	37,78
MARZO	41,52	30,58	43,54	44,53	40,72
ABRIL	30,58	40,24	42,83	50,53	53,51
MAYO	35,65	37,88	38,08	42,41	52,88
JUNIO	50,75	38,41	42,54	42,41	38,55
JULIO	40,97	44,14	68,28	40,82	26,89
AGOSTO	30,58	42,62	32,36	29,88	32,73

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.11 Análisis Estadístico del Proyecto en Proceso en las Diferentes Zonas de Producción

Tabla 3.11.- Zona 1

Estadígrafo	Chanduy	Pañamao
Frecuencia	13	13
Media	40.9462	41.5923
Desviación típica	4.32024	3.99765
Mínimo	33.42	35.28
Máximo	48.02	49.8
Curtosis típica	-0.145711	0.0092386
Coefficiente de variación	10.551%	9.61152%

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.12.- Zona 2

Estadígrafo				
	TAURA	PORTILLO	CHURUTE	NURACORP
Frecuencia	13	13	13	13
Media	44.1731	39.8223	31.72	42.5631
Desv típica	8.39642	16.4829	7.404	13.062
Mínimo	28.8	19.74	22.72	30.17
Máximo	58.79	81.36	45.79	77.62
Coefficiente de variación	19.008%	41.3912%	23.339%	30.6886%

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.13.- Zona 3

Estadígrafo	KANSAS	ARGENTINA	ESPAÑA	CANADA	RUANDA
Frecuencia	13	13	13	13	13
Media	39.9154	45.7846	41.8423	35.61	42.4946
Desv típica	5.69672	7.33671	9.05164	7.001	8.62125
Mínimo	30.58	36.51	32.36	25.84	26.89
Máximo	50.75	58.68	68.28	51,04	58.68
Coefficiente de variación	14.272	16.0244%	21.6327%	19.65%	20.287%

Elaborado por: Carmen Llerena

En la tabla 3.14 se muestra el análisis de varianza realizado entre las 11 fincas durante el proceso de empaque del camarón, después de la adición de metabisulfito para evaluar el efecto de la adición del metabisulfito de sodio en las tolvas de recepción. Sin embargo, estos datos indican que no se cubren siempre las expectativas de sobrepasar los 40 mg/kg,

Tabla 3.14.- Análisis de Varianza Entre las 11 Fincas Durante el Proceso de Empaque Camarón Etapa en la Cual se Adiciona Metabisulfito Ente 0,5 % - 1% Durante los 13 Meses.

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	400,965	10	40,0965	0,51	0,8835
Intra grupos	10463,3	132	79,2671		
Total (Corr.)	10864,2	142			

Elaborado por: Carmen Llerena

El resultado del procesamiento de los datos mediante el análisis de varianza descompone la varianza de los datos en dos componentes entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El valor F, que en este caso es igual a 0.51, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del estadígrafo F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 11 variables a un 95,0% de confianza.

Esto se corrobora con lo mostrado en el gráfico de cajas y bigotes (figura 3.3) donde se puede observar como las medias se solapan. Estos gráficos se construyen de tal manera que si dos medias son iguales, sus intervalos se solaparan el 95.0% de las veces.

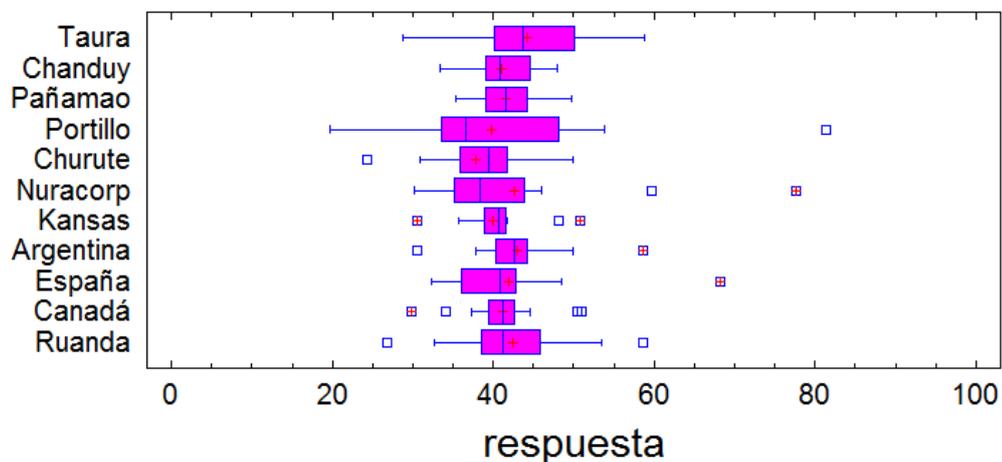


Figura 3.3.- Gráfico de Cajas – Bigotes de Camarón al que se le Adiciona Sulfito en la Planta Para su Empaque.

Elaborado por: Carmen Llerena

Para evaluar si la adición del metabisulfito de sodio en la tolva tuvo efecto sobre el valor medio obtenido para cada finca, se realizó otro análisis de varianza, comparando los valores obtenidos en la materia prima con los obtenidos después de esa adición. Los resultados se muestran en la tabla 3.15.

Tabla 3.15.- Comparación Entre los Residuales de Sulfito de la Materia Prima y del Camarón en Proceso en Planta al Cual se le Adicionó Entre un 0,5 % - 1% de una Disolución de Metabisulfito de Sodio.

Análisis de la Varianza					
Fuente	Sumas de cuad.	Gl	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
Entre grupos	4592,02	20	229,601	3,13	0,0000
Intra grupos	18462,1	252	73,2624		
Total (Corr.)	23054,1	272			

Elaborado por: Carmen Llerena

En la tabla del análisis de varianza se descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de cada grupo. El valor F que en este caso es igual 3,13, es el cociente de estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el valor del estadígrafo F es inferior a 0,05, hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias antes y después de la adición a un nivel de confianza del 95%.

Una forma de identificar las medias que son significativamente diferentes unas de otras es mediante la realización de la prueba de Rangos múltiples de Duncan, la cual está a continuación representada, y compara los datos de las 3 zonas de pesca que incluyen las 11 fincas, monitoreadas desde agosto 2010 hasta agosto del 2011.

Tabla 3.16: Análisis de Rangos Múltiples de Duncan

Contraste Múltiple de Rango			
Método: 95,0 porcentaje Duncan			
	Frec.	Media	Grupos homogéneos
PAÑAMA0 MP	13	31,0815	X
CHURUTE MP	13	31,7238	X
CHANDUY MP	13	31,9654	XX
KANSAS MP	13	32,3469	XX
ESPAÑA MP	13	33,0946	XXX
TAURA MP	13	34,0208	XXXX
ARGENTINA MP	13	34,8985	XXXXX
RUANDA MP	13	35,0469	XXXXXX
CANADA MP	13	35,6169	XXXXXX
PORTILLO MP	13	37,0477	XXXXXXXX
CHURUTE PP	13	37,7877	XXXXXXXX
NURACORP MP	13	38,5592	XXXXXXXX
PORTILLO PP	13	39,8223	XXXXXXXX
KANSAS PP	13	39,9154	XXXXXXXX
CHANDUY PP	13	40,9462	XXXXXX
CANADA PP	13	41,2069	XXXX
PAÑAMA0 PP	13	41,5923	XXXX
ESPAÑA PP	13	41,8423	XXXX
NURACORP PP	13	42,5631	XXX
ARGENTINA PP	13	42,9446	XX
TAURA PP	13	44,1731	X

Elaborado por: Carmen Llerena

En esta tabla se aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar si las medias son significativamente diferentes unas de otras, con un 95% de confianza. Se identifican en esta tabla 3.16 una comparación en los residuales de las muestras, durante la llegada de la materia prima y el producto en proceso después de la recarga de sulfito en planta, los grupos homogéneos según la alineación del signo x en columna, dentro de los grupos de cada columna los niveles que tienen signo x forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativa.

El resumen de este resultado se encuentran resumidos en la tabla 3.17 donde se evalúa el análisis comparativo del valor del sulfito residual entre Materia Prima y el Producto en Proceso después de la recarga.

