

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA**



**“EFECTOS DEL USO DE EXTRACTO DE  
ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) Y  
ÁCIDO ASCÓRBICO SOBRE LA  
ESTABILIDAD DE LAS GRASAS  
INSATURADAS EN LOS FILETES DE  
TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus  
mykiss*) REFRIGERADOS Y ENVASADOS  
AL VACÍO”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO PESQUERO**

**EMANUEL AUGUSTO MONTERO GÓMEZ**

**JORGE ANTONIO PORRAS SAENZ**

**JUAN ALBERTO SÁNCHEZ BENITES**

**Callao, Marzo del 2017**

**PERÚ**



**“EFECTOS DEL USO DE EXTRACTO DE ROMERO  
(*Rosmarinus officinalis*) Y ÁCIDO ASCÓRBICO  
SOBRE LA ESTABILIDAD DE LAS GRASAS  
INSATURADAS EN LOS FILETES DE TRUCHA  
ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) REFRIGERADOS  
Y ENVASADOS AL VACÍO”**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO  
FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS**

Bellavista, 31 de Marzo de 2017

**OFICIO N° 002-2017-J.E.T. -FIPA**

**Señor**

**Mg. WALTER ALVITES RUESTA**

Decano Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos.

**Presente.-**

**Asunto: Dictamen de Sustentación de Tesis  
Resolución de Decanato N°012 2016-DFIPA**

De nuestra consideración:

Por intermedio del presente, nos dirigimos a usted, para saludarlo y hacer de conocimiento lo siguiente:

Que en relación a la resolución de la referencia, el día viernes 31 de marzo de 2017, a horas 10 am. sin ningún inconveniente, se llevó a cabo la sustentación de la Tesis para optar el Título de Ingeniero Pesquero titulada **"EFECTOS DEL USO DE EXTRACTO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) Y ACIDO ASCÓRBICO SOBRE LA ESTABILIDAD DE LAS GRASAS INSATURADAS EN LOS FILETES DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*) REFRIGERADOS Y ENVASADOS AL VACIO"**, en presencia del jurado evaluador que al pie suscriben y presentado por los Bachilleres: **MONTERO GÓMEZ, EMANUEL AUGUSTO; PORRAS SÁENZ, JORGE ANTONIO Y SÁNCHEZ BENITES, JUAN ALBERTO.**

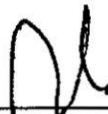
Terminada la sustentación de los señores Bachilleres, se procedió a las preguntas de rigor y a la calificación respectiva, habiéndoles otorgado para los señores Bachilleres el calificativo de **BUENO** el mismo que consta en el libro de actas de sustentación de tesis de la facultad

No habiendo observaciones, están aptos para continuar con los trámites administrativos correspondientes.

Atentamente,

  
\_\_\_\_\_  
**ING. TRINIDAD MERCEDES HUANAY HERRERA**  
**PRESIDENTE**

  
\_\_\_\_\_  
**Ing. CARLOS HUMBERTO PONTE ESCUDERO**  
**SECRETARIO**

  
\_\_\_\_\_  
**Q.F. NESTOR GOMERO OSTOS**  
**VOCAL**

Cc. J.E.T.  
interesados 2.



## DEDICATORIA

Para todos aquellos estudiantes que optaron por la titulación por tesis, por sus esfuerzos, constancia y perseverancia.

Para los familiares y amigos que nos han apoyado en toda esta trayectoria, que aunque ha sido larga, siempre han estado allí para sostenernos y apoyarnos.

Para el amigo fiel y co-asesor, que sin sus llamadas de atención y su constancia de maestro, instructor e investigador, no hubiéramos terminado con la presente investigación.

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por el regalo de la vida, familia y amigos, que sin ellos no hubiéramos alcanzado este nuevo logro.

A cada uno de los profesores e investigadores de la Universidad Nacional del Callao, que sin sus consejos, enseñanzas y sugerencias, no hubiéramos culminado con la presente investigación.

A la empresa "Inversiones y Proyectos en Cultivos del Perú S.A.C.", que sin el apoyo y abastecimiento de trucha arco iris de buena calidad, no hubiéramos alcanzado óptimos productos terminados.

## INDICE

RESUMEN.....	11
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
1.1 Determinación del problema.....	13
1.2 Formulación del problema.....	14
1.3 Objetivos de la investigación.....	15
1.4 Justificación.....	16
1.5 Importancia.....	16
II. MARCO TEORICO.....	17
2.1 Antecedentes del estudio .....	17
2.2 Bases científicas .....	22
2.2.1. Trucha "Arco Iris".....	22
2.2.2 Oxidación.....	25
2.2.2.1 Activación del oxígeno.....	26
2.2.3. Antioxidantes .....	27
2.2.3.1 Sintéticos .....	27
2.2.3.1 Naturales .....	27
2.2.4 Vitamina C o ácido ascórbico .....	28
2.2.5 Romero.....	30
2.2.6 Proceso de refrigeración.....	33
2.2.7 Descripción de los fundamentos teóricos y técnicos.....	34

III. VARIABLES E HIPÓTESIS.....	35
3.1 Variables de la Investigación.....	35
3.2 Operacionalización de variables.....	35
3.3 Hipótesis general e hipótesis específicas.....	36
IV. METODOLOGÍA.....	40
4.1 Tipo de investigación.....	40
4.2 Diseño de la Investigación.....	41
4.3 Población y muestra .....	47
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	48
4.4.1 Análisis organoléptico de la trucha .....	48
4.4.2 Determinación de la concentración de los antioxidantes .....	49
4.4.3 Preparación del filete.....	49
4.4.3.1 Recepción.....	49
4.4.3.2 Lavado y corte.....	49
4.4.4 Dosificación de los antioxidantes .....	51
4.4.5 Conservación de las muestras .....	51
4.4.5.1 Envasado.....	51
4.4.5.2 Almacenado.....	51
4.4.6 Análisis del producto terminado .....	52
4.4.6.1 Análisis fisicoquímico.....	52
4.4.6.2.1 Determinación del valor de ácido 2-	
tiobarbitúrico (Pacheco, 2011) .....	52

4.4.7 Instrumentos de recolección de datos.....	55
4.5 Procedimientos de recolección de datos.....	57
4.6 Procesamiento estadístico y análisis de datos.....	57
V. RESULTADOS.....	59
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	64
6.1 Contrastación de hipótesis con los resultados.....	64
6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares.....	64
VII. CONCLUSIONES.....	68
VIII. RECOMENDACIONES.....	70
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXOS.....	76
- Anexo 1: Matriz de Consistencia.....	77
- Anexo 2: Flujo grama de procesamiento del filete de trucha arco iris refrigerada.....	78
- Anexo 3: Índice de Calidad de Frescura del Pescado .....	79
APENDICE.....	81

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1.- Taxonomía De La Trucha Arco Iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )...22	
TABLA 2.- Valores promedio del análisis proximal y rendimiento de la trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) .....23	
TABLA 3.- Valores de la composición de ácidos grasos presentes en la trucha arco iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ), silvestre y en cautiverio .....24	
TABLA 4.- Contenido de Lípidos Totales, Ácidos Grasos Poin saturados, Saturados, Relaciones de Insaturados y Saturados y de Omega 3 y 6*..24	
TABLA 5.- Taxonomía del romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) .....30	
TABLA 6.- Diseño de la investigación.....44	
TABLA 7.- Resultados de la evaluación del grado de frescura.....59	

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 01 Flujo de procesamiento de los filetes de Trucha refrigerados y envasados al vacío .....	53
FIGURA N° 02 Diseño experimental del procesamiento de los filetes de trucha refrigerados y envasados al vacío .....	54
FIGURA N° 03 Flujograma de procesamiento del filete de trucha arcoíris refrigerada .....	78

## INDICE DE GRAFICAS

GRAFICO 1.- Relación de la cantidad de malonaldehído y días, por grupo experimental .....	63
GRAFICO 2.- Test de BARTLETT'S para los grupos experimentales.....	82
GRAFICO 3.- Gráfica de ANVA para existencia de diferencia significativa entre los tratamientos. ....	82
GRAFICO 4.- Prueba de TUKEY para los tratamientos A y B .....	83
GRAFICO 5.- Prueba de TUKEY para las concentración y la interacción con los días .....	84
GRAFICO 6.- Prueba de t de Student para grupo experimental G6 ..	85



## RESUMEN

El presente documento se enfoca en estudiar los efectos del Ácido ascórbico y el extracto de Romero (*Rosmarinus officinalis*) como antioxidante empleándose en la reducción de las grasas insaturadas presentes en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) usando el método experimental, a través de las pruebas de TBA (Prueba de del Ácido Tiobarbitúrico) para la medición de la rancidez de las grasas insaturadas, así mismo se estableció como prueba estadística el Análisis de Varianza (ANVA) a través del Modelo Lineal General, el cual se efectuó en dos etapas. La primera para evaluar si existía diferencia significativa entre los grupos experimentales y el segundo para elegir el mejor grupo experimental. De acuerdo a los resultados, la mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 800 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg, tiene mejor efecto retardante en la oxidación de los ácidos grasos insaturados.

## ABSTRACT

This document focuses on studying the effect of ascorbic acid rosemary extract being used as antioxidants in reducing unsaturated fats present in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using the experimental method, through testing TBA (Thiobarbituric Acid Test) for measuring rancidity of unsaturated fats, also established as the ANOVA statistical measure through the General Linear Model , which was conducted in two ways the first to assess whether there was significant difference between experimental groups and second to choose the best experimental group. According to the results the mixture of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) and 800 ppm ascorbic acid at a concentration of 1.00 g / Kg, has better oxidation retarding effect of unsaturated fatty acids.

## I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1 Determinación del problema

En la actualidad se observa que el consumo de trucha arcoíris va en incremento a nivel nacional y mundial, siendo su mayor demanda en la presentación de eviscerado y en filete, este último tiene un mayor valor agregado (QUISPE y Col., 2015). Esto es debido no tan solo a su carne agradable al paladar, es también por poseer un gran valor nutricional, siendo uno de sus componentes más importantes, los ácidos grasos insaturados, los cuales tiene un rango de 1.00 – 2.04% en el músculo, esto dependerá del hábitat en el que se desarrolle y se críe, por tal motivo se considera como una especie semi-grasa (IZQUIERDO, 1999). Por esta característica, es propensa a sufrir el proceso de rancidez u oxidación de los ácidos grasos insaturados, siendo sus principales causas, la falta de BPM al extraer la trucha del estanque, y en la etapa de limpieza y eviscerado, en donde no se usa materiales inocuos. Los cambios post-mortem que son ocasionados por reacciones no enzimáticas como el contacto con el oxígeno atmosférico, o catalizadas por enzimas: *microbianas, intracelulares o digestivas* del mismo pescado. Por otra parte, el tiempo de llegada hasta la planta de producción y hasta su almacenamiento a temperatura de -1°C, y lo cual no sucede así. Luego de esto, la inadecuada implementación de las BPM (Buenas Practicas de

manipulación), como es el caso de la falta de concientización por parte del personal en la cadena de frío. Igualmente, el deficiente proceso de envasado, así como las malas condiciones previas al envasado como una mala estiba o un mal escurrido de fluidos, los cuales pueden aumentar la actividad de agua dentro del empaque, teniendo como consecuencia el aumento de la actividad microbiana y más adelante una oxidación interna. Y por último, la presencia de microorganismos adaptables al envasado al vacío, como el caso del *Clostridium botulinum*, de los cuales se han presentado reportes en tal medio.

