



**FACULTAD DE CIENCIAS TÉCNICAS**  
**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA INDUSTRIAL**

**TRABAJO DE DIPLOMA**

**TITULO:** Mejoramiento de la calidad en el sistema de aprovisionamiento a las Industrias pesqueras acuícolas.



**AUTOR:** Dariel Rivadeneira Casanueva

**TUTOR:** Ms. C. Orlando de la Cruz Rivadeneira

**2018**

## *Pensamiento*

*“Solo renuncian a la calidad los que no la poseen, ni tienen voluntad ni talento para alcanzarla”.*

*Che*

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo a quienes me han apoyado en todos estos años y han depositado su confianza en mí:

En especial:

A mis padres y a mi hermano por estar siempre cuando los necesito.

A mi tutor por haber confiado en mí.

## **Agradecimientos**

A mis padres y a mi hermano, por apoyarme en la vida.

A mi tutor que me guió en la elaboración de este trabajo.

A Damaris por haberme ayudado cuando más lo necesité.

A la profesora Bismaida por haberme ayudado en la elaboración de este trabajo.

A mis verdaderas amistades, que me ofrecieron su ayuda cuando las necesité.

A mis profesores, por haberme formado como profesional.

A mis compañeros de trabajo a quienes considero magníficas personas, en especial a Maricel y Anita, porque son como madres para mí.

A todas aquellas personas que durante estos años han estado siempre para contar con ellos.

Para todos, muchísimas gracias.

Nota de aceptación

---

---

---

---

---

---

---

---

Presidente del Tribunal

---

Tribunal

---

Tribunal

Sancti Spíritus \_\_\_\_ de junio del \_\_\_\_\_

## **Resumen**

La presente investigación se realizó en la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR”, con el propósito de mejorar la calidad en el sistema logístico de aprovisionamiento de productos acuícolas a través de modelos predictivos de calidad que permitan la toma de decisiones oportunas y de esta forma reducir las pérdidas post cosecha. Para esto se propone un procedimiento que prevea la durabilidad de los productos pesqueros en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento. Para la aplicación se escogió entre las especies cultivadas de peces dulceacuícolas la carpa común o *cyprinus carpio* (nombre científico), debido a que constituye el mayor volumen de materia prima en el procesamiento industrial de productos pesqueros del país. Para el estudio se utilizan diferentes métodos y técnicas que ofrecen un soporte científico a la investigación, entre los que se encuentran: diagrama de flujo de actividades, diagrama de causa-efecto, diagrama de Pareto, la tormenta de ideas, método Delphi, diseño de experimento, método del índice de calidad (QIM), encuestas, consulta de documentos, entre otros. Todo lo anterior permitió valorar la situación actual del sistema, señalar los principales problemas que inciden en su correcto manejo y la posterior toma de decisiones en correspondencia de qué material puede ser adecuado para un determinado fin y uso, lo que garantiza la inocuidad alimentaria y la disminución de las pérdidas post cosecha.

## **Summary**

The present investigation was carried out in the fishing company of Sancti Spíritus "PESCASPIR", with the purpose of improving the quality in the logistic system of supplying aquaculture products through predictive models of quality that allow the making of timely decisions and in this way reduce post-harvest losses. For this, a procedure is proposed that foresees the durability of the fish products as a function of the time and the temperature of storage. For the application was chosen among the cultivated species of freshwater fish common carp because it constitutes the largest volume of raw material in the industrial processing of fishery products of the country. For the study, different methods and techniques are used that offer a scientific support to the research, among which are flow diagrams activities, cause and effect diagram, pareto diagram, brainstorming, Delphi method, experiment design, QIM, consultation of documents, among others. All of the above allowed to assess the current situation of the system, to identify the main problems that affect its correct management and subsequent decision making in correspondence of which material may be suitable for an specific purpose and use, which guarantees food safety and decrease in post-harvest losses.

## Índice

Introducción.....	1
Capítulo I. Marco teórico referencial.....	5
1.1. Gestión de las cadenas de suministros de alimentos basados en la gestión de la calidad .....	6
1.2. Pescado como alimento perecedero.....	10
1.2.1. Factores previos a la cosecha que afectan la frescura .....	12
1.2.2. Factores posteriores a la cosecha que afectan a la frescura .....	12
1.3. Evaluación de la calidad del pescado fresco. Uso de modelos predictivos .....	14
1.3.1. Métodos microbiológicos .....	15
1.3.2. Métodos bioquímicos y químicos.....	16
1.3.3. Métodos sensoriales .....	18
1.4. Gestión de la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera mediante modelos predictivos de vida útil.....	22
1.4.1 La carpa dentro de la acuicultura cubana .....	24
1.5. Conclusiones del capítulo .....	26
Capítulo II. Procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad, que prevea la durabilidad de los productos pesqueros, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, para la toma de decisiones oportunas que permita reducir las pérdidas post cosecha .....	27
2.1. Bases del procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad, basado en el análisis microbiano, bases volátiles totales nitrogenadas y análisis sensorial en la industria pesquera acuicola .....	277
2.2. Caracterización de la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR” .....	29
2.3. Etapas del procedimiento.....	31
2.4. Conclusiones del capítulo .....	44
Capítulo III. Aplicación del procedimiento propuesto para prever la durabilidad de la carpa en la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR” .....	46
3.1. Caracterización de la materia prima.....	46
3.2. Aplicación del procedimiento propuesto.....	47
3.2.1. Formación del equipo de trabajo.....	48
3.2.2. Determinación de los factores pre cosecha y post cosecha a controlar. Diseño de experimento .....	49
3.3. Determinar la relación entre las curvas de deterioro y el QIM.....	70