**Tabla 3.17.- Análisis Comparativo del Valor de Sulfito Residual (mg/kg):
Materias Primas vs Producto en Proceso**

Zona	Finca	Materia prima	Producto en proceso	Diferencia significativa
1	Chanduy	31,96	40,94	Sí
	Pañamao	31,08	41,59	Si
2	Taura	34,02	44,17	Si
	Portillo	37,04	39,02	No
	Churute	31,75	37,70	Si
	Nuracorp	38,56	42,56	No
3	Kansas	32,35	38,91	Sí
	Argentina	34,89	42,94	Si
	España	33,04	41,84	Si
	Canadá	35,61	41,10	Si
	Ruanda	35,04	42,45	Si

Elaborado por: Carmen Llerena

De la inspección de esta tabla 3.17, se observa que la adición del metabisulfito de sodio en la tolva fue efectiva en la mayoría de los casos, pero al analizar las medias, se comprende que aun es insuficiente para asegurar los valores mínimos deseados. En cuanto a las dos fincas donde aparentemente no fue efectiva la adición de metabisulfito en las tolvas, debe considerarse que son las que presentaron mayores recorridos de las medias y por tanto mayor desviación típica, indicando la necesidad de controlar mejor el trabajo de las brigadas en dichas fincas, pues cuando asistí a la cosecha de una de ellas pude observar que el método de pesca por ser policultivo tilapia camarón era inadecuado y los animales cosechados salían muertos, y esto no permite la absorción.

3.2 Modelación de la Cinética de la Absorción del Sulfito en el Músculo del Camarón, a dos Temperaturas y dos Concentraciones.

Los resultados fueron obtenidos experimentalmente usando camarones vivos de 12 g, los cuales fueron sumergidos en dos concentraciones de disoluciones de metabisulfito de sodio (4% - 8%) y durante un período de 1 – 10 minutos. El residual obtenido está expresado en mg/kg de sulfito absorbido en la parte comestible del camarón, como se puede ver en las tablas 3.17 a la 3.20.

Tabla 3.18: Cinética de Absorción del Camarón Usando una Disolución de Metabisulfito de Sodio al 4 % en un Intervalo de 1 a 10 Minutos a Temperaturas de 5°C.

TIEMPO	CONCENTRACIÓN mg/kg de sulfito		
	muestra 1	muestra 2	PROMEDIO
0	15,45	15,45	15,45
1	22,41	21,41	21,91
2	23,47	22,55	23,01
3	24,54	21,74	23,14
7	27,74	23,15	25,45
10	27,74	24,41	26,08

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.19: Cinética de Absorción del Camarón Usando una Disolución de Metabisulfito de Sodio al 8 % en un Intervalo de 1 a 10 Minutos a Temperaturas de 5°C.

TIEMPO	Concentración en mg/kg de sulfito		
	Muestra 1	Muestra 2	promedio
0 minutos	15,45	15,45	15,45
1 minuto	40,55	33,08	36,82
5 minutos	53,35	45,88	49,62
10 minutos	56,55	53,55	55,05

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.20: Cinética de Absorción del Camarón Usando una Disolución de Metabisulfito de Sodio al 8 % en un Intervalo de 1 a 10 Minutos a Temperaturas de 12°C.

TIEMPO	CONCENTRACIÓN mg / kg de sulfito		
	muestra 1	muestra 2	PROMEDIO
0	15,45	15,45	15,45
1	28,47	25,41	26,94
2	28,81	26,68	27,745
3	29,7	32,08	30,89
7	30,94	32,41	31,675

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.21: Cinética de Absorción del Camarón Usando una Disolución de Metabisulfito de Sodio al 8 % en un Intervalo de 1 a 10 Minutos a Temperaturas de 12°C.

TIEMPO	CONCENTRACIÓN mg/ kg de sulfito		
	Muestra 1	Muestra 2	promedio
0 minutos	15,45	15,45	15,45
1 minuto	84,79	69,34	77,07
5 minutos	88,15	78,5	83,33
10 minutos	93,76	97,06	95,41

Elaborado por: Carmen Llerena

Estos datos fueron procesados empleando el programa CurveExpert, para encontrar posibles modelos predictivos para el proceso de absorción del metabisulfito de sodio en el músculo de camarón. De los modelos propuestos por el programa, algunos fueron rechazados debido a su falta de significado físico (growth model, sinusoidal) y se estudiaron otros, algunos de los cuales (lineal, exponencial) fueron rechazados debido a la baja correlación mostrada por los datos. De los modelos estudiados se seleccionaron para su comparación aquellos que presentaron mejor correlación. Los resultados se sumarían en la tabla 3.22.

Tabla 3.22: Modelos Matemáticos Propuestos para la Absorción de Sulfito en el Camarón

Talla (g)	Concentración (g/L)	t/°C	Modelo	r	S
12	40 Hay que hacer para 12	5	Potencia	0.9316619	1.4770414
			Rational Function	0.9325360	1.6411589
			Harris	0.9055682	1.8177986
			MMF	0.9328904	1.6369920
		12	Potencia	0.9736856	1.5326690
			Rational Function	0.9787675	1.5412259
			Harris	0.9370827	2.4748610
			MMF	0.9783111	1.5575197

Elaborado por: Carmen Llerena

La expresión matemática de los modelos comparados se muestra en la tabla 3.23.

Tabla 3.23.- Expresión Matemática de los Modelos Analizados.

Nombre del modelo	Ecuación
Potencia	$y=ax^b$
Rational Function	$y=(a+bx)/(1+cx+dx^2)$
Harris	$y=1/(a+bx^c)$
MMF	$y=(a*b+c*x^d)/(b+x^d)$

Elaborado por: Carmen Llerena

Como puede ser observado en la tabla 3.23 todos los modelos comparados (excepto el de Harris) tuvieron mejor correlación a mayor temperatura y concentración (51), lo que puede ser explicado por el hecho de que mientras más baja es la temperatura en el rango estudiado, mas irregular se vuelve el comportamiento de la absorción de los camarones, que pueden sufrir un estrés por frio que incluso puede causarles la muerte y la absorción de sulfito es diferente cuando el camarón aun está vivo. Por otra parte, al observar los gráficos ajustados (figuras 3.4, 3.5, 3.6 y 3.7), todos los modelos, excepto el “Rational Function” muestran un incremento prácticamente instantáneo de la concentración de sulfito que no se corresponde con el proceso físico de absorción, además de que con este modelo se encontró la mayor correlación en ambas temperaturas, ya que el modelo MMF falló en alcanzar la convergencia de los datos después de 100 iteraciones, a la temperatura de 12 °C. Por estas razones, este fue el modelo seleccionado como ecuación de predicción, pese a ser un poco más complejo desde el punto de vista matemático que el modelo potencial. Este resultado coincide con lo recomendado por otros autores (51).

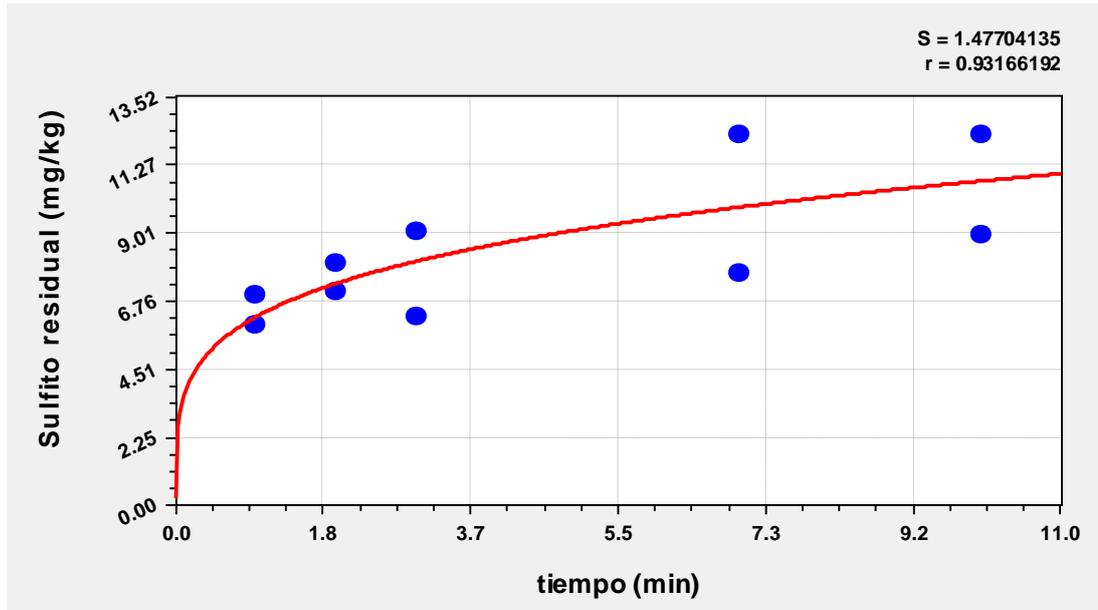


Figura 3.3 Modelo de Potencia, 40 g/l y Temperatura de 5°C
Elaborado por: Carmen Llerena