Por lo tanto se propone el uso de antioxidantes que permiten la prolongación de la estabilidad de los ácidos grasos insaturados, siendo algunos de ellos el Ácido Ascórbico (antioxidante usualmente empleado en la industria alimentaria para prolongar la vida útil de los alimentos) (CRIADO, 2009) y el Extracto de Romero (antioxidante natural de reciente uso en la industria alimentaria que ha tenido buenos resultados en los estudios realizados) (GORMAZ, 2008).

## 1.2 Formulación del problema

¿Con qué concentración de extracto de romero y ácido ascórbico se adicionará a los filetes de trucha arco iris para retardar la oxidación de los ácidos grasos insaturados?

### 1.3 Objetivos de la investigación

#### 1.3.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la mezcla de ácido ascórbico y del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre la estabilidad de las grasas insaturadas en los filetes de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

#### 1.3.2 Objetivo específico

Determinar la concentración de una mezcla de ácido ascórbico y extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) para retardar la oxidación de los filetes de Trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

#### 1.4 Justificación

La presente investigación determinará la concentración más adecuada de la mezcla del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y del ácido ascórbico que le permita retardar la oxidación los ácidos grasos insaturados; permitiendo a los empresarios, controlar la concentración de esta mezcla en la elaboración de los filetes de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío, y así lograr un producto de mayor estabilidad en almacenamiento, garantizando un producto de calidad para el consumidor.

#### 1.5 Importancia

Una de las principales importancias de este estudio, es la reducción de los costos en el traslado y habilitación de la materia prima, por el simple hecho de usar la mezcla del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y del ácido ascórbico que por su bajo costo y la baja utilización de hielo durante el traslado. Otro punto importante, es la ventaja de reducir la carga microbiana en la materia prima habilitada, permitiendo la prolongación del tiempo de almacenamiento. Adicional a estos, su aplicación industrial, permitirá ingresar a mayor cantidad de nichos de mercado, por el uso de compuestos orgánicos en la elaboración de los filetes de trucha Arco Iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

## II. MARCO TEORICO

### 2.1 Antecedentes del estudio

GARCÍA IGLESIAS, Esther y col. (2006). Dieron a conocer sobre las tecnologías de envasado en atmósfera protectora en los diferentes alimentos, (como en carnes, vegetales, panadería y repostería, entre otros), las cuales tienen como objetivo mantener la calidad sensorial de productos alimentarios y prolongar su vida comercial, que llega a duplicarse e incluso triplicarse con respecto al envasado tradicional en aire. Implican la eliminación del aire contenido en el paquete seguida o no de la inyección de un gas o mezcla de gases seleccionado de acuerdo a las propiedades del alimento. Además dan a conocer que la trucha de piscifactoría conservada en atmosfera modificada, a una temperatura de  $-1 - 2^{\circ}\text{C}$ , tiene una vida útil de 12 – 16 días.

GORMAZ ARAYA, Juan Guillermo (2005). Comparó la capacidad del BHT y los extractos de *Bluddleja globosa* (matico) y *Rosmarinus officinalis* (romero) para proteger los lípidos y el contenido tiólico de filetes de *Oncorhynchus mykiss* (trucha arco iris). El BHT y los preparados de matico y romero inhibieron la lipoperoxidación y protegieron la disminución del contenido de tioles de homogeneizados de filetes de trucha arco iris, ambos fenómenos inducidos por el sistema  $\text{Fe}^{3+}$ /ascorbato. Los valores de los

IC50 obtenidos de la lipoperoxidación inducida por Fe<sup>3+</sup> / ascorbato (0,11µg de BHT/ mg de proteína; 571 µg de droga vegetal matico/ mg de proteína; 13,8 µg de droga vegetal romero/ mg de droga vegetal) mostraron que el BHT sería el mejor inhibidor de la lipoperoxidación inducida por Fe<sup>3+</sup>/ ascorbato y el romero mejor que el matico. Las concentraciones de polifenoles de las muestras fueron: 1,11 ηmoles de catequina o rutina/ µg de BHT; 21 ηmoles de catequina o rutina/ µL de extracto de matico o 150,78 µmol de catequina o rutina/ g droga vegetal; 0,51 ηmoles de catequina o rutina/ µg de extracto seco de romero o 85,0 µmol de catequina o rutina/ g droga vegetal.

MARTINELLO M. A., y PRAMPARO, M. (2005). Estudiaron el poder antioxidativo de extractos de romero concentrados por destilación molecular. Las hojas de romero fueron molidas y secadas previamente a la extracción, la cual fue llevada a cabo en un equipo de lixiviación de lecho fijo utilizando alcohol isopropílico como solvente, dando dos extractos diferentes, el extracto obtenido como residuo de la destilación molecular, y el extracto obtenido como destilado. El poder antioxidativo de ambos extractos fue medido sobre aceite de uva crudo, aceite de uva blanqueado y aceite de uva desodorizado, agregando el destilado y el residuo y determinando la estabilidad oxidativa por medio del Test de Schaal. En los tres tipos de aceites, a las 120 horas, el extracto obtenido como residuo de la destilación molecular (aceite uva crudo: 25.25h, aceite de uva



blanqueado: 48.65n y aceite de uva desodorizado: 15.25q) mostró mayor poder antioxidante que el extracto obtenido como destilado (aceite uva crudo: 32.90j, aceite de uva blanqueado: 54.90p y aceite de uva desodorizado: 22.25r).

PACHECO GUERRERO, José Vicente y col. (2011). Investigaron los efectos del lactato de sodio, acetato de sodio, romero y ajo en soluciones acuosas a 2,5 % sobre la calidad microbiológica y oxidación lipídica en rebanadas de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) almacenadas a 4 °C. El valor de peróxido (VP), método usado, al final del período de almacenamiento, se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los VP entre las muestras control (5,79) y cada una de las muestras tratadas con Rom, AcS, LaS y Ajo, las cuales mostraron valores más bajos de 3,62, 4,06, 4,32 y 4,81, respectivamente. Las muestras tratadas con Rom exhibieron el menor VP (3,62) al día 15 de almacenamiento entre todos los tratamientos ensayados, Valor de ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), método también usado, para el final del período del mismo (día 15) las muestras tratadas con Rom alcanzaron un valor significativo ( $p < 0,05$ ) de TBA más bajo (1,57) en comparación con el control o con las muestras tratadas con Ajo, LaS y AcS, las cuales alcanzaron mayores niveles (1,88, 1,79 y 1,68, respectivamente).

SALAS MALDONADO, Alberto Clemente (2008). Realizo el estudio de los antioxidantes en la estabilidad de la pulpa de anchoveta (*Engraulis ringens*) durante el almacenamiento en congelación. Los antioxidantes evaluados fueron: Erisorbato de sodio 0.1% + TPP 0.5% + EDTA 0.025 %; TBHQ 0.02% + EDTA 0.01% y  $\alpha$ -tocoferol 0.01% + Lecitina de soya 0.5% + ácido ascórbico 0.05%, las muestras fueron empacadas al vacío, congeladas y almacenadas a -25°C, determinándose los cambios químicos y sensoriales durante siete meses. El ácido ascórbico fue calculado en relación al peso de la pulpa y antes de ser adicionado fue disuelto en agua (50mL/kg de pulpa). La solución  $\alpha$ -tocoferol 0.01% + Lecitina de soya 0.5% + ácido ascórbico 0.05%, presento a los 150 días, su valor peróxido más alto (8,8 meq/Kg). Por otra parte, afirma que en general el comportamiento del valor peróxido es irregular, muchas veces después de alcanzar un valor máximo, observo comportamientos erráticos, por ello concluye que el TBA es el mejor indicador químico de los cambios que ocurren durante el almacenamiento de la pulpa de anchoveta.

VALLS, Jaime y col. (2008). Evaluaron los parámetro físicos y químicos de filetes de lebranche (*Mugil liza*) durante su almacenamiento en congelación a -18°C, por cinco meses. Inicialmente, los pescados fueron caracterizados mediante el análisis proximal (humedad, proteínas, grasa y cenizas), talla y peso. Se determinó el TBA por medio del método de Rhee. Los valores obtenidos de TBA, se incrementan en función del tiempo de

almacenamiento desde 3.59 ppm (mes 0) hasta 7.25 ppm (mes 5), lo cual indica un cierto grado de rancidez. Los filetes de lebranche almacenados a -18°C mostraron un buen grado de frescura hasta el segundo mes, a partir del cual su calidad disminuye.

TIRONI, Valeria y col. (2009). Estudiaron y analizaron el efecto de la aplicación del extracto de romero (200 y 500 ppm) sobre la oxidación de los lípidos, la modificación de las proteínas y el color del músculo del salmón (*Pseudoperca semifasciata*) en la refrigeración ( $1.0 \pm 0.7$  °C). Para la evaluación de la oxidación de las grasas, utilizaron el método del TBA, con la que no hallaron diferencia significativa entre los dos tratamientos, 200 ppm y 500 ppm, pero sí con el control. Concluyendo que el extracto de romero previene la oxidación de los lípidos y de los ácidos polinsaturados. Además, demostraron que el extracto previene la pérdida de color rojo en el músculo del salmón. Sin embargo, el extracto no previene las alteraciones de las proteínas.

## 2.2 Marco teórico

### 2.2.1 Trucha "Arco Iris"

La trucha "arco iris" (*Oncorhynchus mykiss*), es una especie íctica perteneciente a la familia *Salmonidae*, originaria de las costas del Pacífico de América del Norte, que debido a su fácil adaptación al cautiverio, su crianza ha sido ampliamente difundida casi en todo el mundo. En América del Sur, se encuentra distribuida en Argentina, Brasil, Bolivia Chile, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. (Ragash – PERÚ, 2009).

TABLA 1.- TAXONOMÍA DE LA TRUCHA ARCO IRIS  
(*Oncorhynchus mykiss*)

ÍTEM	DESCRIPCIÓN
Reino	Animalia
Sub Reyno	Metazoa
Phylum	Chordata
Sub-phylum	Vertebrata
Super-clase	Piscis
Clase	<i>Osteichthyes</i>
Orden	<i>Clupeiforme</i>
Familia	<i>Salmonidae</i>
Género	<i>Oncorhynchus</i>
Especie	<i>Oncorhynchus mykiss</i>

Fuente: Izquierdo, 1999.