3.4. Conclusiones del capítulo .....	74
Conclusiones generales .....	76
Recomendaciones.....	77
Bibliografía .....	78
Anexos .....	800

## **Introducción**

Las estrategias de desarrollo que hacen hincapié en la producción de alimentos básicos, han demostrado ser un método eficaz en función de los costos para ofrecer a la población una mejor alimentación. Si bien es preciso garantizar la disponibilidad de éstos, es igual de importante que los consumidores tengan acceso a una alimentación inocua, variada desde el punto de vista nutricional y equilibrada que les garantice una vida activa y sana (Social, 2000a).

Para lograr un aumento en la producción alimentaria es fundamental la disminución de las pérdidas y desperdicios durante toda la cadena de suministro y de esta forma satisfacer la necesidad sin agotar el medio de cultivo. Las principales causas que conllevan al desperdicio son las ineficiencias en la producción, el almacenamiento, la manipulación y el transporte, que constituyen el sistema logístico de aprovisionamiento, y requieren una mejor atención con el propósito de mantener la calidad, los atributos nutricionales y evitar las pérdidas post cosecha (Lemma et al., 2014).

Las pérdidas de alimentos afectan la seguridad alimentaria, la calidad y la inocuidad de los alimentos, al desarrollo económico y al medioambiente. Producir alimentos que no van a consumirse supone emisiones innecesarias de CO<sub>2</sub> además de pérdidas en el valor añadido de los alimentos producidos (Gustavsson et al., 2011).

El pescado es uno de los alimentos de mayor valor proteico consumido, con un contenido de grasas insaturadas muy beneficiosas, así como vitaminas, minerales, etc. (Betancourt, 2016). Constituye un tipo de comida muy perecedera, como resultado de la proliferación microbiológica y algunos procesos bioquímicos que se degrada muy rápido y en el que pueden abundar muchos tipos de gérmenes; es un medio rico en nutrientes, tiene mucha humedad y presenta un pH alto (Shi et al., 2012). Estas características, unidas a condiciones de tiempo y temperatura favorables, hacen que se altere de forma rápida, lo que origina sustancias que pueden resultar tóxicas para el ser humano (Betancourt, 2016).

Aunque la baja temperatura es capaz de frenar el crecimiento microbiano y la proliferación, reducir la actividad de la enzima, y alargar la vida útil. El deterioro

progresivo de la frescura de los productos pesqueros, sus estructuras, propiedades físicas, químicas y biológicas de las proteínas son inevitables, provocando algunos cambios durante el almacenamiento, lo que afecta el sabor, los valores nutricionales y comerciales (Cheng et al., 2013).

Debido a la perecibilidad y las variaciones de la composición del pescado durante el almacenamiento, parece ser un problema de procesamiento difícil de utilizar como materia prima básica. Los cambios de deterioro en el pescado comienzan en el punto de la muerte y se ven afectados por condiciones de pre-cosecha que agotan las reservas de energía, el cambio más dramático es el inicio y la resolución del rigor mortis.

El retraso en el inicio y la prolongación del tiempo en que el pescado está en rigor, conserva la calidad y extiende la vida útil (Alasalvar et al., 2011). Los esfuerzos recientes se centran en los cambios de calidad y en la predicción de la vida útil del pescado. Por lo tanto, el uso de modelos para predecir los cambios de calidad es de considerable interés (Shi et al., 2012).

En Cuba las especies que se cultivan son la carpa, la tilapia y la claria. La captura de la carpa representa alrededor del 65.63% del total de toneladas capturadas en los últimos siete años (ONEI, 2015; ONEI, 2016). Esta es la especie que más rápido se deteriora de acuerdo a las características de calidad por ser un pescado graso pero de vital importancia para la producción comercial con altos valores nutricionales, tasa de crecimiento rápido y alto rendimiento (Shi et al., 2012).