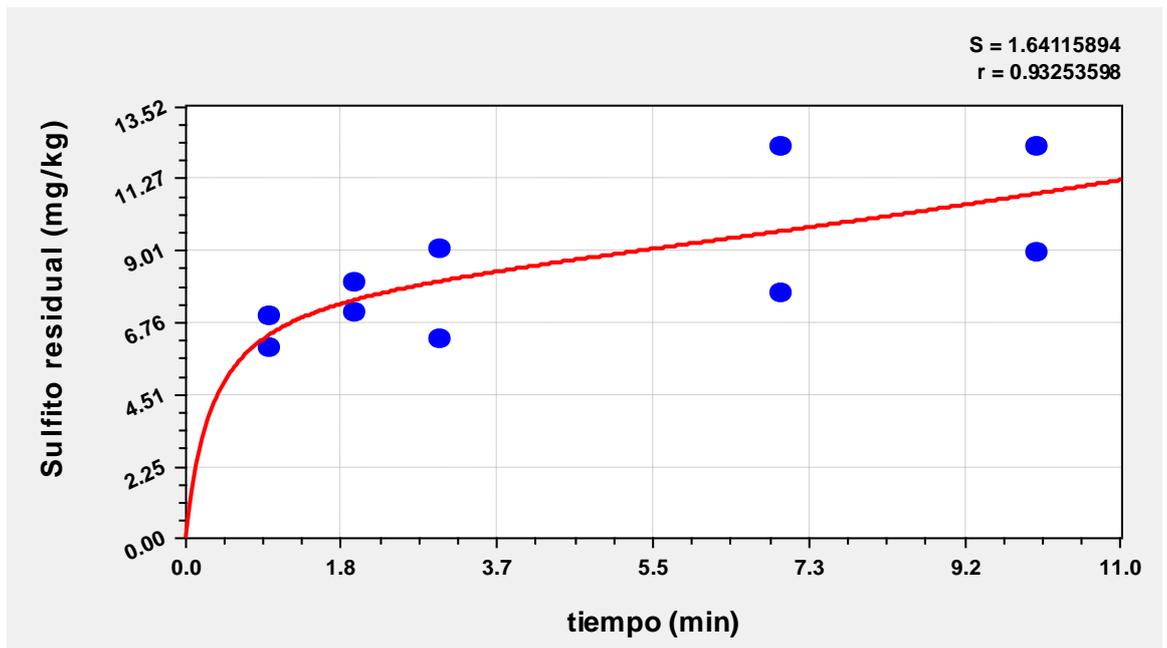


Figura 3.4 Modelo "Rational Function", 40 g/l y Temperatura de 5 °c
Elaborado por: Carmen Llerena

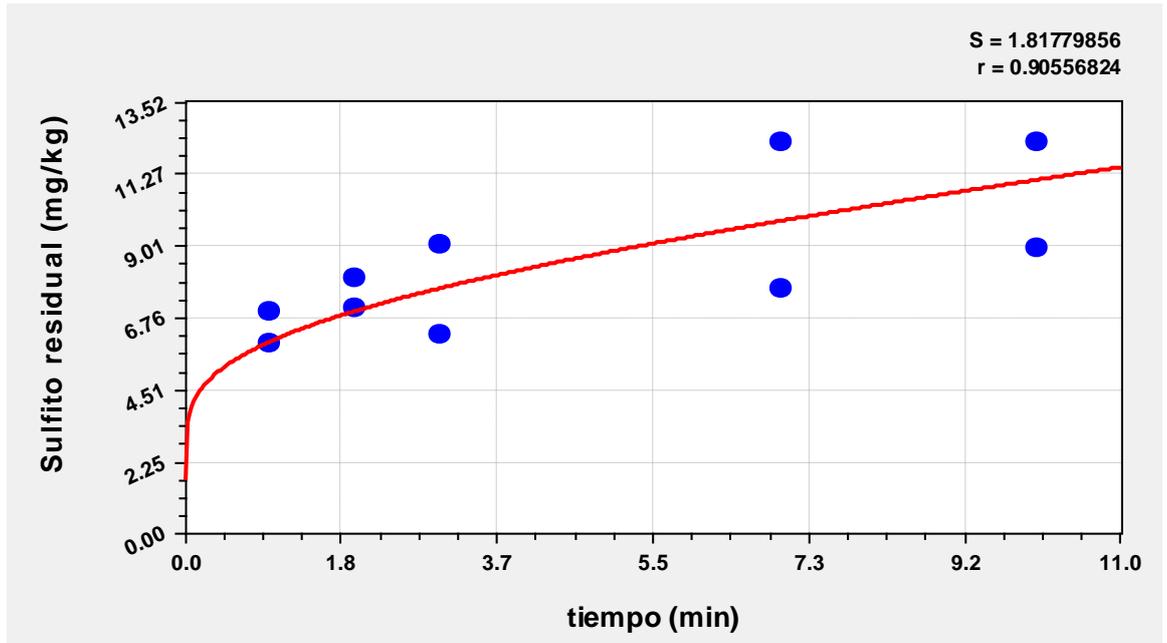


Figura 3.5 Modelo de Harris, 40 g/l y Temperatura de 5°C
 Elaborado por: Carmen Llerena

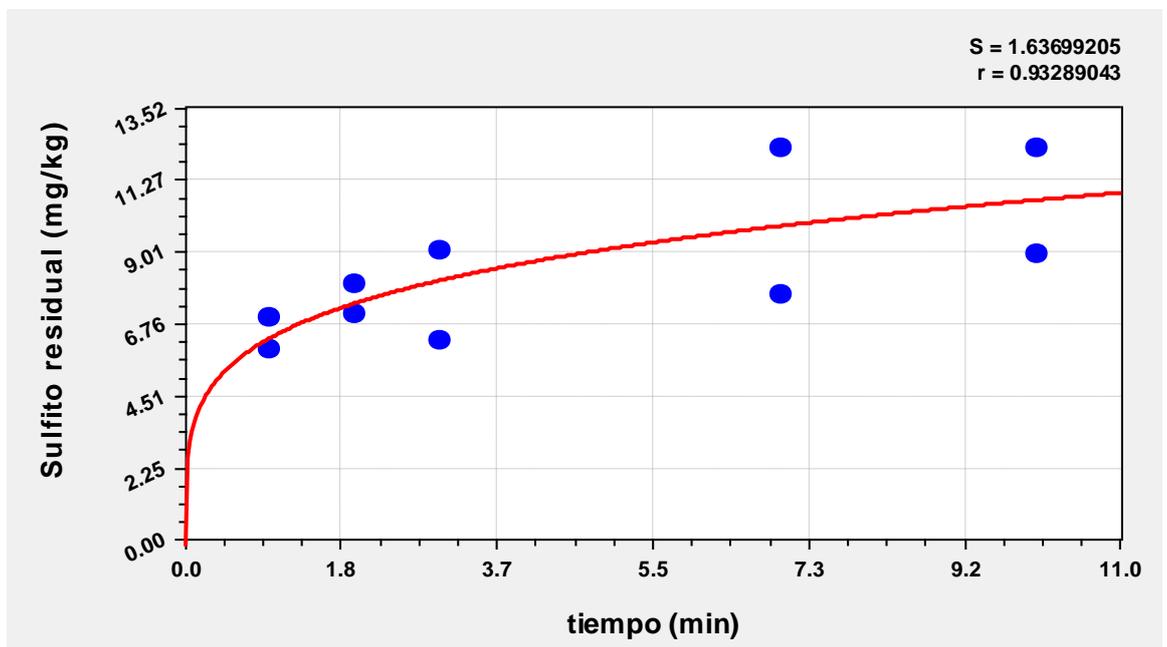


Figura 3.6 Modelo MMF, 40 g/l y Temperatura de 5°C
 Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 3.24.- Valores de los Coeficientes del Modelo “Rational Function”, para las Condiciones Estudiadas

Conc. g/L	t/°C	A	b	C	D
40	5	0.0018097852	26.116226	3.1624181	-0.084117953
40	12	-0.0026068612	43.871881	2.9442912	-0.068214102
80	5	-0.0032847916	50.280912	1.3736662	-0.020395452
80	12	El modelo no se ajusta			

Elaborado por: Carmen Llerena

Para 80 g/L y 5 °C, el modelo “Rational Function” mostró un coeficiente de correlación de 0.9874726 y un error estándar de 3.4727775, sin embargo cuando se aplicó a 12 °C, el modelo no pudo ser ajustado, pues la gráfica obtenida aparenta un incremento instantáneo de la concentración que es físicamente imposible.