De acuerdo a Izquierdo (1999), en su capítulo de las características fisicoquímicas de la trucha, enfatizo diversas diferencias que existen entre una trucha de vida libre y una trucha de criadero (tabla 2).

TABLA 2.- VALORES PROMEDIO DEL ANÁLISIS PROXIMAL Y RENDIMIENTO DE LA TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)

	%PROTEÍNAS	% GRASAS	% HUMEDAD	% CENIZAS	% RENDIMIENTO
Trucha cautiverio	20.66 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>	77.3 <sup>a</sup>	1.33 <sup>a</sup>	53.51 <sup>a</sup>
Trucha vida libre	18,72 <sup>a</sup>	3.72 <sup>b</sup>	76,4 <sup>a</sup>	1.69 <sup>a</sup>	48.12 <sup>a</sup>

Medias con diferentes letras en el súper índice (a, b), dentro de una misma columna, indican diferencias significativas a un nivel de probabilidad de  $p < 0.05$ .

Fuente: Izquierdo, 1999.

En el rubro de las grasas existen diversas moléculas de ácidos grasos por lo cual el siguiente cuadro hay una comparación entre una trucha de criadero y una trucha de vida libre.

TABLA 3.- VALORES DE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS PRESENTES EN LA TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*), SILVESTRE Y EN CAUTIVERIO

N° de carbonos de los ácidos grasos	Cautiverio	Vida libre	Test de significancia
14:00	1.75	1.75	NS
16:00	22.05	22.08	NS
16:1w7	7.2	8	NS
18:00	6.91	7.68	NS
18:1w9	30.1	29.91	NS
18:3w3	12.61	12.5	NS
20:00	2.24	2.25	NS
20:2w6	2.04	1	*
20:3w3	1.25	1.25	NS
20:5w3	1.69	1.69	NS
20:8w3	13.1	11.89	NS

Cálculos realizados en % en peso de esteres metilados de ácido. \*

Fuente: Izquierdo, 1999.

TABLA 4.- CONTENIDO DE LÍPIDOS TOTALES, ÁCIDOS GRASOS POINSATURADOS, SATURADOS, RELACIONES DE INSATURADOS Y SATURADOS Y DE OMEGA 3 Y 6\*

	Lípidos Totales	A. Grasos Poliinsaturados	A. Grasos Saturados	Insaturados/Saturados	w3/w6
Cautiverio	1.7	29.69	31.66	0.94	27.54
vida libre	3.71	28.33	31.76	0.89	27.33

\* Expresado en mg/100 g.

Fuente: Izquierdo, 1999.

### 2.2.2 Oxidación

De acuerdo a Salas (2008), el proceso de oxidación es complejo, en un inicio los cambios sensoriales no son detectables, en tanto que ocurre un gradual aumento en la concentración de peróxidos. La duración de este periodo de iniciación está relacionada con el tipo de grasa y su susceptibilidad a ser oxidada. Un segundo periodo, denominado de reacción o propagación, determina la presencia evidente de olores y sabores desagradables debido al aumento acelerado del contenido de peróxidos. Este periodo representa un estado muy complejo en el que tiene lugar rápidamente la oxidación, se desarrollan la rancidez y los olores y sabores asociados con ella y el contenido de peróxidos aumenta en proporción acelerada. El desarrollo de esta etapa no significa la finalización de las reacciones de iniciación, ya que el desarrollo de estas últimas ha sido observado durante etapas de almacenamiento o vida útil del alimento. Además Salas (2008) menciona, ha sido claramente establecido que la susceptibilidad a la oxidación de los lípidos es causada por factores intrínsecos, tales como la composición de los lípidos, especialmente el contenido de los ácidos grasos poliinsaturados, el contenido de humedad, la integridad, niveles de antioxidantes. Los factores extrínsecos que influyen en la oxidación son la concentración del oxígeno, la luz y la temperatura.

### 2.2.2.1 Activación del oxígeno

Salas (2008), la interacción del oxígeno con los ácidos grasos insaturados es una reacción importante que ocurre en una gama amplia de condiciones; sin embargo la interacción directa es extremadamente lenta debido a que la iniciación de la oxidación de los ácidos grasos insaturados requiere de una forma activa de oxígeno. Conforme al mismo autor, el estado basal de los ácidos grasos insaturados corresponde al estado *singlete*, el cual es diamagnético (dos electrones apareados en la última capa). En contraste, el estado basal del oxígeno se encuentra en el estado *tripleto* (paramagnético), con dos electrones desapareados que tienen el mismo spin pero están en diferentes orbitales, de allí que la reactividad del oxígeno *tripleto* con los ácidos grasos insaturados es una reacción prohibida debido a la restricción presentada por el spin.

Esta restricción molecular del oxígeno, ocasionada por el spin puede ser superada por cualquiera de los siguientes mecanismos de iniciación (Salas, 2008):

- El oxígeno *singlete*.
- Especies activadas o parcialmente reducidas de oxígeno (peróxido de hidrógeno, anión superóxido, radical hidroxilo).
- Complejos activos de oxígeno y hierro.
- Ruptura homolítica de los hidroperóxidos ocasionada por el hierro, que generan radicales libres.



### 2.2.3 Antioxidantes

Alliwell y Gutteridge (1998), definieron como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

#### 2.2.3.1 Sintéticos

Presentan elevada actividad química, gran eficacia a dosis bajas, alta estabilidad y bajo costo, sin embargo pueden formarse productos secundarios en el proceso de fabricación de alimento o bien, al ingerirlos (Ramírez, 2008). Además, su uso ha sido parcialmente restringido debido a potenciales efectos indeseables, que actualmente son motivo de controversia (Gormaz, 2008).

#### 2.2.3.2 Naturales

Ramírez (2008) indica, son los que tienen menor actividad química y se necesitan dosis más elevadas, además, por la dificultad de su extracción presentan un costo mayor y menor estabilidad. Pese a todo ello, existen numerosas investigaciones que demuestran que no sólo no presentan problemas a la salud, sino que tienen considerables efectos benéficos.

Los extractos naturales se han utilizado mayoritariamente con fines terapéuticos. Estos extractos están constituidos por diversos compuestos de diferente naturaleza química; polifenoles, isoprenoides, compuestos tiólicos, ácido ascórbico y polisacáridos que en conjunto contribuyen, bajo diferentes mecanismos, a ejercer la capacidad antioxidante característica de un preparado natural. La presencia y proporción de ellos en los preparados naturales, dependerá principalmente de la planta utilizada como materia prima y del solvente utilizado en la extracción. Estos compuestos, además de su rol preservante del alimento, pueden actuar como antioxidantes biológicos en el consumidor, a través de diferentes mecanismos (Gormaz, 2008).

#### 2.2.4 Vitamina C o ácido ascórbico

Es un importante antioxidante hidrosoluble que actúa potenciando el efecto de otros antioxidantes tal como sucede con la vitamina E y el selenio. No se sintetiza en el organismo, por lo que debe ser aportada por la dieta (Criado, 2008). Presentándose en muchas plantas, y su acción antioxidante está dada por (Gormaz, 2008):

- a. Su capacidad de secuestrar especies radicales del oxígeno ( $O_2^-$ , HO $\cdot$ , ROO $\cdot$ ) y del nitrógeno (R-NOO $\cdot$ ).
- b. Por su capacidad de proteger las defensas antioxidantes celulares; regenera las especies oxidadas de los

antioxidantes fisiológicos ( $\alpha$ -tocoferol y GSH) y no fisiológicos ( $\beta$ -caroteno).

Según Criado (2008), actúa de forma sinérgica con la vitamina E, y se ha comprobado que se absorbe mejor si se encuentra en una formulación que contenga vitamina E. Algunos estudios muestran una clara participación de la vitamina C como antioxidante sobre el endotelio vascular evitando la oxidación del óxido nítrico, potenciando su actividad y aumentando su síntesis. Otros estudios sugieren una disminución de la peroxidación lipídica en presencia de vitamina C. Por ambas razones parece demostrado su papel beneficioso en la aparición y progresión de la aterosclerosis. Se caracteriza por un defecto en la formación del colágeno, cuya consecuencia es la fragilidad capilar con las consiguientes petequias y gingivorragias, dolores generalizados, anemia multifactorial por la hemorragia, por disminución en la absorción de hierro y por déficit de fosfato. Hasta el momento, aunque es evidente su importante papel como potente antioxidante, los ensayos clínicos no aportan datos concluyentes para afirmar que la ingesta de cantidades elevadas de vitamina C aisladamente prevenga la aparición y desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas.

Por otra parte, el Codex Alimentarius (2009) ha publicado que su uso es de 1.0 g de ácido ascórbico por 1 Kg de pescado fresco.

### 2.2.5 Romero

De acuerdo a Estrada (2010), es un arbusto leñoso de hojas perennes muy ramificadas, puede llegar a medir 2 metros de altura. Lo encontramos de color verde todo el año, con tallos jóvenes borrosos (aunque la borra se pierde al crecer) y tallos añosos rojizo y con la corteza resquebrajada. Nativa del área mediterránea, el romero en la actualidad es ampliamente cultivado en otras partes del mundo, aunque se desarrolla preferentemente en un clima cálido y relativamente seco. La planta toma el nombre de *Rosmarinus*, un término latino que significa "rocío de mar".

TABLA 5.- TAXONOMÍA DEL ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)

ÍTEM	DESCRIPCIÓN
Reino	Plantae
Sub Reyno	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Lamiales</i>
Familia	<i>Lamiaceae</i>
Sub Familia	<i>Nepetoideae</i>
Género	<i>Rosmarinus</i>
Especie	<i>Rosmarinus officinalis</i>

Fuente: Estrada, 2010.

Utilizada como condimento pero también como hierba medicinal por su actividad antioxidante. En la actualidad es usado como aditivo alimentario, saborizante o como preservante. El extracto se ofrece en diversas formulaciones: polvo, líquido, hidrosolubles, liposolubles, pudiéndose utilizar por lo tanto para cárnicos, bebidas, productos de panificación, golosinas, etc. (Wilson, 2011).

Según Ramírez (2008), los componentes principales que conforman la estructura química del romero son: carnosol, ácido carnósico, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, rosmarinquinona, ácido rosmarínico y rosmaridifenol. Sin embargo, esta composición depende de factores como la variedad de la planta y etapa de desarrollo en que está es recolectada, así como el lugar de origen, una lista detallada de sus componentes más característicos se presenta a continuación:

- Aceite esencial (1 – 2.5 %).
- Monoterpenos: alfa-pineno (15 – 25 %), beta-pineno, canfeno (5 – 10 %), mirceno, limoneno.
- Sesquiterpenos: beta-cariofileno, alfa-terpineol (14 – 24 %).
- Monoterpenoles: linanol, borneol (1 – 6 %).
- Esteres terpénicos: 1-8-cineol (15 – 30 %), acetato de bornilo (1 – 5 %).
- Monoterponas: alcanfor (15 – 25 %).
- Derivados terpénicos.