En el sistema logístico de aprovisionamiento a la industria pesquera en Cuba (desde la captura hasta la llegada a la Industria), está estipulado que se realice el análisis sensorial para determinar si el pescado está apto para el consumo humano o no. Este análisis sensorial presenta limitaciones por no permitir determinar la calidad del pescado y predecir la vida útil basado en el nivel de deterioro de los mismos, lo cual no permite la toma de decisiones oportunas sobre el orden de prioridad para la entrada al procesamiento industrial, que surtido realizar con el mayor valor agregado posible, y poder realizar análisis de la incidencia de violaciones en los procesos involucrados en la calidad del pescado.

Por todo lo anterior expuesto, se presenta como **situación problemática** de la investigación que:

- Las principales pérdidas en las características de la calidad de los productos derivados de la pesca acuícola, se presentan en el sistema logístico de aprovisionamiento;
- presentan diferentes comportamientos las características de calidad de las capturas según el embalse y los distintos puntos de pesca;
- el deterioro y la variación composicional del pescado durante la manipulación, almacenamiento y transportación influye negativamente en el destino final, como materia prima básica; y
- no existe un modelo predictivo de los cambios de calidad, de la carpa común, basado en el tiempo y la temperatura de almacenamiento en el contexto cubano.

En correspondencia con la situación problemática planteada se define como **problema de investigación**: las prácticas actuales para la evaluación de la calidad de la carpa común en la logística de aprovisionamiento, no permite la toma de decisiones oportunas, lo que provoca pérdidas post cosechas.

Para dar respuesta a lo antes expuesto se plantea como **hipótesis**: el desarrollo de un procedimiento para mejorar el aseguramiento de la calidad en la logística de aprovisionamiento de la industria pesquera acuícola, contribuirá a reducir las pérdidas post cosecha, manifiesto en la variabilidad de las características de la calidad del pescado.

Para comprobar la hipótesis se plantea como **variable independiente** un procedimiento para el aseguramiento de la calidad en la logística de aprovisionamiento y como **variable dependiente** las pérdidas post cosecha.

El **objetivo general** de la investigación es: determinar un modelo predictivo de calidad, para prever la durabilidad de la carpa común, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, para la toma de decisiones oportunas que permita reducir las pérdidas post cosecha.

El objetivo general se desglosa en los siguientes **objetivos específicos**:

1. Construir el marco teórico referencial a partir del análisis de las tendencias actuales relacionadas con la gestión de la calidad en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera, mediante el uso de modelos predictivos de calidad.
2. Proponer un procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad, que prevea la durabilidad de los productos pesqueros, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, para la toma de decisiones oportunas que permita reducir las pérdidas post cosecha.
3. Aplicar el procedimiento diseñado para prever la durabilidad de la carpa común.

Para lograr estos objetivos planteados, la presente investigación se constituyó por un capítulo uno donde se realiza una revisión bibliográfica, un capítulo dos donde se propone el procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad y un capítulo tres donde se aplica dicho modelo. Cuenta, además con conclusiones, recomendaciones, bibliografía y anexos complementarios.

En la investigación se utilizan un conjunto de técnicas, métodos y herramientas como: el análisis bibliográfico, encuestas, criterio de expertos, tormenta de ideas, método Delphi, el diagrama de causa-efecto, el diagrama de Pareto, el método del índice de calidad (QIM), el diseño de experimento, entre otras.

## Capítulo I. Marco teórico referencial

Proporcionar pescado y productos pesqueros con calidad, requiere métodos y técnicas fiables para la determinación y evaluación de la calidad de la frescura de los mismos, tomar decisiones oportunas que permitan reducir las pérdidas post cosecha y de esta forma lograr el aumento de la producción alimentaria (Cheng et al., 2013). Para estudiar los productos pesqueros a partir del análisis lógico-secuencial bibliográfico de la literatura científica que aborda el tema, se elaboró el marco teórico referencial para sustentar sobre bases teórico-prácticas la realización de esta investigación, estructurada como se muestra en la figura 1.1.