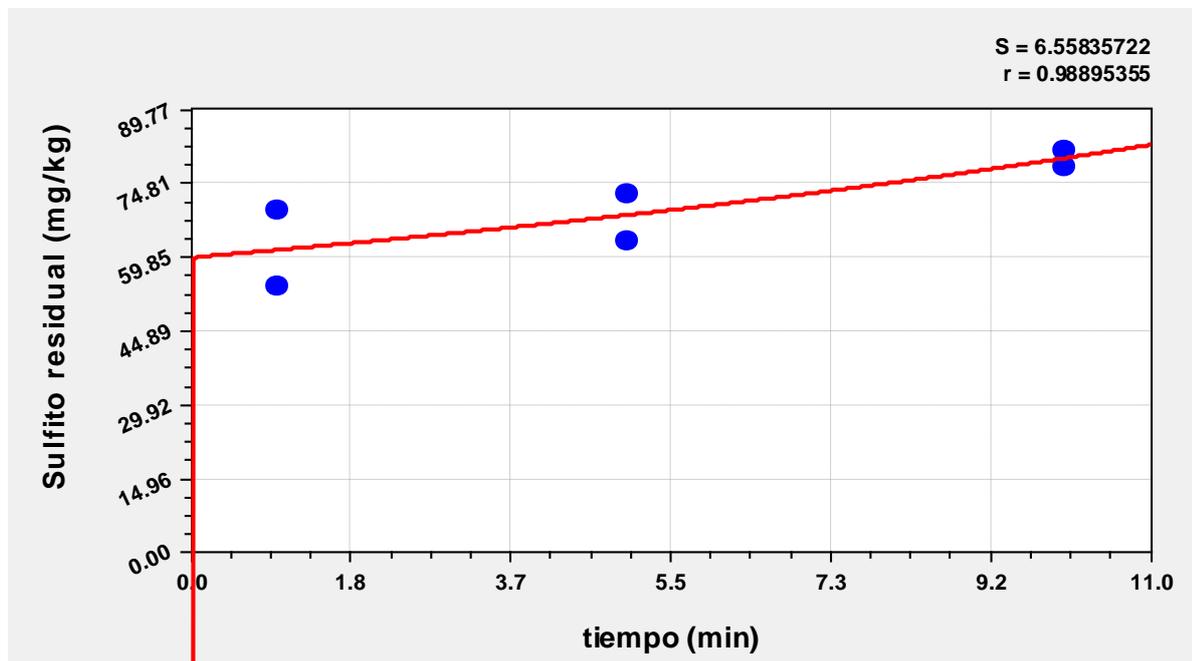


Figura 3.7 Modelo “Rational Function”, 80 g/l y Temperatura de 12°C

Elaborado por: Carmen Llerena.

Aunque el ajuste matemático es muy bueno, el modelo fue descartado por su imposibilidad física. Esta falta de ajuste físico se debe a los elevados valores

obtenidos para los coeficientes, que hacen que para valores de x cercanos a cero (tiempo cero) se produzca un aumento brusco de los valores de y (concentración de sulfito residual)

Estos valores se muestran a continuación:

$$a = -1611749.9$$

$$b = 1.6117718e+010$$

$$c = 2.6970882e+008$$

$$d = -6775608.4$$

Tomando en consideración que el modelo no se ajusta para 80 g/L y 12 °C, se probaron otros modelos de los cuales el de mejor ajuste fue el modelo MMF, con los parámetros que se señalan a continuación

$$\text{Modelo: } y = (a \cdot b + c \cdot x^d) / (b + x^d)$$

Coeficientes:

$$a = -165.72174$$

$$b = 0.44580644$$

$$c = 160.71431$$

$$d = 0.11235221$$

$$\text{Error estándar: } 7.5757023$$

$$\text{Coeficiente de correlación: } 0.9852327$$

Aunque todos los modelos muestran que a medida que se incrementa el tiempo de inmersión se incrementa el valor del sulfito residual, los resultados obtenidos indican que la mayor velocidad de absorción ocurre dentro del primer minuto de inmersión

3.3 Evaluación de pruebas experimentales de dosificación usando diferentes concentraciones y diferentes tiempos de contacto, para las tallas comerciales pequeñas y grandes.

El diseño experimental nos permite medir el efecto de las variables concentración de sulfito, tiempo de inmersión, y talla del camarón en dos niveles como se puede observar en la tabla 3.25.

Tabla 3.25: Diseño Experimental Propuesto

Resumen del Diseño.				

Clases de Diseño: En Pantalla				
Nombre de Diseño: Factorial en 2 bloques		2 ³		
Nombre de fichero: <Sin título>				
Base de Diseño				

Número de factores experimentales: 3 Número de bloques: 4				
Número de residuos 1				
Número de ejecuciones: 16		Error Grados de libertad: 8		
Aleatorizado: Si				
Factores	Pequeño	Grande	Unidades	Continuo

CONCENTRACIÓN	-1.0	1.0	mg/kg	Si
TIEMPO	-1.0	1.0	minutos	Si
TALLA	-1.0	1.0	g	Si
Respuestas	Unidades			

Uar_1				

Elaborado por: Carmen Llerena

En esta tabla podemos observar como se ha planteado el diseño factorial 2³ en el Statgraphics, y como se han programado los 3 factores (concentración, tiempo, talla) y para los dos niveles. Estos niveles nos ha permitir una matriz que se codificó con 1 y -1 asignándose a los menores valores de los factores el código -1 y a los valores más altos de los factores el código 1.

Una vez planteado el diseño se procede a realizar el análisis del mismo para obtener las corridas experimentales, como se puede ver en la tabla 3.26.

Tabla 3.26: Matriz Codificada del Diseño Experimental

BLOQUE	CONCENTRACIÓ	TIEMPO	TALLA	Var_1
1	1.0	1.0	-1.0	119,5
1	-1.0	1.0	1.0	89,91
1	-1.0	-1.0	-1.0	43,7
1	1.0	-1.0	1.0	74,93
2	-1.0	1.0	-1.0	53,22
2	1.0	1.0	1.0	101,68
2	-1.0	-1.0	1.0	60,34
2	1.0	-1.0	-1.0	78,5
3	1.0	1.0	-1.0	122,5
3	-1.0	1.0	1.0	81,46
3	-1.0	-1.0	-1.0	46,22
3	1.0	-1.0	1.0	78,61
4	-1.0	1.0	-1.0	57,89
4	1.0	1.0	1.0	123,63
4	-1.0	-1.0	1.0	84,79
4	1.0	-1.0	-1.0	88,15

Elaborado por: Carmen Llerena

Del análisis del diseño se obtienen los coeficientes mediante el programa Statgraphics los cuales están descritos en la tabla 3.27, allí se puede observar los tres factores y sus interacciones.

Tabla 3.27: Resumen de Análisis del Diseño Experimental

Resumen del análisis		
Nombre de fichero: DESEÑO EXP 1 FIN.sfx		
Efectos estimados para Var_1		
promedio	=	82,815 +/- 1,39365
A:CONCENTRACIÓN	=	31,245 +/- 2,7873
B:TIEMPO	=	21,8175 +/- 2,7873
C:TALLA	=	8,2075 +/- 2,7873
AB	=	14,9625 +/- 2,7873
AC	=	-15,6575 +/- 2,7873
BC	=	2,685 +/- 2,7873
bloque	=	-18,76 +/- 4,82775
bloque	=	3,765 +/- 4,82775
bloque	=	11,6 +/- 4,82775
Los errores estándar están basados en un error total con 6 g.l.		

Elaborado por: Carmen Llerena

En esta tabla se muestra cada uno de los efectos estimados e interacciones. También se muestra el error normal de cada uno de los efectos, el cual mide su error de muestreo.

Para probar la significación estadísticas de los efectos se seleccionara los factores y luego se eliminan los efectos insignificantes, la ecuación matemática quedaría planteada de la siguiente manera:

$$\text{VAR RESP. 1} = a + b * \text{concentración} + c * \text{tiempo} + d * \text{talla} + ab * \text{concentración} * \text{tiempo} + ac * \text{concentración} * \text{talla} + bc * \text{tiempo} * \text{talla}$$

Para evaluar la calidad del ajuste se realiza el análisis de varianzas del diseño experimental mediante el programa Statgraphics, tabla 3.27.

En esta tabla se muestra cada uno de los efectos estimados e interacciones. También se muestra el error normal de cada uno de los efectos, el cual mide su error de muestreo.