- Diterpenostricliclicos: rosmaridienol, carnosol, ácido carnosílico, rosmanol, 7-metoxi rosmarol.
- Derivados triterpénicos: ácido ursólico, ácido oleonólico, ácido 2-beta-hidroxioleanólico.
- Polifenoles
- Ácidos fenil-carboxílicos: ácido rosmarínico, ácido caféico.
- Flavonoides (derivados metilados):
  - 4-metoxi: diosmósido, hesperidósico.
  - 6-metoxi: homoplantaginósido, circimarósido, nepitrósido, cupafolina.
  - 7-metoxifegopolin.

El extracto de romero carece de toxicidad, es estable hasta los 240°C, su actividad antioxidante se debe principalmente al ácido carnosico y al carnosol en lo que concierne a las bases grasas, y al ácido rosmarínico y rosmanol ante los productos acuosos. Todos ellos mejoran su actividad cuando se combinan con tocoferoles, ácido ascórtico y ácido cítrico (Ramírez, 2008).

De acuerdo a Ramírez (2008), podemos hablar de una eficiencia antioxidante del extracto de romero (ER) de 2 a 4 veces superior a los antioxidantes sintéticos BHT y BHA. Soportando esta afirmación establece que:

200 ppm de ER > 100 ppm de ER + 100 ppm de BHA > 200 ppm de BHA

La eficiencia antioxidante del extracto de romero es altamente positiva. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones para desarrollar posibles sinergias con otros extractos naturales con el fin de mejorar los resultados y reducir su costo.

En la presente investigación se empleará un extracto acuoso recomendado por Tariq y col. (2013). Quienes mencionan que es mejor usar un extracto acuoso e hidrosoluble de romero para mezclas con otras sustancias hidrosolubles que contengan compuestos antioxidativos, ya que esto permitirá la mayor interacción y facilidad de adhesión a los alimentos. A pesar de ello, demostraron que un extracto etanólico de romero contiene mayor cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, que un extracto acuoso.

#### 2.2.6 Proceso de refrigeración

Según Guevara (2005), consiste en procesar los alimentos a baja temperatura, para que se lleguen a conservar a una temperatura superior a 0° C. A ésta temperatura el desarrollo de microorganismos disminuye o no se produce pero los gérmenes están vivos y empiezan a multiplicarse desde que se calienta el alimento.

### 2.2.7 Descripción de los fundamentos teóricos y técnicos

- Fileteado.- Proceso operacional que proporciona la habilitación de la materia prima para su procesamiento, realizándose por medio de diferentes técnicas y cortes.
- Envasado.- Proceso que permite la impermeabilidad del producto terminado hacia el medio externo, a través de materiales especiales.
- Refrigerado.- Proceso en el cual se logra inhibir y estabilizar las reacciones fisicoquímicas y microbiológicas, mediante temperaturas bajas, superiores a los 0°C; por un periodo no mayor de dos semanas.



### III. VARIABLES E HIPÓTESIS

#### 3.1 Variables de la investigación

##### 3.1.1 Variable independiente

- Concentración de romero.
- Concentración de ácido ascórbico.

##### 3.1.2 Variable dependiente

- Grado de oxidación de los filetes de trucha arco iris.

#### 3.2 Operacionalización de variables

- Causa: Acción antioxidante del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácidos ascórbico.
- Efecto: Retardo de la oxidación de los ácidos grasos insaturados, en el filete de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) tratada.

VARIABLE	TIPO	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA
Concentración de Extracto de Romero	Cuantitativo	Efecto antioxidante del extracto de Romero (ppm)	Inhibición de la oxidación de los ácidos grasos (valor peróxido)	400 ppm, 800 ppm, 1,200 ppm
Concentración de Ácido ascórbico	Cuantitativo	Efecto antioxidante del Ácido Ascórbico (g/Kg)	Retardo de la oxidación de los ácidos grasos (valor peróxido)	0.50 g/Kg, 0.75 g/Kg, 1.00 g/Kg
Grado de oxidación	Cuantitativo	Inhibición de la oxidación de ácidos grasos insaturados	Reducción del valor Malonaldehído (mg/Kg)	Miligramos/ Kilogramos de muestra de carne

### 3.3 Hipótesis

#### 3.3.1 General

El uso de mezclas, con una concentración de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácido ascórbico, permitiría retardar la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

### 3.3.2 Específicos

- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 400 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.
- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 400 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.
- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 400 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.
- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 800 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en

los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 800 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.
- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 800 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.
- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 1,200 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.
- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 1,200 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg, se

retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

- Con una mezcla de extracto romero (*Rosmarinus officinalis*) a 1,200 ppm y Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg, se retardará la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío.

## IV. METODOLOGÍA

### 4.1 Tipo de la investigación

El estudio está diseñado bajo las características de ser tipo prospectivo en razón de que el registro de la información se producirá según va ocurriendo el experimento. Según el análisis y alcance de sus resultados es de tipo experimental porque permitirá introducir y manipular el factor causal para determinar su efecto. Además es una investigación aplicada porque el fin de este proyecto es resolver un problema de naturaleza práctica permitiendo aplicar los resultados.

## 4.2 Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es un diseño experimental puro con pos pruebas y de grupo de control. Este será:

R	GE <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
R	GE <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
R	GE <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
R	GE <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub>
R	GE <sub>5</sub>	X <sub>5</sub>	O <sub>5</sub>
R	GE <sub>6</sub>	X <sub>6</sub>	O <sub>6</sub>
R	GE <sub>7</sub>	X <sub>7</sub>	O <sub>7</sub>
R	GE <sub>8</sub>	X <sub>8</sub>	O <sub>8</sub>
R	GE <sub>9</sub>	X <sub>9</sub>	O <sub>9</sub>
R	GE <sub>c</sub>	-	O <sub>10</sub>

Generalidades:

R = Randomización o aleatorización

GE = Grupos experimentales

X = Variable independiente

O = Mediciones

- = Grupo control

Especificaciones:

X<sub>1</sub> = Extracto Romero a concentración de 400 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg.

X<sub>2</sub> = Extracto Romero a concentración de 400 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg.

X<sub>3</sub> = Extracto Romero a concentración de 400 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg.

X<sub>4</sub> = Extracto Romero a concentración de 800 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg.

X<sub>5</sub> = Extracto Romero a concentración de 800 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg.

X<sub>6</sub> = Extracto Romero a concentración de 800 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg.

X<sub>7</sub> = Extracto Romero a concentración de 1,200 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg.

X<sub>8</sub> = Extracto Romero a concentración de 1,200 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg.



X<sub>9</sub> = Extracto Romero a concentración de 1,200 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg.

O = Grado de oxidación.

Y siendo del tipo factorial simple 3x3, permitiendo el tratamiento de dos variables independientes que en el caso de esta investigación son la concentración del extracto de romero con valores de 400 ppm, 800 ppm y 1,200 ppm, y concentración del ácido ascórbico con valores de 0.50 g/Kg, 0.75 g/Kg y 1.00 g/Kg. Siendo estos valores, las concentraciones principales del diseño, para así observar los efectos de cada una de las variables independientes con la variable dependiente. En la tabla 6, se detalla el diseño de la investigación.

**TABLA 6.- DISEÑO DE LA INVESTIGACION**

<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>		<b>FACTOR B</b> [ ] ÁCIDO ASCÓRBICO (g/Kg)		
		<b>NIVELES</b>	<b>0.50 gr/Kg</b>	<b>0.75 gr/Kg</b>
<b>FACTOR A</b> [ ] EXTRACTO DE ROMERO (ppm)	<b>400 ppm</b>	<b>GE<sub>1</sub></b> (400 ppm + 0.50 g/Kg)	<b>GE<sub>2</sub></b> (400 ppm + 0.75 g/Kg)	<b>GE<sub>3</sub></b> (400 ppm + 1.00 g/Kg)
	<b>800 ppm</b>	<b>GE<sub>4</sub></b> (800 ppm + 0.50 g/Kg)	<b>GE<sub>5</sub></b> (800 ppm + 0.75 g/Kg)	<b>GE<sub>6</sub></b> (800 ppm + 1.00 g/Kg)
	<b>1,200 ppm</b>	<b>GE<sub>7</sub></b> (1,200 ppm + 0.50 g/Kg)	<b>GE<sub>8</sub></b> (1,200 ppm + 0.75 g/Kg)	<b>GE<sub>9</sub></b> (1,200 ppm + 1.00 g/Kg)
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> Estabilidad de los ácidos grasos insaturados				

Como así mismo quedan limitados los grupos experimentales:

- GE<sub>1</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 400 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg.
- GE<sub>2</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 400 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg.

- GE<sub>3</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 400 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg.
  
- GE<sub>4</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 800 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg.
  
- GE<sub>5</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 800 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg.
  
- GE<sub>6</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 800 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg.
  
- GE<sub>7</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 1,200 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.50 g/Kg.
  
- GE<sub>8</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 1,200 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 0.75 g/Kg.

- GE<sub>9</sub>: Corresponde a las muestras o filetes suministradas a una mezcla de Extracto Romero a concentración de 1,200 ppm, y de Ácido Ascórbico a una concentración de 1.00 g/Kg.
- GE<sub>c</sub>: A las muestras no se les suministrará mezcla alguna de Extracto Romero y de Ácido Ascórbico. Estas serán el grupo control del experimento.

### 4.3 Población y muestra

#### 4.3.1 Determinación de la población y la muestra

- Población: Está determinada por 293 filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).
- Muestra: El muestreo se determinó de manera aleatoria, tomando 230 filetes de la población establecida; y de estas, 3 muestras para cada tratamiento, para cada análisis y para cada interacción.

#### 4.3.2 Lugar de ejecución

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Experimental Tecnológico de la Universidad Nacional del Callao (CET). La elaboración de los filetes de trucha refrigerados experimentales se realizó con técnicas artesanales, llevándose a cabo en la planta piloto de la Facultad de Ingeniería Pesquera y de Alimentos (FIPA). Asimismo los análisis fisicoquímicos necesarios para la realización de este trabajo, se efectuaron en el laboratorio de análisis químico del CET, entre los meses de Enero, Febrero y Marzo del 2015.

#### 4.3.3 Materia prima

La trucha fresca fue obtenida de la empresa "Inversiones y Proyectos en Cultivos del Perú S.A.C.", ubicada en la provincia de Canta, en la Cordillera La Viuda a 4,200 m.s.n.m.; la misma altura del lugar garantiza el óptimo crecimiento de la especie. Adquiriéndose truchas de talla comercial (25 – 30cm).

El nombre comercial del extracto acuoso de romero es GUARDIAN™ Rosemary Extract 09, que fue proporcionado por la empresa DANISCO, Copenhagen, Denmark (Ficha técnica adjuntada).