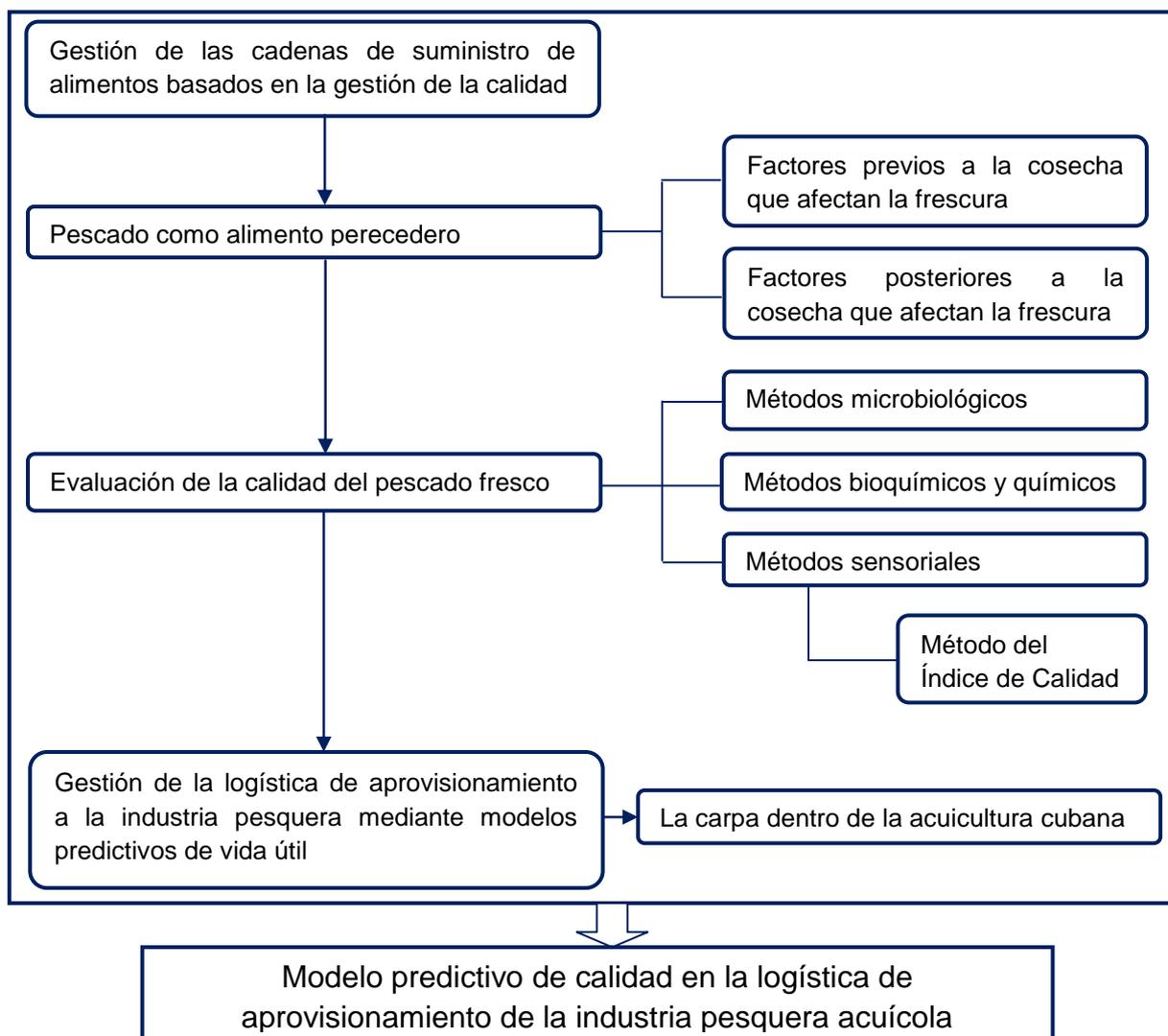


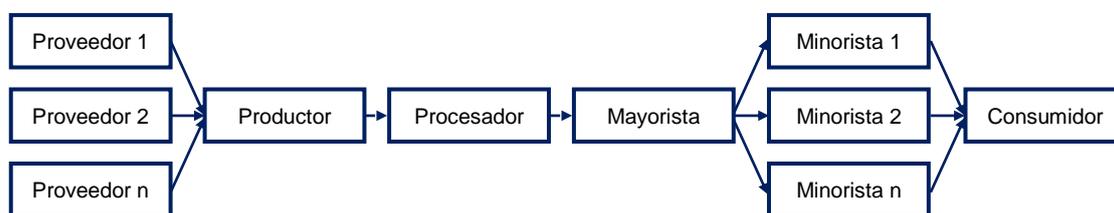
Figura 1.1. Hilo Conductor de la Investigación

### 1.1. Gestión de las cadenas de suministros de alimentos basados en la gestión de la calidad

Una cadena de suministro es una red de instalaciones y entidades de distribución (proveedores, fabricantes, distribuidores, minoristas), que desempeña la función de adquisición de materias primas, transformación de materias primas en productos intermedios y acabados y distribución de productos terminados a clientes (Binte Islam and Mamun Habib, 2013).

En particular, la gestión de la cadena de suministro (SCM, por sus siglas en inglés), es el conjunto de enfoques utilizados para integrar de forma eficiente proveedores, fabricantes, almacenes, de manera que la mercancía se produzca y distribuya en las cantidades adecuadas, en los lugares adecuados y en el momento adecuado, para minimizar los problemas en todo el sistema mientras satisface los requisitos de calidad al menor costo posible (Shukla and Jharkharia, 2013).

Por lo general, una cadena de suministro de alimentos tradicional consiste del proveedor, productor, procesador, mayorista, minorista y consumidor (Binte Islam and Mamun Habib, 2013); como se muestra en la figura 1.2.