Para probar la significación estadísticas de los efectos se seleccionara los factores y luego se eliminan los efectos insignificantes, la ecuación matemática.

Quedaría planteada de la siguiente manera:

VAR RESP. 1= a + b* concentración+c* tiempo+d *talla+ab concentración* tiempo +ac*concentración*talla +bc tiempo*talla

Para evaluar la calidad del ajuste se realiza el análisis de varianzas del diseño experimental mediante el programa Statgraphics, el cual está detallado en la tabla 3.28.

Tabla 3.28: Análisis de Varianza del Diseño Experimental

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:CONCENTRACIÓN	3905,0	1	3905,0	125,66	0,0001
B:TIEMPO	1904,01	1	1904,01	61,27	0,0002
C:TALLA	269,452	1	269,452	8,67	0,0258
AB	895,506	1	895,506	28,82	0,0017
AC	980,629	1	980,629	31,56	0,0014
BC	28,8369	1	28,8369	0,93	0,3726
bloques	512,199	3	170,733	5,49	0,0372
Error Total	186,457	6	31,0762		
Total (corr.)	8682,09	15			

R-cuadrado = 97,8524 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 96,4207 por ciento
Error Estándar de Est. = 5,57461
Error absoluto de la media = 3,08438
Estadístico Durbin-Watson = 2,61804 (P=0,0381)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,334835

Elaborado por: Carmen Llerena

En esta tabla se puede observar que con este análisis de varianza podemos evaluar doblemente a los coeficientes con el estadígrafo Durbin –Watson, el cual al ser 2,6 y ser mayor que el valor P= 0,03 permitió concluir que los factores son

independientes. Y además podemos observar uno a uno los factores analizados y sus interacciones en donde al evaluar el P valor calculado vs el P crítico que es 0,05, todos los coeficientes resultan significativo menos el de la interacción BC, por lo cual será eliminado.

Una manera gráfica de observar la calidad del ajuste y determinar cuál de los factores no es significativos estadísticamente es usar el gráfico de Pareto, con este podemos visualizar los factores y seleccionar los no significativos para que luego se eliminen.

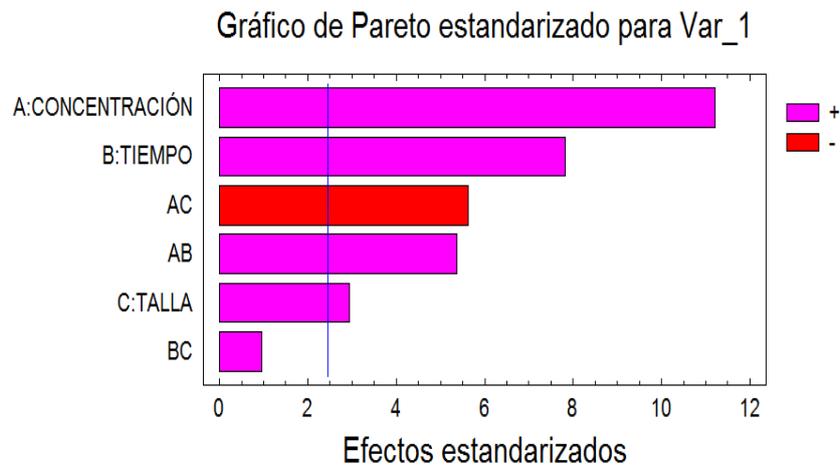


Figura 3.8 Gráfico de Pareto Estandarizado
Elaborado por: Carmen Llerena

Al excluir esta interacción BC como muestra el grafico de Pareto por no ser significativa el nuevo análisis está desarrollado en la tabla 3.27.

**Tabla 3.29: Resumen de Análisis de Modelo Modificado
Eliminando el Coeficiente no Significativo**

Efectos estimados para Var_1		
promedio	=	79,9038 +/- 1,41365
A:CONCENTRACIÓN	=	37,0675 +/- 2,82729
B:TIEMPO	=	27,64 +/- 2,82729
C:TALLA	=	14,03 +/- 2,82729
AB	=	9,14 +/- 2,82729
AC	=	-21,48 +/- 2,82729
bloque	=	-12,9375 +/- 4,89702
bloque	=	-2,3175 +/- 4,89702
bloque	=	17,4225 +/- 4,89702

Elaborado por: Carmen Llerena

En esta tabla se muestra cada uno de los efectos estimados e interacciones. También se muestra el error normal de cada uno de los efectos, el cual mide su error de muestreo. Se deberá realizar el análisis de varianza para establecer la significancia de las interacciones en la tabla 3.30.

Tabla 3.30: Análisis de Varianza del Modelo Planteado Eliminado Coeficientes no Significativos.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor	
A:CONCENTRACIÓN	5496,0	1	5496,0	171,89	0,0000
B:TIEMPO	3055,88	1	3055,88	95,57	0,0000
C:TALLA	787,364	1	787,364	24,62	0,0016
AB	334,158	1	334,158	10,45	0,0144
AC	1845,56	1	1845,56	57,72	0,0001
bloques	480,991	3	160,33	5,01	0,0364
Error Total	223,821	7	31,9744		
Total (corr.)	12223,8	15			

R-cuadrado = 98,169 por ciento

R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 97,2535 por ciento

Error Estándar de Est. = 5,65459

Error absoluto de la media = 3,15531

Estadístico Durbin-Watson = 2,60464 (P=0,0204)

Autocorrelación residual Lag 1 = -0,34428

Elaborado por : Carmen Llerena

Esta tabla de varianza muestra cada uno de los efectos, y prueba la significación estadística de cada efecto comparando la media al cuadrado con una estimación del error experimental. En caso de que los efectos tengan los P valores inferiores a 0,05 estos son significativos con un 95% de confianza.

El estadígrafo R- cuadrado indica que el modelo así ajustado explica el 98,169% de la variabilidad de las interacciones planteada. El error estándar de la estimación muestra la desviación normal de los residuos para ser el 5,654. El error absoluto de la media es de 3,155. El estadígrafo Durbin Watson examina los residuos para determinar si hay cualquier correlación significativa basada en el orden en que se plantean los factores. Y puesto que el p valor es inferior a 0,05 nos indican que los factores analizados son independientes.

Una forma gráfica de visualizar la significancia de los factores es el gráfico de Pareto figura 3.9.

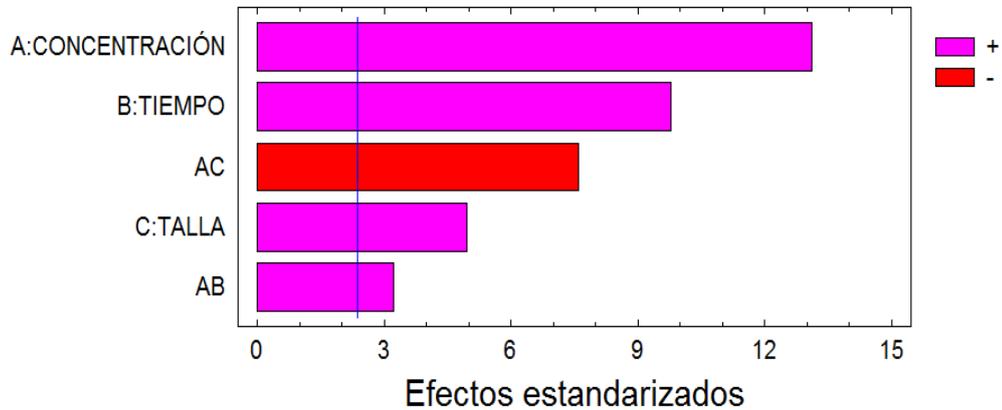


Figura 3.9 Figura de Pareto del Nuevo Modelo Planteado Eliminando Coeficientes no Significativos.

Elaborado por: Carmen Llerena

Los coeficientes del nuevo modelo planteado se muestran en la tabla 3.31, mediante el análisis del ajuste.

Tabla 3.31: Coeficientes del Nuevo Modelo

constante	= 79,9038
A:CONCENTRACIÓN	= 18,5337
B:TIEMPO	= 13,82
C:TALLA	= 7,015
AB	= 4,57
AC	= -10,74

Elaborado por: Carmen Llerena

La ecuación ajustada obtenida del diseño experimental eliminando los coeficientes no significativos es:

$$\text{Var}_1 = 79,9038 + 18,5337 \cdot \text{CONCENTRACIÓN} + 13,82 \cdot \text{TIEMPO} + 7,015 \cdot \text{TALLA} + 4,57 \cdot \text{CONCENTRACIÓN} \cdot \text{TIEMPO} - 10,74 \cdot \text{CONCENTRACIÓN} \cdot \text{TALLA}$$

Se puede analizar una respuesta optimizada con el análisis del diseño mediante la función Optimizado como puede verse en la tabla 3.32.