#### 4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

##### 4.4.1 Análisis organoléptico de la trucha

###### 4.4.1.1 Medición del grado de frescura del pescado.

En primer lugar, se eligieron aleatoriamente 10 truchas del lote a procesar. Luego se les colocó en un recipiente para llevarlas a una mesa o aun lugar en donde se pueda evaluar su grado de frescura. Tomando en cuenta las consideraciones que se detallan en el anexo N°03, en donde se les colocó las características del puntaje cualitativo.

#### 4.4.2 Determinación de la concentración de los antioxidantes

Las combinaciones se llevaron a cabo de acuerdo a la cantidad de concentraciones según la tabla 6.

#### 4.4.3 Preparación del filete

De acuerdo a la figura N°01, se describen los procesos a continuación:

##### 4.4.3.1 Recepción

La recepción inicial de la trucha arco iris proveniente de la provincia de Canta, se transportará en cooler a una temperatura de  $2\pm 0^{\circ}\text{C}$ . Hasta su llegada al Centro Experimental Tecnológico de la Universidad Nacional del Callao.

##### 4.4.3.2 Lavado y corte

La trucha recepcionada pasó por un proceso de lavado en solución de agua + hielo, hasta la temperatura de  $0^{\circ}\text{C}$  y con adición de hipoclorito de sodio de a razón de 10 gotas por 5 litros de agua. El tipo de corte será tipo "filete con piel", propio para peces cilíndrico (Xunta de Galicia, 2000). Siguiendo los siguientes pasos para la preparación de un filete de pescado:

#### 4.4.4 Dosificación de los antioxidantes

El contacto entre el antioxidante y la materia prima fue por inmersión, durante el periodo de 5 minutos con recambios de antioxidante cada 3 inmersiones.

Para lo cual la concentración de antioxidante añadida a la inmersión dependió de los datos de la tabla 6.

#### 4.4.5 Conservación de las muestras

##### 4.4.5.1 Envasado

El envasado se dio en una selladora al vacío; en una película de polietileno de alta densidad; con la cual se trabajó con los parámetros de vacío de 10 Lb/Pulg<sup>2</sup>; los cuales han sido calculados según experiencia, obteniendo este resultado como el mejor en el proceso de vacío.

##### 4.4.5.2 Almacenado

El almacenado se realizó en una congeladora conservadora controlando los parámetros de temperatura necesarios y siguiendo las buenas prácticas de manipuleo. El periodo de análisis fue de 15 días, considerando el día de



producción (día 0). Manteniéndose el producto almacenado en cámaras de refrigeración a una temperatura de  $2 \pm 0$  °C.

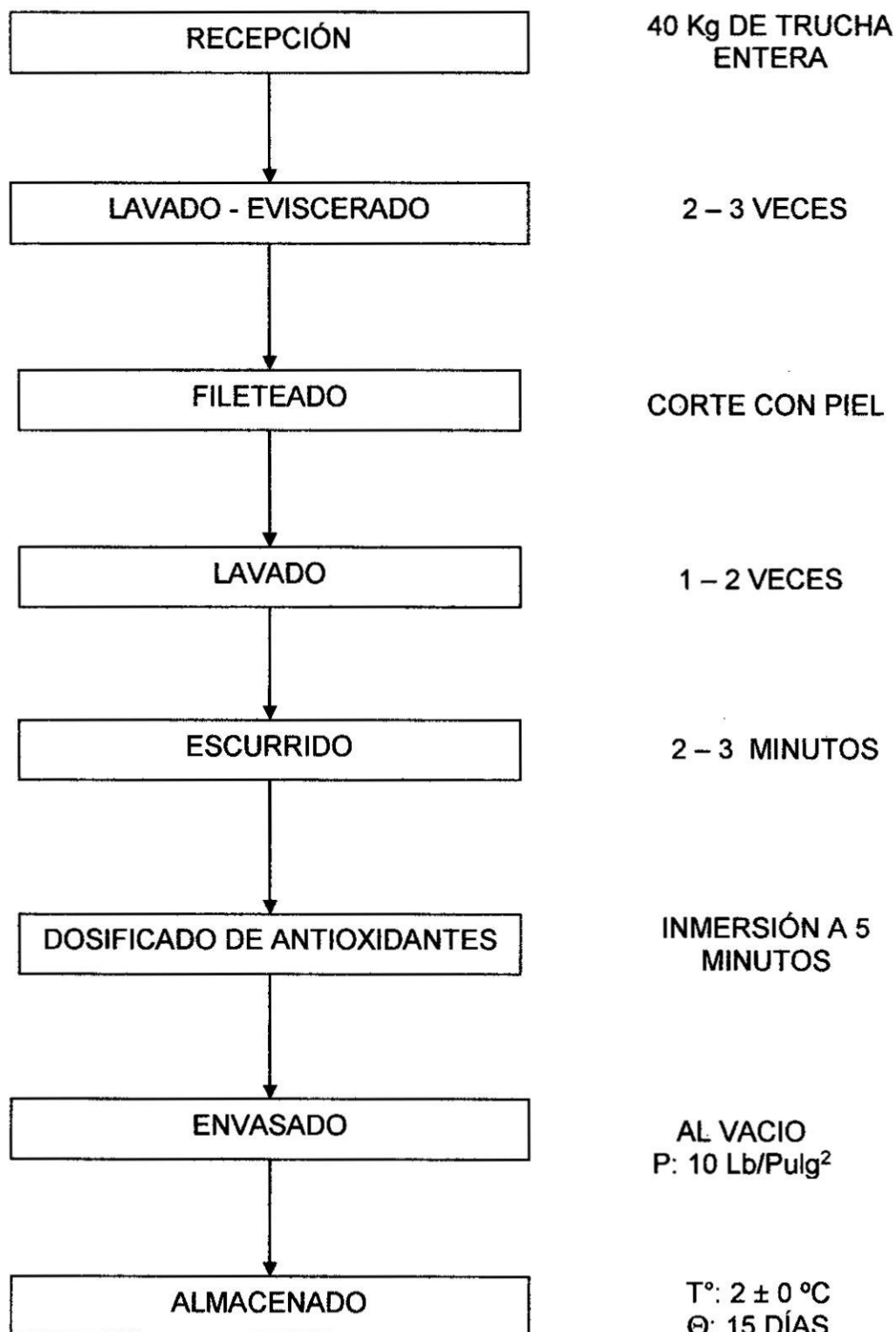
#### 4.4.6 Análisis del producto terminado

##### 4.4.6.1 Análisis fisicoquímico

###### 4.4.6.1.1 Determinación del valor de ácido 2-tiobarbitúrico (Pacheco, 2011)

Diez gramos de muestra fueron mezclados con 25 ml de ácido tricloroacético al 20 % (p/v) y homogeneizados bajo agitación por 30 s. Luego se procedió a filtrar, siendo 2 mL del filtrado añadidos a 2 mL de una solución de ácido 2-Tiobarbitúrico (TBA) al 0,02 M, la cual se colocó en un tubo de vidrio ámbar. Los tubos estuvieron incubados a temperatura ambiental en oscuridad por 20 horas, luego de ello, se midió la absorbancia a 532 nm, usando un espectrofotómetro UV-Vis SHIMADZU. El valor de TBA se expresó como mg de malonaldehído/kg de muestra de pescado, debido a que el malonaldehído (MDA) es el mayor producto degradado de la peroxidación lipídica y es utilizado como medida de oxidación de aceites, la cual forma pigmentos fluorescentes, siendo el espectrofotómetro un equipo que detecta el pigmento rosado, el cual resulta de la reacción del MDA con dos moléculas de TBA (Botsoglou y col., 1994; Tironi y col., 2009).

FIGURA N° 01 FLUJO DE PROCESAMIENTO DE LOS FILETES DE TRUCHA REFRIGERADOS Y ENVASADOS AL VACÍO

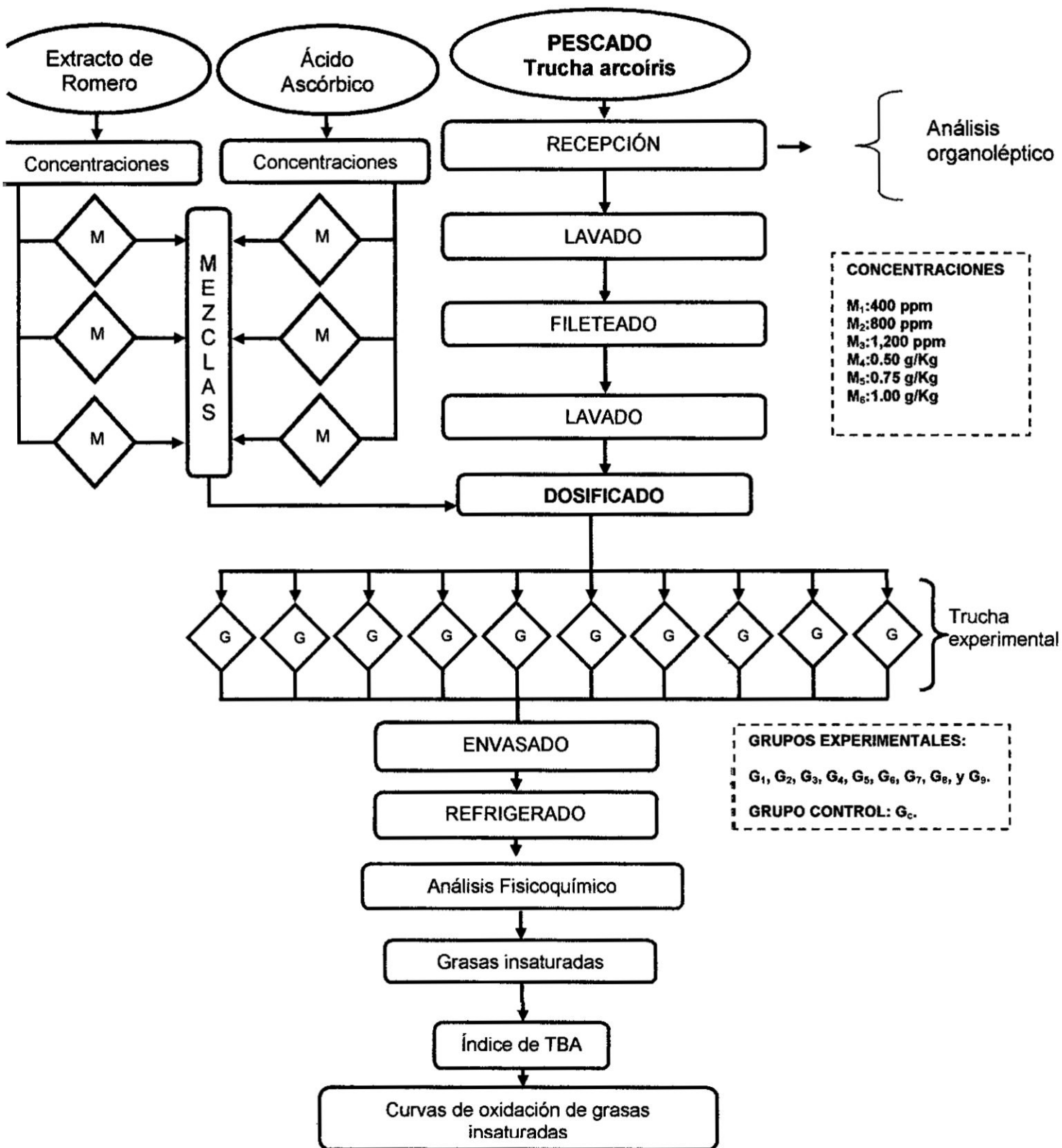


ANTIOXIDANTES:

EXTRACTO DE ROMERO

ÁCIDO ASCÓRBICO

FIGURA Nº 02 DISEÑO EXPERIMENTAL DEL PROCESAMIENTO DE LOS FILETES DE TRUCHA REFRIGERADOS Y ENVASADOS AL VACÍO



#### 4.4.6 Instrumentos de recolección de datos

Para efectos de la obtención de las condiciones en las que ingresó la materia – prima, se medirá a través de la tabla de medición del grado de frescura del pescado.