**Figura 1.2. Cadena de suministro de alimentos**

La cadena de suministro de alimentos (FSC, por sus siglas en inglés), se diferencia de otras cadenas de suministro debido a la naturaleza perecedera de los productos, las altas fluctuaciones de la demanda y de los precios, la creciente preocupación de los consumidores por la seguridad alimentaria y la dependencia de las condiciones climáticas; es decir, el cambio continuo y significativo en la calidad de los alimentos perecederos en toda la cadena de suministro hasta los puntos de consumo final (Lemma et al., 2014).

Los alimentos perecederos son aquellos con probabilidad de estropearse, descomponerse o que se vuelven inseguros para el consumo (Betancourt, 2016). Según Aguilar Morales (2012), la vida útil de los alimentos se clasifican en:

1. Alimentos perecederos: se integran, en lo fundamental, por los productos que tienen una vida útil muy corta, lo cual produce que entren en un proceso de descomposición muy rápido. Los productos de primera necesidad que se venden frescos son los que están más expuestos. Algunos ejemplos de este tipo de alimentos son la leche, las carnes, los huevos, las frutas y las hortalizas. Desde la obtención hasta el consumo o procesado, pueden tener una vida útil (tiempo que dura el alimento con calidad aceptable) de horas o días a temperatura ambiente.
2. Alimentos semiperecederos: son aquellos que permanecen exentos de deterioro por mucho tiempo. Como las raíces o tubérculos, granos o cereales, ejemplo de ellos son las papas, las nueces, arroz, pasas, frutas secas.
3. Alimentos no perecederos: conservan su estructura, calidad y durabilidad, en buenas condiciones a temperatura ambiente, a menos que los invada una plaga. Ejemplo de ellos son las harinas, las pastas (cereales), frijoles secos (leguminosas) y el azúcar (miel). Por ser estos alimentos más estables, donde su vida útil puede ser de meses o años, debido en lo principal a su baja actividad de agua.

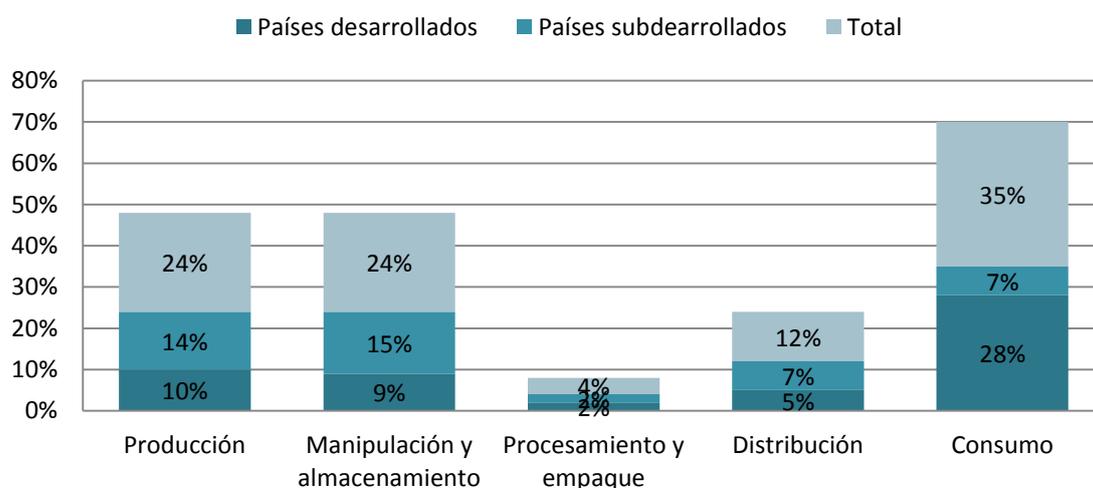
En los últimos años la seguridad alimentaria ha adquirido una gran importancia debido a la globalización y al libre comercio de los alimentos. Los consumidores se preocupan cada vez más por la calidad y la inocuidad de los alimentos perecederos como el pescado fresco (Xue et al., 2014).

Los alimentos perecederos tienen un tiempo de vida limitado que depende de las características del producto, de las condiciones de almacenamiento en las que se mantiene el producto y del tiempo, lo que ha dado lugar a una inmensa pérdida y desperdicio de alimentos. Los alimentos perecederos deben venderse a los consumidores dentro de la vida útil para garantizar la calidad y la seguridad, al tiempo que maximizan los beneficios (Xue et al., 2014).

"Pérdida y desperdicio de alimentos" se refiere a las partes comestibles de plantas y animales que se producen o cosechan para el consumo humano pero que no son consumidos en última instancia por las personas, aunque se utilicen como piensos o bioenergía (Lipinski et al., 2013).