Tabla 3.32: Análisis de Respuesta Optimizado

Valor óptimo 120,5 mg/kg			
Factores	Inferior	Mayor	Optimo
Concentración	-1	1	1
Tiempo	-1	1	1
Talla	-1	1	-1

Elaborado por: Carmen Llerena

Con este resultado podemos concluir que el valor optimo sin sobrepasar la legislación sería 120 mg/kg y el mejor procedimiento a ejecutar durante la cosecha implica usar la concentración más alta (8%), con la temperatura más alta (12°) durante la cosecha, para tratar con metabisulfito de sodio tallas de camarón en rangos de 12 – 14g

Durante la realización de las pruebas se pudo observar que el camarón mudado absorbía más mg/kg de sulfito en el músculo, como se puede ver en la tabla 3.32.

Tabla 3.33: Muestras Comparativas entre Camarón con Textura Firme y Camarón con la Textura muy Blanda (mudado).

MUESTRA: Peso promedio 12g	RESIDUAL DE SULFITO EN mg/kg INSTITUTO DE PESCA	RESIDUAL DE SULFITO EN mg/kg LABORATORIO DE CONTROL INTERNO
Camarón mudado Chanduy Pisc. 17 (14 de julio 2011)	250,3	229,29
Camarón sin muda Chanduy Pisc. 17 (14 de julio 2011)	93	97

Elaborado por: Carmen Llerena

De este análisis que se realizó por duplicado se puede establecer que durante todos los ensayos se descartaran todos los camarones mudados, pues debido a su condición absorben mayor cantidad de sulfito.

Durante las réplicas efectuadas se notó diferencia significativa en los residuales de las muestras tomadas directamente después del tratamiento y los resultados obtenidos en la planta procesadora a la llegada de la materia prima.

CAPÍTULO 4

4. Análisis Técnico Económico

Para efectuar este estudio se tiene un procedimiento anterior descrito en el literal 2.13 y el procedimiento actual propuesto 2.17 en los cuales se varía la concentración de metabisulfito de sodio en disolución.

El saco de metabisulfito de sodio de 25 kg tiene un costo de 0,79 centavos el kilo.

4.1 Costos de la Dosificación de metabisulfito de sodio vs la Dosificación que se Realizaba Anteriormente

Tabla 4.1: Tabla de Dosificaciones

LUGAR	DOSIFICACIÓN ANTERIOR 3%	DOSIFICACIÓN PROPUESTA 4%	DOSIFICACIÓN PROPUESTA 8%	DOSIFICACIÓN RECARGAS
tina 1	9	12	24	6
tina 3	9	12	24	6
tina 2	9	12	24	6
tina 4	9	12	24	6
Tina 5	9	12	24	6

Elaborado por: Carmen Llerena

Tabla 4.2: Costo de Dosificación de Metabisulfito de Sodio en Dólares por Cada Tanque Preparado.

LUGAR	COSTO DOSIFICACIÓN PROPUESTA 3%	COSTO DOSIFICACIÓN PROPUESTA 4%	COSTO DOSIFICACIÓN PROPUESTA 8%	COSTO DOSIFICACIÓN RECARGAS
tina 1	7,11	9,48	18,96	4,74
tina 3	7,11	9,48	18,96	4,74
tina 2	7,11	9,48	18,96	4,74
tina 4	7,11	9,48	18,96	4,74
Tina 5	7,11	9,48	18,96	4,74

Elaborado por: Carmen Llerena

Trabajando con el camarón ente 12 a 14g en la zona de Chanduy, se implementó un máximo de 5 tinas y en cada tina se puede tratar como promedio 980 a 1000 libras esto es aproximadamente 454 kg.

Tabla 4.3: Costo por Libra Procesada

CONCENTRACIÓN	COSTO POR LIBRA PROCESADA \$
3%	0,009
4%	0,012
8%	0,024
RECARGAS	0,006

Elaborado por: Carmen Llerena

Se puede observar un leve incremento en el costo del tratamiento por cada libra procesada que se verá justificado si el camarón mantiene su apariencia y la dosificación del sulfito no excede a 150 mg/kg como lo exige la regulación.

4.2 Ajuste del proceso

Para que el tratamiento se justifique se ha planificado realizar un máximo de 3 recargas a la tina por lo cual teóricamente podríamos procesar 1000 lbs de camarón en dos concentraciones al 4% y al 8%.

Tabla 4.4: Ajuste del Proceso

CONCENTRACIÓN	kg de METABISULFITO			TOTAL DE SULFITO	TOTAL DE COSTO \$	
	INICIAL	RECARGA 1	RECARGA 2			RECARGA 3
4%	12	6	6	6	30	23,70
8%	24	6	6	6	42	33,18

Elaborado por: Carmen Llerena

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

1. En el estudio retrospectivo de las tres zonas evaluadas demuestra que la concentración del residual de sulfito en el músculo de camarón en mg/ kg durante la cosecha es insuficiente, ya que el valor promedio de todas las fincas está en 33,39 mg/kg, estando los límites críticos entre 40 – 60 mg/kg.
2. Durante este estudio retrospectivo se evaluó estadísticamente los resultados de los residuales del sulfito en las tres zonas y mediante un análisis de varianzas con un 95% de confianza se determinó que los valores medidos no dependen de la zona, ni de la época del año, ni de la finca.
3. La cinética de la absorción se realizó empleando ejemplares vivos de peso promedio de 12 a 14g, se evidenció durante este estudio que el valor del residual de sulfito en mg/kg se incrementa cuando la temperatura de la solución es 12°C, cuando la concentración inicial de la disolución de sulfito es más alta esto es al 8% y también cuando se incrementa el tiempo de inmersión a 15 minutos. Esto puede representarse mediante modelos matemáticos como son de Potencia, Rational Function, Harris, MMF, pero el mejor modelo debe ser seleccionado para cada condición de trabajo.
4. Durante la evaluación de los modelos propuestos para cinética de absorción del sulfito en el camarón en mg/kg a dos temperaturas las cuales son 5°C y 12°C, se escogió en la condición 40 g/l el modelo Rational Function por la forma de la curva pues los otros modelos proponen un incremento instantáneo que físicamente no es posible. Para la condición 80 g/l el modelo rational function por la forma de la curva es adecuado solo para la condición a 5°C pero para la condición de temperatura de 12°C el mejor modelo es el MMF por la forma de la curva.
5. Mediante el diseño experimental se planteó un proceso de dosificación el cual nos dio como resultado de la evaluación de los factores concentración, tiempo, talla, y sus interacciones concentración vs tiempo concentración vs talla y tiempo vs talla, en dos niveles, los cuales mediante un análisis de varianza fueron analizados y se descartó la interacción tiempo vs talla por resultar no ser significativa estadísticamente, con esto se obtuvo una ecuación ajustada que puede predecir el comportamiento de los factores durante el proceso de absorción.

Recomendaciones

1. Durante el tratamiento con metabisulfito en la finca, debe mantenerse constante la temperatura a 12°C, porque al bajarla más puede ocasionar la muerte de los camarones antes de lograr la absorción del sulfito.

2. Implementar sistemas de cosecha automatizada en los diferentes campamentos para asegurar que durante la misma no se muerta el camarón, pues una vez muerto no absorbe el sulfito.
3. Validar los resultados del laboratorio de control interno con laboratorios acreditados.