<b>GRADO DE FRECURA DE LA TRUCHA</b>											
Hora:						Fecha:					
N° de muestras	<b>Características</b>										
	T°	APARIENCIA GENERAL					OJOS		BRANQUIAS		Tota
		Piel	Opérculos	Dureza	Ventre	Olor	Claridad	Forma	Color	Olor	
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											

Para efectos de la obtención de las concentraciones inhibitorias para la oxidación de los ácidos grasos insaturados, se determinó el valor de ácido 2 - tiobarbitúrico por triplicado.

Hora:		Fecha:							
<b>CONCENTRACIÓN INHIBITORIA DEL EXTRACTO DE ROMERO Y ÁCIDO ASCÓRBICO PARA ESTABILIZAR LOS ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS</b>									
<b>Muestras</b>	<b>Valor de ácido 2 –tiobarbitúrico (mg de malonaldehído/kg de muestra de pescado)</b>								
	<b>Concentración:</b>								
1									
2									
3									
Promedio									
Desv. Estand.									
ANVA									
P < 0,05									

#### 4.5 Procedimientos de recolección de datos

El análisis organoléptico de la materia prima, se realizó al inicio de cada procesamiento a través del método y criterios propuestos por la Xunta de Galicia. Mientras que el análisis del peróxido y el análisis del índice del TBA, se realizaron en la mañana cada tres días a través del método propuesto por Pacheco (2011) y un espectrofotómetro UV-Vis SHIMADZU, respectivamente para cada análisis.

#### 4.6 Procesamiento estadístico y análisis de datos

La presencia del efecto de mezclas, con concentración de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácido ascórbico sobre el retardo de la oxidación de los ácidos grasos insaturados para cada mezcla experimental (ppm + g/Kg), se midió a través del retardo de la producción de peróxido, que se obtuvo de cada concentración durante los 15 días de estudio.

La semejanza o diferencia entre los tratamientos o grupos experimentales, constó de dos partes. La primera que se estableció mediante el análisis de varianza (ANVA), con un nivel de significancia  $p=0.05$ , utilizando las interacciones realizadas. Y la segunda que constó en la prueba t, con un nivel de significancia  $p=0.05$ , la cual permitió hallar la semejanza o diferencia entre el mejor grupo experimental y el grupo control.

La estimación del mejor tratamiento que permito el retardo de la oxidación de los ácidos grasos insaturados, para los valores medios de los tratamientos, se obtuvo por las comparaciones múltiples que son posibles con 3 unidades repetitivas para el diseño Factorial Simple de  $3 \times 3$ , aplicando la prueba Tuckey para el caso de encontrar el mejor de los tratamientos. Previo a los análisis anteriores, se utilizará las pruebas de Anderson-Darling para la normalidad y Bartlett's, para la homocedasticidad.

El procesamiento de los datos se realizó con el programa estadístico MINITAB 17.1.0.0.

## V. RESULTADOS

### 5.1 Resultados de frescura

Para la evaluación de la frescura de la trucha al inicio y final de la prueba experimental, se consideró la escala de 0- 4 en puntaje de deméritos de acuerdo al método de índice de calidad planteado por Larsen y col. (1992, citado por FAO, 1999). Es así que en la tabla 7 se presentan los datos promedios de las evaluaciones realizadas en el experimento de la presente investigación.

TABLA 7.- RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL GRADO DE FRESCURA

Valores	Etapa de la producción	
	Inicial	Final
Temperatura (°C)	3	3
Piel	0.4	0.4
Opérculos	0.6	0
Dureza	0	0.2
Olor	0.2	0.3
Vientre	0.4	0
Claridad de los ojos	0.1	0
Forma de los ojos	0.1	0
Color de las branquias	0.6	0
Olor de las branquias	0.1	0
<b>Total del promedio</b>	<b>2.5</b>	<b>0.9</b>

Elaboración: Propia



## 5.2 Resultados estadísticos

De acuerdo a lo mencionado se utilizó la prueba de Bartlett's para evaluar la homocedasticidad de los grupos experimentales. Resultando para el análisis del TBA un p-valor  $>$  al 5%. Esto permite confirmar que existe homocedasticidad en los datos de cada variable.

Hipótesis:

- H0: (P-val  $<$   $\alpha$  entonces se rechaza la H1) No existe Homocedasticidad en el experimento.
- H1: (P-val  $>$   $\alpha$  entonces se acepta la H1) Si existe Homocedasticidad en el experimento. (Véase apéndice grafico 1)

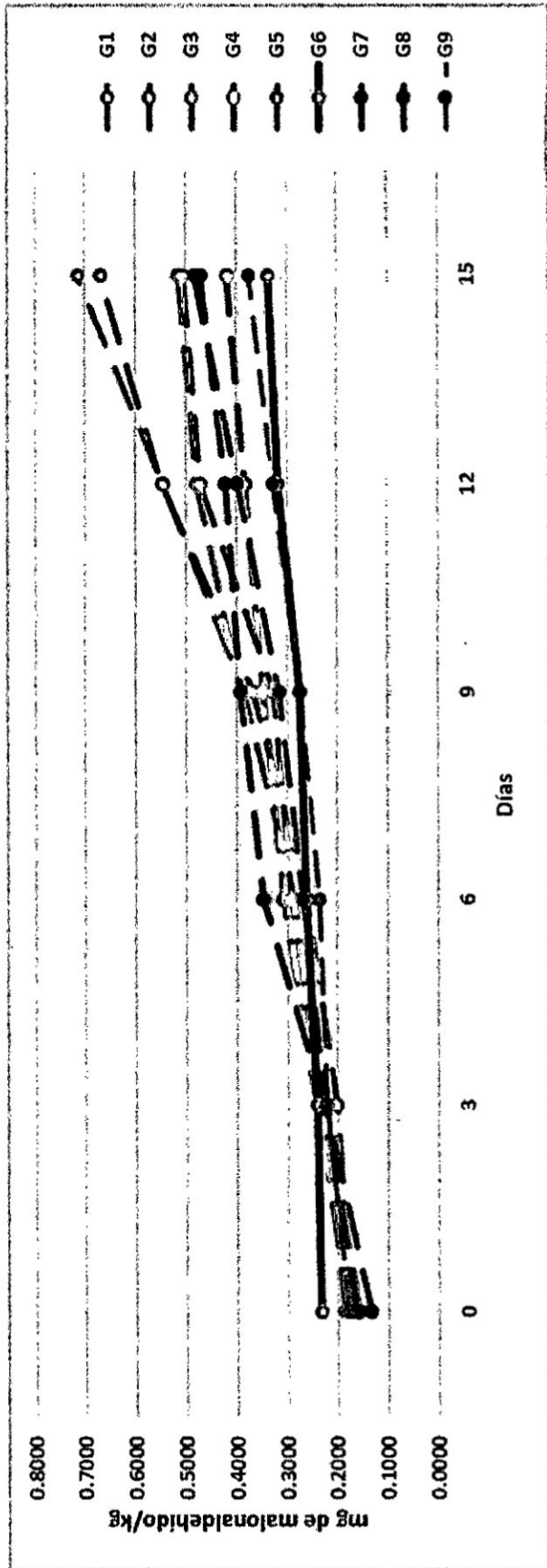
En segundo lugar, se realizó la prueba de Anderson-Darling para evaluar la normalidad. Resultando para cada uno de los grupos experimentales por días, un p-valor  $>$  al 5%. Esto permite confirmar que hay normalidad en los datos de cada variable (no es necesario detallarlos).

Hipótesis:

- H0: (P-val  $<$   $\alpha$  entonces se rechaza la H1) No existe Normalidad entre los datos.
- H1: (P-val  $>$   $\alpha$  entonces se acepta la H1) Si existe entre los datos.

En tercer lugar, se realizó el ANVA a través del Modelo Lineal General, la cual consto de dos partes. La primera para evaluar si existía diferencia

GRAFICO 1.- RELACION DE LA CANTIDAD DE MALONALDEHÍDO Y DÍAS,  
 POR GRUPO EXPERIMENTAL



Elaboración: Propia

## VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 Contrastación de hipótesis con los resultados

De acuerdo al enunciado de la hipótesis, que el uso de mezclas, con una concentración de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácido ascórbico, permitiría retardar la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) refrigerados y envasados al vacío. Y a lo obtenido en la aplicación de la prueba ANVA y prueba t para el mejor grupo experimental y el grupo control, se obtuvo que hay diferencia significativa entre los grupos con la aplicación de las mezclas de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácido ascórbico, y el grupo que no contenía esta mezcla.

En contraste con los resultados obtenidos en las pruebas estadísticas y los resultados del análisis del TBA, se acepta la hipótesis.

### 6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares

En la presente investigación, se siguieron las recomendaciones de García y col. (2006), con la aplicación de la tecnología de envasado en atmósfera protectora, dando a conocer que la trucha de piscifactoría conservada en atmósfera modificada, a una temperatura de  $-1 - 2$  °C, tiene una vida útil

de 12 – 16 días. Esto se pudo confirmar con la aplicación de la metodología de la Xunta de Galicia (2000) para los resultados finales obtenidos en el análisis organoléptico. Además, estudios realizados en filetes de lebranche (*Mugil liza*), un rango menor de 3.59 ppm hasta 7.25 ppm de valores de TBA, muestran un buen grado de frescura durante el periodo de almacenamiento (Valls y col., 2008).