La pérdida de alimentos se refiere a alimentos que se derraman, despojos, que incurren en una reducción anormal en la calidad, como los moretones o marchitez, o se pierden antes de llegar al consumidor; es el resultado no deseado de un proceso agrícola o limitación técnica en el almacenamiento, la infraestructura, el envasado o la comercialización. Desperdicio de alimentos se refiere a alimentos que son de buena calidad y aptos para el consumo humano, pero que no se consumen porque se descartan, ya sea antes o después de que se estropean. El desperdicio de alimentos es el resultado de una negligencia o de una decisión consciente de arrojar alimentos (Lipinski et al., 2013).

En los últimos años, las pérdidas de alimentos se convierte en el problema del mundo y las investigaciones indican que entre el 20% y el 60% de la producción total se pierde en la cadena de suministro de alimentos perecederos (Shukla and Jharkharia, 2013). En los países en desarrollo, las pérdidas a lo largo de toda la cadena de valor de los productos alimenticios se estiman en 30% a 50%, y de ellas alrededor del 60% de las pérdidas ocurren en el sistema logístico de aprovisionamiento, debido a los límites de la tecnología y la infraestructura, como se muestra en la figura 1.3 (Lipinski et al., 2013; Lemma et al., 2014). Además, incide la deficiente relación tiempo-temperatura en las prácticas de manipulación, almacenamiento y durante la transportación; lo que afecta, a su vez, la inocuidad, la seguridad y la calidad alimentaria.



**Figura 1.3. Pérdidas y desperdicios por etapas en la cadena de suministro de alimentos perecederos. Fuente: Lipinski et al. (2013)**

La definición de calidad especificada por Joseph Juran, "La calidad es la aptitud del uso", es decir, es el valor de los bienes y servicios tal y como lo perciben el proveedor, el productor y el cliente. La medida también se refiere al grado en que los productos y servicios se ajustan a las especificaciones, requisitos y normas a un precio aceptable (Sharma et al., 2012).

Según la NC ISO 9000: 2015, la calidad de los productos y servicios está determinada por la capacidad para satisfacer a los clientes, y por el impacto previsto y el no previsto sobre las partes interesadas pertinentes. La calidad de los productos y servicios incluye no solo su función y desempeño previstos, sino también su valor percibido y el beneficio para el cliente (Ginebra, 2015).

Por lo tanto, la gestión de la calidad en la cadena de suministro de alimentos perecederos puede definirse como la conformidad con los requisitos; es decir, la coordinación formal y la integración de los procesos de negocio que implican a todas las organizaciones asociadas en el canal de suministro para medir, analizar y mejorar de forma continua los productos, servicios y procesos para crear valor y lograr la satisfacción de los clientes intermedios y finales en el mercado (Sharma et al., 2012).

Hay un aumento en la demanda de alimentos perecederos en el mundo, por lo que la disminución de las pérdidas y desperdicios durante toda la cadena de suministro de alimentos perecederos es una forma de satisfacer la necesidad sin agotar el medio de cultivo. Las principales causas operativas de desperdicios son las ineficiencias en la producción, el almacenamiento, la manipulación y el transporte (Lemma et al., 2014).

Por lo tanto, la manipulación, conservación, almacenamiento, medidas posteriores a la cosecha y el transporte de los alimentos perecederos requieren una atención especial con el fin de mantener la calidad y atributos nutricionales y evitar el desperdicio y las pérdidas (FAO, 2016).

En particular, un manejo cuidadoso de los alimentos perecederos y su almacenamiento higiénico bajo temperaturas controladas se encuentran entre los pasos más importantes para garantizar un alto nivel de frescura, calidad en toda la cadena de suministro de alimentos perecederos, hasta el cliente final (Castillo Jiménez, 2015).

El transporte proporciona la base para la vinculación de las actividades económicas de una cadena de suministro sostenible. Sin transporte los productos no pueden ser enviados a las diferentes etapas de la cadena de suministro. En la cadena de suministro de alimentos de productos perecederos, el transporte es una función crítica y puede afectar a la calidad del producto. Por lo tanto, optimizar el transporte en la cadena de suministro de alimentos perecederos es fundamental para mantener y garantizar la alimentación (Lemma et al., 2014).

Este trabajo considera la captura, la manipulación y el transporte como las principales cuestiones debido a las altas pérdidas en estas etapas de la cadena de suministro de alimentos perecederos. Las investigaciones indican que hay una atención limitada dado para minimizar las pérdidas de alimentos debido a que existe una enorme brecha sobre los aspectos de calidad, la mayor parte de las investigaciones y estudios realizados sobre los aspectos de calidad de la cadena de suministro de alimentos perecederos se han centrado en la gestión de calidad de los productos dentro de la misma (Lemma et al., 2014). La gestión de la cadena de suministro de alimentos perecederos es la zona de enfoque clave en el actual escenario de mercado competitivo global. Para sobrevivir, la organización tiene que tener definidos los requisitos de calidad y con ellos fortalecer la cadena de suministro de alimentos perecederos (Castillo Jiménez, 2015).