ANEXOS

BIBLIOGRAFÍA

1. **Salazar, M.** *www.corpei.org. PLANEACION ESTRATEGICA Sector Acuícola-Camaronero en el Ecuador 2009-2013.* [En línea] Septiembre de 2009. [Citado el: 24 de Agosto de 2011.] <http://www.corpei.org>. 2009
2. **Gomez-Guillén, M.C. y Montero, M.P** *Polyphenol Uses in Seafoos Conservation.* American Journal of Food Technology, Vol. 2, (7) págs. 593-601. 2007
3. **Lucien-Brun, H.** *Melanosis y metabisulfito de sodio.* Julio-Agosto de 2006, Panorama Acuícola Magazine, págs. 30-38., 2006
4. **Badui, S.** *Química de los Alimentos.* 4ta. s.l. : Pearson Educación de México S.A, pág. 730. ISBN 13: 9789702606703. 2006.
5. **Arias, L., De Nogales, C. y Dueñas, P.** *Fundamentos de acuicultura marina.* s.l. : INPA, págs. 23-27. 958-9356-01-X. 1995.
6. **Garcías, F.** *Digestión de proteínas en camarones Peneidos.* México : Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste. México. 2002. Informe Técnico. 2002
7. **Pérez-Farfante, I. y Kensley, B. F.** *Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World. Keys and Diagnoses for the families and Genera. Mémoires du Museum National D'Historie Naturelle. Zoologie,* . pág. 235 . Vol. Tome 175. 1997.
8. **Carrillo, O. y Vegas, F.** *El dicamarón. Diccionario de camaronicultura.* México. : Centro de Investigaciones del Noreste y Universidad de la Habana, ISBN 970-18-7940-6. 2002.
9. **Racotta, I.** *Criterios predictivos del desempeño reproductivo del camarón blanco Litopennaeus schimitti.* UAM-XOCHIMILCO. México : UAM-XOCHIMILCO, Informe Técnico. 2002.
10. **Andrade, G.** *Los camarones y su importancia en la alimentación.* 2000, FONAIAP DIVULGA № 65. (en línea), www.ceniap.gov.ve/bdigital/fdivulg/fd65/texto/camarones/htm. enero marzo, 2000,
11. **Wong, C.** *Informe técnico de investigación.* Centro de Investigaciones Pesqueras. Cuba, . Ciudad de la Habana. : s.n., Informe Técnico. 2004.
12. **Fonseca, E.** *Industria del camarón: su responsabilidad en la desaparición de los manglares y la contaminación acuática.* Revista electrónica de Veterinaria, Vol. 11.(5) ISSN 1695-7504. 2010,
13. **Sousa, O. V., y otros.** *The impact of shrimp farming effluent on bacterial communities in mangrove waters, Ceará, Brazil.* 12, , Marine Pollution Bulletin , Vol. 52, págs. 1725–1734. 2006

14. **Ramos, R. y Vinatea, L.:da Costa, R.** *Tratamiento de efluentes del cultivo de Litopenaeus vannamei por sedimentación y filtración por la ostra Crassostrea rhizophorae.* Latinoamerican Journal of Aquatic Research., Vol. 36, 2, págs. 235-244. 2008,
15. **Khatoun, H., y otros.** *Use of periphytic cyanobacterium and mixed diatoms coated substrate for improving water quality, survival and growth of Penaeus monodon Fabricius postlarvae.* Aquaculture, Vol. 271, págs. 196-205. 2007,
16. **Crab, R., y otros.** *Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production.* Aquaculture , Vol. 270, págs. 1-14. 2007,
17. **Jímenez, J.M.** *Desarrollo sustentable de la acuacultura de camarón en Nayarit. .* Tepic Nayarit. México : s.n., Tesis en opción al título de Master en Ciencias Ambientales. 2002.
18. **Tobey, J., Clay, J y Vergne, P.** *Manteniendo un Balance: Impactos Económicos, Ambientales y Sociales del Cultivo de Camarón en Latinoamérica..* FAO, 68. Reporte de Manejo Costero No 2202. Proyecto de Manejo Costero II. USAID – Centro de Recursos Costeros de la Universidad de Rhode Island. 1998.
19. **Charle, t.P.** *Manual de Nutrición, Peces y Camarones II.* 2, Revista Electrónica de Veterinaria, Vol. V. 2003,
- 20 **Merican, Z..** *Asia is top in farmed shrimp.* Asian Aquaculture Magazine, págs. 16-17. Marzo-Abril de 2004,
21. **Alpuche, J., Pereyra, A. y Agundis, C.** *Respuestas bioquímicas de camarones marinos a factores ambientales.* Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, Vol. VI. ISSN 1695-7504. 5, 2005,
22. **Flaherty, M. y Vandergeest, P.** *Low-Salt Shrimp Aquaculture in Thailand: Goodbye Coastline, Hello Khon Kaen.* 6, Environmental Managment, Vol. 22, págs. 817-830. 1998,
23. **Flaherty, M.; Szuzter, B.; Miller, P.** *Low salinity inland shrimp farming in Thailand.,* Ambio, Vol. 29, 3 págs. 174-179. 2000
24. **Pérez-Velazquez, M., y otros.** *Investigation of the Effects of Salinity and Dietary Protein Level on Growth and Survival of Pacific White Shrimp, Litopenaeus vannamei. ,* Journal of the World Aquaculture Society, Vol. 38, 4 págs. 475-483. 2007
25. **Flaherty, M.; Szuzter, B.; Miller, P.** *Low salinity inland shrimp farming in Thailand.* 3, 2000, Ambio, Vol. 29, págs. 174-179.
26. **Olivas, J.A., Cáceres, J. y Vásquez, R.** *Patógenos que afectan el cultivo de Litopenaeus vannamei en ambiente marino y dulceacuícola en el estado de Baja California, México.* 3, REDVET. Revista electrónica de Veterinaria, Vol. 11, págs. 1695-7504. 2010,
27. **Lightner, D.V.** *Biosecurity in Shrimp Farming: Pathogen Exclusion through Use of SPF Stock and Routine Surveillance.* Journal of the World Aquaculture Society, Vol. 36, 3, págs. 229-248. Septiembre de 2005,

28. **Moren, M., Saézn, L.M. y González, M.H.** *Protocolo Sanitario para el Cultivo de Camarón Blanco en el Estado de Baja California, México.* Comité Estatal de Sanidad Acuícola e Inocuidad de Baja California A.C. 2007.
29. **Papadopoulos, L. y Finne, G** *Effect of Environmental Salinity on Sensory Characteristics of Penaeid Shrimp.*, Journal of Food Science, Vol. 51, 3,págs. 812-814. 1986
30. **Mendoza, O.A.** *Utilización de bacterias nitrificantes como biorremediadoras del agua de cultivo de Litopenaeus vannamei en Tumbes - Perú.* UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE ANDALUCIA. Memoria de periodo de investigación presentada para superar la fase de capacidad investigativa. 2009.
31. **Alvarez, J.A., y otros.** Empleo de diferentes niveles de proteína en dietas practicas para el engorde del camaron *Penaeus schmitti* en estanque de tierra. *Avances en Nutrición Acuícola III.*, págs. 665-673. 1997
32. **Velasco, M., Lawrence, A.L. y Neill, W.H.** Efectos de la proteína y el fosforo dietario en la calidad de agua de acuicultura. *Avances en Nutrición Acuícola III.* 1997.
33. **Ruiz, O.** *Nitrifyin and desnitrifyin bacterial communities in the sediment and rhizosphere of free water surface constructed wetland.* Universidad de Gerona, España. Tesis doctoral. 2008.
34. **Araujo, R.A.** *El ciclo lunar y retención de sulfitos con relación a la textura del exoesqueleto de Litopenaeus vannamei.* Universidad Zamorano, Honduras. Zamorano, Honduras : s.n.,. pág. 18, Proyecto especial del programa de Ingeniero Agrónomo. 2000
35. **McEvilly, A.J., Iyengar, R. y Otwell, S.** *Sulphite Alternative Prevents Shrimp Melanosis.* **S.** 9, Food Technology, Vol. 45, págs. 80-86. Septiembre de 1991,
36. **Montero, P., López-Caballero, M.E. y Pérez-Mateos, M.** *The Effects of Inhibitor and High Pressure Treatment to Prevent Melanosis and Microbial Growth on Chilled Prawns (Penaeus japonicus).* Journal of Food Science, Vol. 66, (8) págs. 1201-1206. 2001,
37. **Otwell, S., y otros.** Importancia de la Calidad y la Inocuidad del producto. [aut. libro] CIDEA y UCA. *Buenas Prácticas de Acuicultura para la Calidad e Inocuidad del Producto. Tomo 2. Capítulo 8. Managua:*. s.l. : CIDEA;UCA, Vol. 2, 8, págs. 169-217. 1999.
38. **Lucien-Brun, Hervé.** *Sodium Metabisulfite.*, 2005
39. **Lee, K.H., y otros.** *Production of Low Salted and Fermented Shrimp by Irradiation.* Journal of Food Science, Vol. 67, (5) págs. 1772-1777. 2002,
40. **Gonçalves, A.C., López-Caballero, M.E. y Nunes, M.L.** *Quality Changes of Deepwater Pink Shrimp (Parapenaeus longirostris) Packed in Modified Atmosphere.* Journal of Food Science, Vol. 68, (8) págs. 2586-2590. 2003,