La aplicación de la mezcla de concentración de extracto de romero (*Rosmarinus officinalis*) y ácido ascórbico en el retardo de la oxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los filetes de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), se siguieron de los resultados positivos del estudio de Gormaz (2005), que obtuvo 0,51  $\eta$ moles de catequina o rutina/  $\mu$ g de extracto seco de romero o 85,0  $\mu$ mol de catequina o rutina/ g droga vegetal para la protección de los lípidos y el contenido tiólico de filetes de *Oncorhynchus mykiss* (trucha arco iris); también de acuerdo a resultados obtenidos por Martinello y Pramparo (2005), en donde el extracto de romero proveniente de las hojas del mismo, posee poder antioxidante ante los aceites. Y por las recomendaciones del Codex Alimentarius (2009) para el ácido ascórbico, de 1.0 g de este por 1 Kg de pescado fresco.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, se optó por elegir como mejor grupo experimental el G6 (800 ppm de extracto de romero + 1.00 g de ácido ascórbico), ya que estadísticamente las

interacciones independientes de "Extracto de Romero + Días" y "Ácido Ascórbico + Días" arrojan que este grupo es el mejor. Y por los resultados del análisis del TBA, que muestran una mayor inhibición de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados, alcanzando en el día 15 un valor promedio de 0.3363 mg de malonaldehído/kg de muestra de pescado, menor que el resto de los grupos experimentales. En comparación con los resultados obtenidos del índice de TBA por Pacheco y col. (2011) en rebanadas de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) almacenadas a 4 °C, sus datos fueron mayores a los 15 días (lactato de sodio, acetato de sodio, romero y ajo en soluciones acuosas, con 1.79, 1.68, 1.57 y 1.88, respectivamente) que los obtenidos por nosotros, debido a que el bagre dorado presenta mayor cantidad de lípidos que la trucha arcoiris. Rangos similares presento el estudio de Tironi y col. (2009), al evaluar el efecto del extracto acuoso de romero (*Rossmarinus officinalis* L.) en filetes del músculo del Salmon del Mar (*Pseudoperca semifasciata*) en estado refrigerado ( $1.0 \pm 0.7$  °C) durante 8 días, encontrando valores entre 1.2 y 1.8 mg de malonaldehído/kg de pescado, resultados que también se justifican por la gran cantidad de lípidos que tiene el salmón en comparación con la trucha.

Por otra parte, estudios realizados en la estabilidad de la pulpa de anchoveta (*Engraulis ringens*) durante el almacenamiento en congelación con antioxidantes, recomiendan que el TBA es el mejor indicador químico

de los cambios que ocurren durante el almacenamiento para pescados, que datos obtenidos del valor peróxido, esto debido a su comportamiento errático (Salas, 2008). Es por ello que tan solo se aplicó el índice de TBA para la presente investigación.

Para el caso de los resultados obtenidos en la evaluación del grado de frescura, para el inicio del experimento se obtuvo un puntaje promedio de 2.5, siendo para los quince días posteriores un puntaje promedio de 0.9, menor al inicio del experimento. Esta metodología aplicada, es planteada por Larsen y col. (1992, citado por FAO, 1999), la cual recomienda que el rango óptimo de frescura del pescado para el consumo humano directo se encuentra entre 0 – 4. Es así, que el producto final, se considera como apto para el consumo humano directo, a pesar que el puntaje promedio dio un resultado menor al del inicio del experimento, esto puede deberse a que es un producto final en presentación filete, por lo que no se llegan a considerar la mayoría de los ítems propuestos por el autor.

refrigeración, por ende esa diferencia en el punto criogénico muestra diferencias significativas.

- Se concluye que la inmersión en extracto natural (Extracto de Romero) y productos permitidos por la FDA (Ácido Ascórbico), promueven un saludable acondicionamiento a las especies hidrobiológicas de gran aporte nutricional para el consumo humano directo (CHD).

## VIII. RECOMENDACIONES

Se recomienda mantener un control diario del índice de TBA, debido a que durante el periodo de evaluación puede haber fluctuaciones que indiquen un desecho completo de la materia prima.

Se recomienda realizar evaluaciones y experimentos previos al envasado al vacío del producto, para hallar los parámetros adecuados de envasado, debido a que un inadecuado manejo operacional puede permitir la aceleración de la oxidación de la materia prima y así su descomposición de la misma.

Replicar el experimento con otros indicadores químicos que permitan un mayor detalle de los resultados y un mayor análisis de los mismos.

El periodo de evaluación presentó datos de materia prima proveniente de cultivo en jaulas flotantes, por lo que se recomienda usar materia prima de piscigranja, la cual esta tan solo expuesta netamente a alimento artificial y no a alimento del ecosistema.

Aplicar antioxidantes naturales para otras especies acuícolas como de extracción, para evaluar el grado de inhibición en los ácidos grasos poliinsaturados de los mismos.



Puebla: Universidad de las Américas Puebla, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos; 2008.

Salas A. Uso de antioxidantes para la estabilidad oxidativa de la pulpa de anchoveta (*Engraulis ringens*) almacenada en congelación. Tesis para optar el grado académico de Magíster en Ciencia de los Alimentos. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2008.

Tariq N, Wisam S, Faik H, Mayson T. The Antioxidative Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of Rosemary and Green Tea Leaves: A Comparative Study. *Pack. J. Chem.* 2013; 3(1): 1-7.

Tironi V, Tomás M, Añón M. Lipid and protein changes in chilled sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*): effect of previous rosemary extract (*Rossmarinus officinalis* L.) application. *International Journal of Food Science and Technology.* 2009; 44: 1254–1262.

Universidad de Murcia, Área Nutrición y de Bromatología. Evaluación del grado de frescura del pescado [Internet]. Murcia: Universidad de Murcia. 2008. [Consulta el 17 de Febrero de 2012]. Disponible en: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicas-1/practica-4-evaluacion-del-grado-de-frescura-del>

Valls J, Xiques A, Escalona A. Evaluación física y química de filetes de lebranche (*mugil liza*) en almacenamiento congelado a  $-18^{\circ}\text{C}$ . FCV – LUZ. 2008; 18 (1): 329–338.

Wilson É. Extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como preservante para alimentos [Internet]. Buenos Aires: Profitocoop. 2011. [Acceso el 12 de Noviembre de 2011], disponible en:

[http://www.profitocoop.com.ar/actualidad\\_cientifica/Extracto%20de%20romo%20como%20conservante.pdf](http://www.profitocoop.com.ar/actualidad_cientifica/Extracto%20de%20romo%20como%20conservante.pdf)

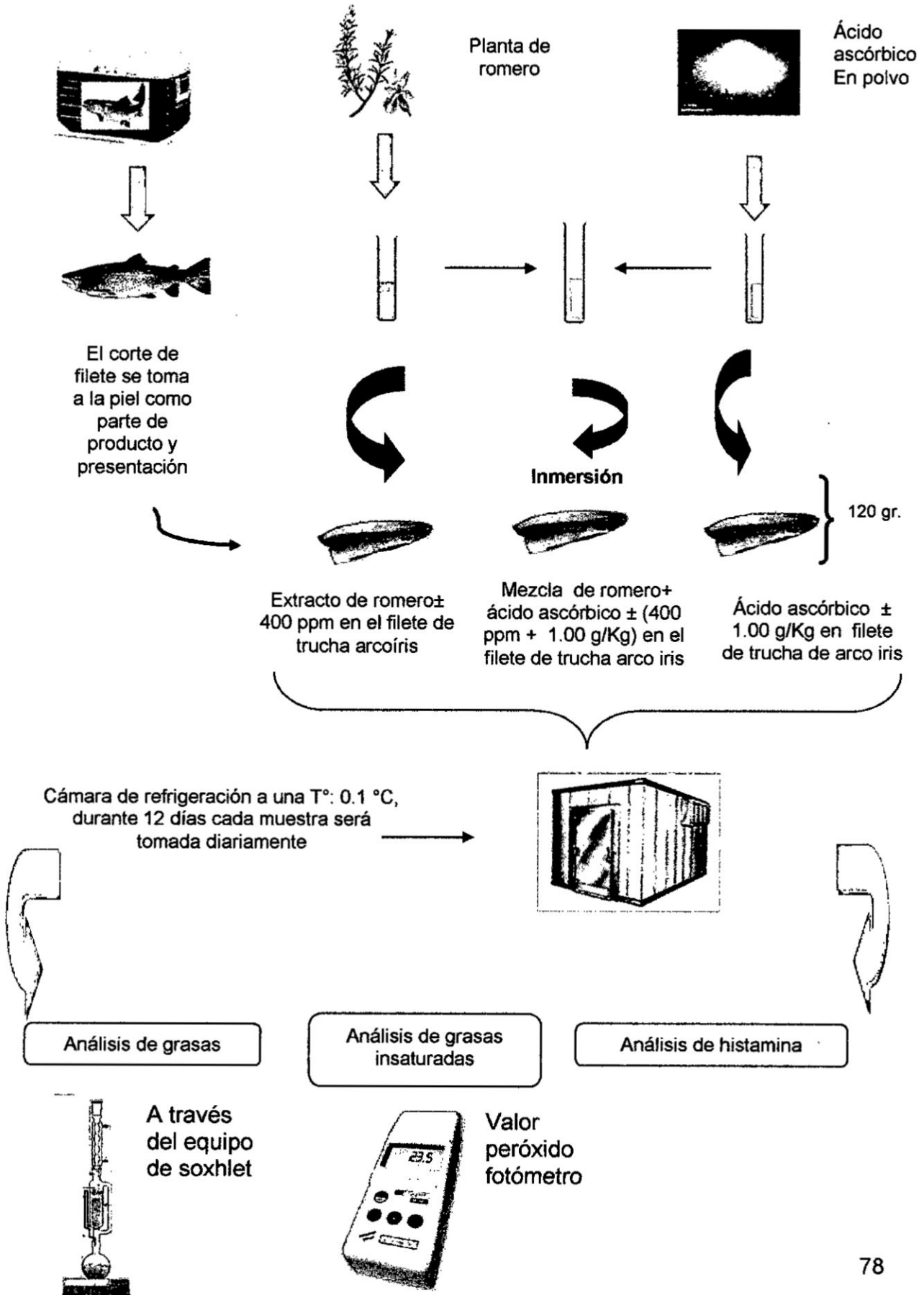
Xunta de Galicia. Guía do Consumidor de Peixe Fresco. 1ª ed. Galicia: Cansellería de Pesca, Marisqueo e Acuicultura; 2000.