Debido a que la gestión de los alimentos perecederos está lejos de ser satisfactoria, esta es una oportunidad para considerar que tanto la gestión de la calidad de alimentos perecederos dentro de la cadena de suministro como la propia gestión de la calidad en la cadena de suministro de alimentos perecederos constituyen aspectos claves para lograr un mejor rendimiento y disminuir las pérdidas post cosecha (Xue et al., 2014).

## **1.2. Pescado como alimento perecedero**

La tendencia nutricional en la última década propone una alimentación saludable, con abundante fibra y baja ingesta de grasas y productos que no aumenten el colesterol. Es así que dentro de esta inminente necesidad, el pescado, es uno de los productos que cumple y/o satisface los requerimientos buscados por el consumidor moderno (Cabellos García, 2015).

El pescado es uno de los alimentos de origen animal más completos, por la cantidad y calidad de nutrientes que aporta al organismo humano, indispensable para una dieta equilibrada y saludable (Cabellos García, 2015). Es por ello que desde hace mucho tiempo, se le otorga gran importancia al consumo de pescado, debido principalmente a su aporte valioso en proteínas de alto valor biológico (15 al 24%), al contener aminoácidos esenciales para la vida, como metionina, cisteína, treonina, lisina (imprescindible para el crecimiento de los niños) y triptófano (imprescindible para la formación de la sangre) (Cabellos García, 2015).

Así como a su rico contenido (0,1%-15%) en ácidos grasos poliinsaturados omega 3, ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA). Además de esto, destacan sus cantidades variables de vitaminas hidrosolubles, como B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>; y liposolubles como la E. Así como la buena fuente de minerales que son, ya que aportan potasio, fierro, calcio (espinas); y en menores proporciones yodo, magnesio, fósforo y zinc. Para consolidarse así, como un alimento cuyo beneficio para la salud del consumidor cada vez es más patente (Cabellos García, 2015).

Por otro lado, el pescado es uno de los productos más frágiles y perecederos que existen. Esto debido a su gran contenido en determinados constituyentes como el agua, con una media de 77,2%, aminoácidos libres, lípidos con alto grado de insaturación, compuestos nitrogenados no proteicos, enzimas autolíticas, etc.; que facilitan la puesta en marcha de una serie de vías de alteración, bien mediante alteraciones de origen endógeno, debido a la actividad de enzimas lipasas que actúan sobre las grasas, o bien por alteraciones de origen exógeno donde participan activamente las bacterias efectuando procesos de degradación de aminoácidos y óxidos de aminas (Cabellos García, 2015).

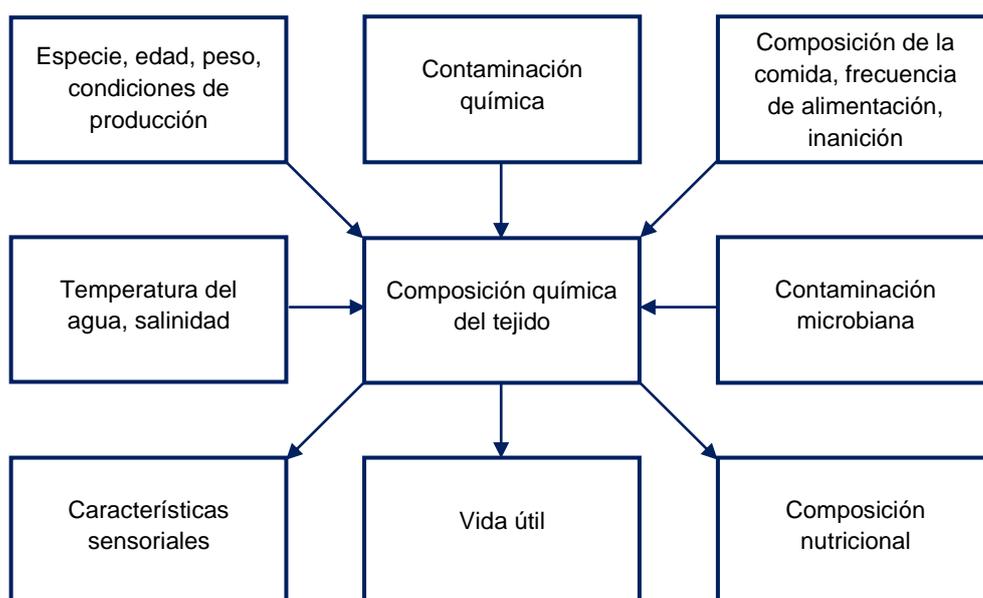
Así también Alasalvar et al., (2011), manifiestan con respecto a esto, que el deficiente contenido de hidratos de carbono, en el pescado dificultan su conservación, ya que las bacterias lácticas que inhiben la proliferación de gérmenes patógenos no tienen sustrato nutritivo para desarrollarse. Además de ello, es importante mencionar la pequeña proporción de tejido conectivo que se encuentra presente en el músculo del pescado, que los hace más susceptibles

al ataque microbiano en el momento de abandonar su hábitat natural (Cabellos García, 2015).