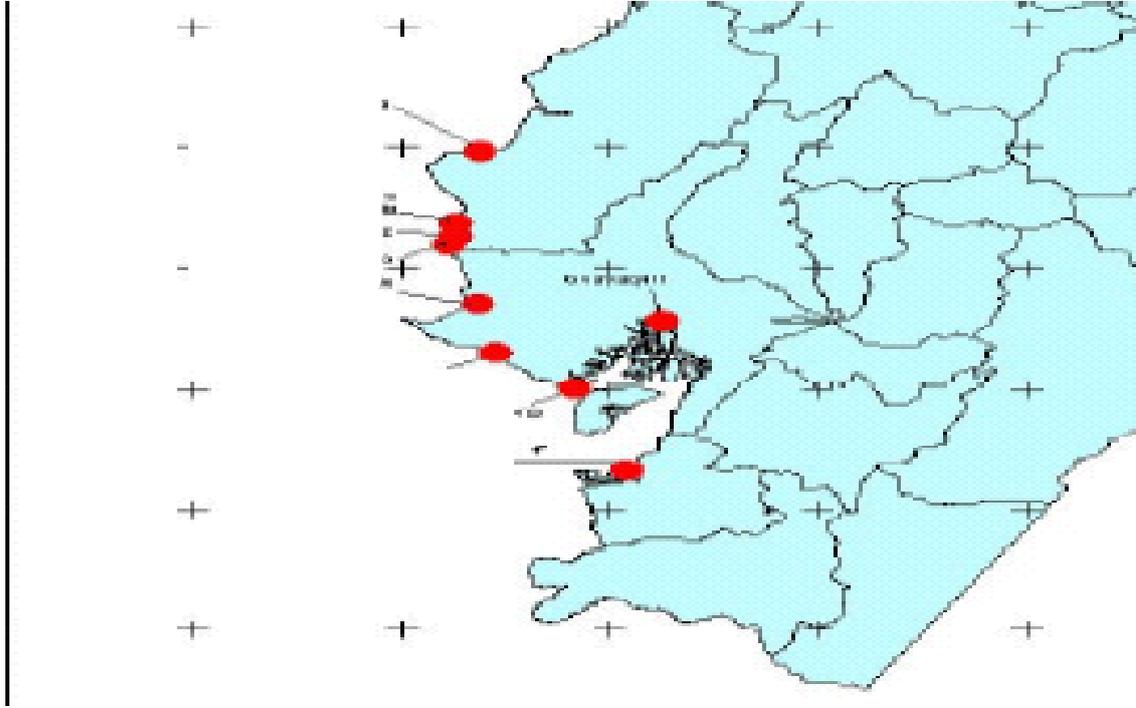
41. **Jiang, M., Liu, S. y Wang, Y.** *Effects of Antimicrobial Coating from Catfish Skin Gelatin on Quality and Shelf Life of Fresh White Shrimp (Penaeus vannamei)*. Journal of Food Science, Vol. 76, (3) págs. M204-M209. 2011.
42. **Evily, Mc.** Representative inhibitos of enzymatic browning in fruit, vegetables, and seafood. *Representative inhibitos of enzymatic browning in fruit, vegetables, and seafood*. 1992.
43. **Thepman, R., Benjakul, S. y W., Visessanguan.** *Effect of Pyrophosphate and 4-Hexylresorcinol Pretreatment on Quality of Refrigerated White Shrimp (Litopenaeus vannamei) Kept under Modified Atmosphere Packaging*. Journal of Food Science, Vol. 73, (3) págs. S124-S133. 2008.
44. **Taylor, S.L., Higley, N.A. y Bush, R.K.** *Sulfites in foods: Uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity and hypersensitivity*. Advances in Food Research, Vol. 30, pág. 1. 1986.
45. **Scientific Committee on Food.** *Opinion of the Scientific Committee on Food on 4-Hexylresorcinol*. EUROPEAN COMMISSION (HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL). Bruselas, Belgica : s.n., pág. 10, Informe Técnico. 2005.
46. **Alvárez, M.R.** Evaluación de tres metodologías de tratamiento con metabisulfito de sodio en la cosecha de camarones enteros para prevenir melanosis. *Escuela Agrícola Panamericana/Zamorano, Honduras*. [En línea] [Citado el: 22 de Julio de 2011.] <http://www.zamorano.edu.hn/>.2001.
47. **Finne, G., y otros.** *Effect of treatment, ice storage and freezing on residual sulfite in shrimp*. Journal of Food Science. Vol. 51, (1) págs. 231-232. 1986.
48. **Flores, E.R., y otros.** Comportamiento de los defectos más comunes que aparecen en el camarón L. vannamei durante su almacenamiento. *Revista Aquatic*. [En línea] 2006. [Citado el: 12 de Septiembre de 2001.] <http://www.revistaaquatic.com/civa2006/coms/completo.asp?cod=161>. 2006.
49. **Flores, E.R. y Rodríguez, G.M.** *Deterioro post-cosecha del camarón cultivado e Cuba durante su almacenamiento a temperaturas de refrigeración*. [ed.] I DeBlas. 2003. Memorias del II Congreso Virtual de Acuicultura. CIVA 2003. págs. 818-822. 2003.
50. **Flores, E.R.** *Alternativas tecnológicas para el procesamiento del camarón blanco (Litopenaeus schmittii) cultivado en Cuba*. ISPJAE. Ciudad Habana : s.n. Tesis de Maestría en Ingeniería Alimentaria. 2001.
51. **Flores, E.R., y otros.** *Variación del residual de sulfito en el camarón de cultivo Litopenaeus vannamei almacenado en hielo*. REVISTA CUBANA DE INVESTIGACIONES PESQUERAS, Vol. 26, (1) págs. 61-64. , 19 de Diciembre de 2009,

52. **Whitaker, J.R. y Lee, C.Y.** Recent Advances in Chemistry of Enzymatic Browning: An Overview. *Enzymatic Browning and Its Prevention ACS Symposium Series, Volume 600*. Capitulo 1, págs. 2-7. 1995,
53. **Consejería de Educación y Ciencia de Asturias.** Educastur Blog. *Servicios en Línea del Servicio de Formación del Profesorado, Innovación y Tecnologías Educativas de la Consejería de Educación y Ciencia de Asturias*. [En línea] 25 de Octubre de 2009. [Citado el: 15 de Agosto de 2011.] <http://blog.educastur.es/bitacorafyq/2009/10/25/manzanas-y-limonos/>. 2009
54. **Calvo, M.** Tirosinasa. *BIOQUIMICA DE LOS ALIMENTOS*. [En línea] 2007. [Citado el: 25 de Agosto de 2011.] <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/enzimas/tirosinasa.html>. 2007.
55. **Whitaker, J.R.** Enzymes. [aut. libro] O.R Fennema. *Food Chemistry*. New York : Marcel Dekker, 1996.
56. **European Bioinformatics Institute.** Enzyme Structures Database. [En línea] 21 de Septiembre de 2011. <http://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/enzymes/>.
57. **Ramirez, E.C. y Whitaker, J.R.** Polyphenol Oxidase. [ed.] J. R. Whitaker, A.G. J. Voragen y D.W.S. Wong. *Handbook of Food Enzymology*. New York : Marcel Dekker Inc., págs. 509-523. 2003.
58. **Marshall, M.R., Kim, J. y Wei, C.** Enzymatic Browning in Fruits, Vegetables and Seafoods . [En línea] 2000. [Citado el: 21 de Enero de 2011.] <http://www.fao.org>.2000
59. **Martins, S.I.F.S., Jongen, W.M.F. y van Boekel, M.A.J.S.** *A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modeling*. Trends in Food Science and Technology, Vol. 11, págs. 364-371. 2001.
60. **Gogus, F., Fadiloglu, S. y Soysal, C.** Biological Oxidations: Enzymatic and Nonenzymatic Browning Reactions and Control Mechanisms. [aut. libro] F. Yildiz. *Advances in Food Biochemistry*. Boca Ratón : CRC Press Taylor & Francis Group, 11, págs. 341-383. 2010,
61. **Zamorano, J.P., y otros.** *Characterisation and tissue distribution of polyphenol oxidase of deepwater pink shrimp (Parapenaeus longirostris)*. Food Chemistry, Vol. 112, (1) págs. 104-11. 2009.
62. **AOAC.** Metodo modificado Monier Williams. [aut. libro] of the Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis*. 17/2000. Arlington : William Byrd Press, 2000, 47, pág. 29.2000

ANEXO A**VARIOS GRADOS DE MELANOSIS DESARROLLADA EN CAMARÓN VANNAMEI****Fuente: Panorámica acuícola Julio – 2006**

ANEXO B

Zonas de producción de Industrial Pesquera Santa Priscila



Fuente: www.zonasdeproduccionpesquera.com. Zonas de producción pesquera del Ecuador.