# **ANEXOS**

**ANEXO N°01**  
**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES				METODOLOGÍA
			VARIABLE	DIMENSION	INDICADOR	ESCALA	Tipo de investigación
¿Con qué concentración se adicionará el extracto de romero y ácido ascórbico a los filetes de trucha arco iris para retardar la oxidación de los ácidos grasos insaturados?	Determinar el efecto de la mezcla de ácido ascórbico y del extracto de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) sobre la estabilidad de las grasas insaturadas en los filete de Trucha Arco Iris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) refrigerados y envasados al vacío.	Si se usa concentraciones de la mezcla de extracto de romero ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ) y ácido ascórbico, entonces se logrará inhibir la oxidación de los ácidos grasos insaturados de los filetes de trucha refrigerados y envasados al vacío.	Extracto de Romero	Efecto antioxidante del extracto de Romero (ppm)	Inhibición de la oxidación de los ácidos grasos (valor peróxido)	400 ppm, 800 ppm, 1,200 ppm	Método AOAC
			Ácido ascórbico	Efecto antioxidante del Ácido Ascórbico (gr/Kg)	Retardo de la oxidación de los ácidos grasos (valor peróxido)	0.50 g/Kg, 0.75 g/Kg, 1.00 g/Kg	Método AOAC
			Ácidos grasos insaturados	Inhibición de la oxidación de ácidos grasos insaturados	Reducción del valor peróxido (meq/Kg)	Miliequivalente de peróxido / Kilogramo de muestra de carne	Método AOAC

**FIGURA N° 03 FLUJOGRAMA DE PROCESAMIENTO DEL FILETE DE TRUCHA ARCOIRIS REFRIGERADA**



## ANEXO N° 03

### Esquema para la evaluación de la calidad empleado para identificar el índice de calidad mediante deméritos (Larsen et al., 1992)

Parámetro de la calidad	Característica	Puntuación (hielo/agua de mar)
Apariencia general	Piel	0 Brillante, resplandeciente
		1 Brillante
		2 Opaca
	Manchas de sangre (enrojecimiento) en opérculos	0 Ninguna
		1 Pequeños, 10-30%
2 Grandes, 30-50%		
Dureza	3 Muy grandes, 50-100%	
	0 Duro, en <i>rigor mortis</i>	
	1 Elástico	
Ventre	2 Firme	
	3 Suave	
	0 Firme	
Olor	Ventre	1 Suave
		2 Estallido de vientre
		3 Carne pasada/rancia
	Olor	0 Fresco, algas marinas/metálico
		1 Neutral
Ojos	Claridad	2 A humedad/Mohoso/ácido
		3 Carne pasada/rancia
	Forma	0 Claros
		1 Opacos
Branquias	Color	0 Normal
		1 Planos
	Olor	2 Hundidos
		0 Rojo característico
Suma de la puntuación		1 Pálidas, descoloridas
		0 Fresco, algas marinas/metálico
		1 Neutral
		2 Dulce/ligeramente rancio
		3 Hedor agrio/pasado, rancio
		(Mínimo 0 y máximo 20)

El MIC se basa en los parámetros sensoriales significativos del pescado crudo, cuando se emplean muchos parámetros, y un sistema de puntuación por deméritos del 0 al 4 (Jonsdottir, 1992). El MIC utiliza un sistema práctico de calificación en el cual el pescado se inspecciona y se registran los deméritos correspondientes. Las puntuaciones registradas en cada característica se suman para dar una puntuación sensorial total, el denominado índice de la calidad. El MIC asigna una puntuación de cero al pescado muy fresco; así, a mayor puntuación mayor es el deterioro del pescado. La descripción de la evaluación para cada parámetro se indica en una directriz. Por ejemplo: 0 puntuación por deméritos, en la apariencia de la piel en el arenque, significa una piel brillante característica del arenque recién capturado. La apariencia de la piel en un estado avanzado de deterioro se vuelve menos brillante, opaca y se le asigna una puntuación de 2 deméritos. La mayoría de los parámetros escogidos son iguales a muchos otros esquemas. Después de la descripción literal, las puntuaciones para cada descripción y para todos los parámetros, son clasificadas dando puntuaciones 0-1, 0-2, 0-3 o 0-4. A los parámetros de menor importancia se les asigna una clasificación menor. Las clasificaciones individuales nunca exceden 4, de esta forma ningún parámetro puede desbalancear la clasificación. En el Cuadro 8.1

# APÉNDICE



GRAFICO 2.- TEST DE BARTLETT'S PARA LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.

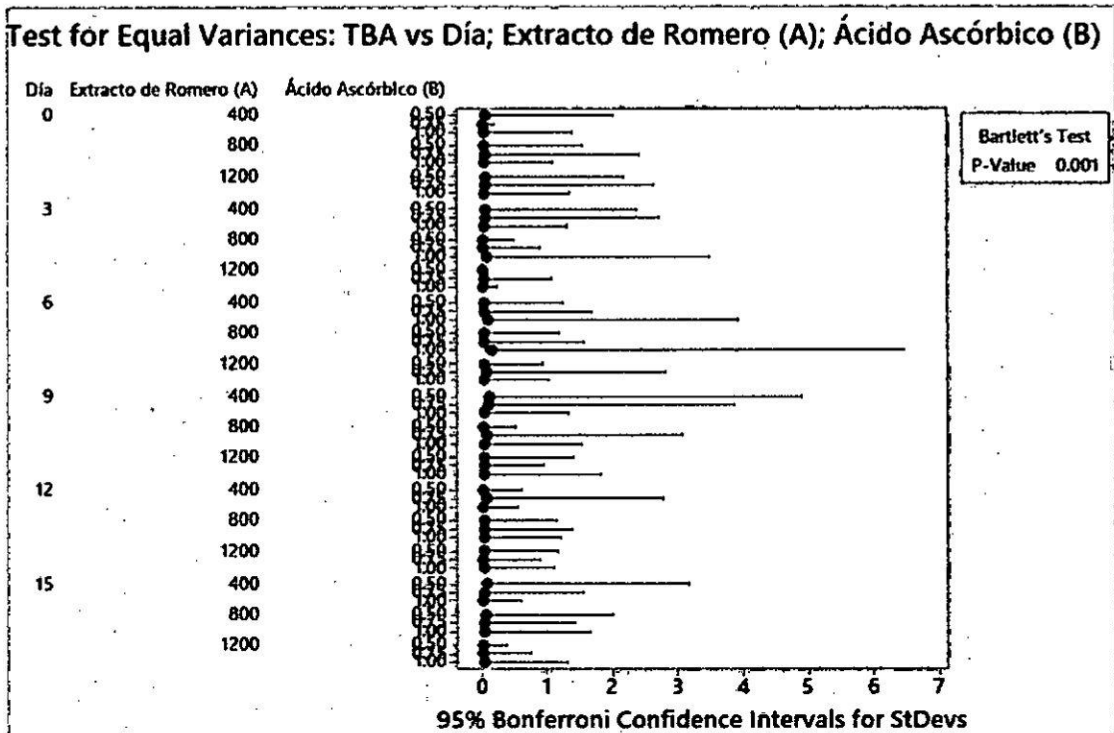


GRAFICO 3.- DE ANVA PARA EXISTENCIA DE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LOS TRATAMIENTOS.

General Linear Model: TBA versus Extracto de Rome; Ácido Ascórbico ; Día

Factor	Type	Levels	Values
Extracto de Romero (A)	fixed	3	400; 800; 1200
Ácido Ascórbico (B)	fixed	3	0.50; 0.75; 1.00
Día	fixed	6	0; 3; 6; 9; 12; 15

Analysis of Variance for TBA, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Extracto de Romero (A)	2	0.124942	0.124942	0.062471	31.31	0.000
Ácido Ascórbico (B)	2	0.047874	0.047874	0.023937	12.00	0.000
Día	5	2.071334	2.071334	0.414267	207.61	0.000
Extracto de Romero (A) <sup>2</sup> Ácido Ascórbico (B) <sup>2</sup> Día	20	0.055143	0.055143	0.002757	1.38	0.147
Extracto de Romero (A) <sup>2</sup> Ácido Ascórbico (B)	4	0.012613	0.012613	0.003153	1.58	0.185
Extracto de Romero (A) <sup>2</sup> Día	10	0.236865	0.236865	0.023686	11.87	0.000
Ácido Ascórbico (B) <sup>2</sup> Día	10	0.116668	0.116668	0.011667	5.85	0.000
Error	108	0.215506	0.215506	0.001995		
Total	161	2.880946				

S = 0.0446702 R-Sq = 92.52% R-Sq(adj) = 88.85%

#### GRAFICO 4.- PRUEBA DE TUKEY PARA LOS TRATAMIENTOS

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Extracto  
de  
Romero

(A)	N	Mean	Grouping
400	54	0.4	A
800	54	0.3	B
1200	54	0.3	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Acido  
Ascórbico

(B)	N	Mean	Grouping
0.75	54	0.3	A
0.50	54	0.3	A
1.00	54	0.3	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Día	N	Mean	Grouping
15	27	0.5	A
12	27	0.4	B
9	27	0.3	C
6	27	0.3	D
3	27	0.2	E
0	27	0.2	F

Means that do not share a letter are significantly different.

GRAFICO 5.- PRUEBA DE TUKEY PARA LAS CONCENTRACION Y LA INTERACCION CON LOS DÍAS

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Extracto de Romero

(A)	Día	N	Mean	Grouping
400	15	9	0.6	A
400	12	9	0.5	B
1200	15	9	0.4	C
800	15	9	0.4	C
800	12	9	0.4	C D
1200	12	9	0.4	C D
400	9	9	0.4	C D
1200	9	9	0.3	D E
800	9	9	0.3	D E
800	6	9	0.3	E F
400	6	9	0.3	E F G
1200	6	9	0.3	E F G
800	3	9	0.2	F G H
1200	3	9	0.2	G H
400	3	9	0.2	G H
800	0	9	0.2	H
400	0	9	0.2	H
1200	0	9	0.2	H

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Acido Ascórbico

(B)	Día	N	Mean	Grouping
0.75	15	9	0.5	A
0.50	15	9	0.5	A
0.75	12	9	0.5	A B
0.50	12	9	0.4	B C
1.00	15	9	0.4	B C D
1.00	12	9	0.4	C D E
0.75	9	9	0.4	D E
0.50	9	9	0.3	D E F
1.00	9	9	0.3	E F
1.00	6	9	0.3	F G
0.50	6	9	0.3	F G
0.75	6	9	0.3	F G
0.50	3	9	0.2	G H
1.00	3	9	0.2	G H
0.75	3	9	0.2	G H
1.00	0	9	0.2	H
0.75	0	9	0.2	H
0.50	0	9	0.2	H

Means that do not share a letter are significantly different.

GRAFICO 6.- PUEBA DE T DE STUDENT PARA EL GRUPO  
EXPERIMENTAL G6

**Two-Sample T-Test and CI: TBA; Grupo Experimental**

Two-sample T for TBA

Grupo

Experimental	N	Mean	StDev	SE Mean
G6	18	0.2856	0.0747	0.018
MC	18	0.544	0.256	0.060

Difference =  $\mu$  (G6) -  $\mu$  (MC)

Estimate for difference: -0.2586

95% CI for difference: (-0.3902; -0.1270)

T-Test of difference = 0 (vs  $\neq$ ): T-Value = -4.11 P-Value = 0.001 DF = 19