El manejo de los productos pesqueros tiene sus particularidades y requiere de cierta experiencia, ya que son productos delicados; por ello es fundamental hacer hincapié en el cumplimiento de las normas generales establecidas en cuanto a indumentaria, conducta, salud e higiene personal y en la elaboración (ANMAT, 2007).

### 1.2.1. Factores previos a la cosecha que afectan la frescura

Los factores pre cosecha que afectan la frescura y la calidad de los peces se determinan, en un principio, por la especie, la edad, el tamaño y las condiciones de producción, por el impacto de la temperatura del agua y la salinidad en el pescado, por la contaminación química y microbiana del medio de cultivo; esto a su vez trae consigo el deterioro de las características sensoriales y la reducción de la vida útil (figura 1.4).



**Figura 1.4. Factores pre cosecha que afectan la frescura de los peces y la calidad alimentaria. Fuente: Alasalvar et al. (2011)**

### 1.2.2. Factores posteriores a la cosecha que afectan a la frescura

Las pérdidas referidas al manejo post cosecha son las que tienen su origen en los cambios en el músculo del pescado, en los derrames y el deterioro que se producen durante el enhielado, envasado, almacenamiento y transporte tras la descarga (Betancourt, 2016).

El cambio más dramático es el ataque del rigor mortis. Después de la muerte el músculo del pescado está relajado, la textura flexible y elástica que persiste durante algunas horas y luego el músculo se contrae. Cuando se torna duro y rígido y todo el cuerpo se vuelve inflexible se dice que el pescado está en rigor mortis. Esta condición se mantiene, casi siempre, durante uno o más días y luego se resuelve el rigor. La resolución del rigor mortis hace que el músculo se relaje otra vez y recupere la flexibilidad, pero no la elasticidad previa al rigor. La proporción entre el comienzo y la resolución del rigor varía según la especie y es afectada por la temperatura, la manipulación, el tamaño y las condiciones físicas del pescado (Huss, 1988).

La calidad óptima del pescado fresco en hielo ocurre alrededor de dos días después de la resolución del rigor y está relacionada con la acumulación temporal de inosinamonofosfato (IMP) en los tejidos musculares. El retraso en el inicio y la prolongación del tiempo en que el músculo está en rigor, conserva la calidad y extiende la vida útil (Alasalvar et al., 2011).

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) ha estimado que las pérdidas post-cosecha (debido al deterioro) continúan siendo, el 25% de las capturas totales, por lo tanto, la mejor utilización de los recursos acuáticos debe ser dirigida, sobre todo, a la reducción de estas enormes pérdidas, la preservación del pescado y de los productos pesqueros y el mejoramiento de la calidad en los procesos logísticos de aprovisionamiento (Betancourt, 2016).

Se conoce que tanto la actividad enzimática como la microbiana, responsables por el deterioro de la mayoría de los productos pesqueros frescos, están muy influenciadas por la temperatura. El tiempo hasta que el pescado es colocado en el medio de enfriamiento, debe ser lo más corto posible, por lo tanto, cuanto más rápido se enfríe el pescado con hielo, tanto mejor, para proporcionar un flujo continuo en la manipulación, a fin de evitar cualquier acumulación de pescado no enfriado, para mantener de este modo la importante fase tiempo-temperatura bajo completo control (Huss, 1988); donde juega también un papel determinante la transportación de la materia prima hacia la industria y la conservación de la cadena de frío (Betancourt, 2016).

La duración en almacén de los productos pesqueros se extiende cuando los productos son almacenados a bajas temperaturas. Se ha puesto mucho énfasis en la manipulación higiénica del pescado desde el momento de la captura, a fin de asegurar una buena calidad y una larga duración en almacén. La duración en almacén de algunos pescados puede ser extendida mediante su almacenamiento a temperaturas por debajo de cero (Huss, 1988).

El siguiente problema identificado es el manejo deficiente de los procedimientos de manipulación higiénicos del pescado, esto es, almacenado en hielo dentro de cajas plásticas sucias y viejas (manipulación normal), lo que propicia el aumento del nivel de contaminación bacteriana. Parece sensato abogar por procedimientos de manipulación higiénicos, esto incluye el uso de cajas limpias para el pescado (Huss, 1988).

El pescado fresco es un punto central en la utilización del pescado como alimento. Primero: constituye en sí mismo el ítem más importante en los mercados de pescado locales e internacionales. Segundo: porque no es posible obtener un producto de pescado seguro y de calidad, a menos que se emplee pescado fresco como principal materia prima. La FAO entiende que estos son los conceptos básicos en los cuales es necesario insistir, a fin de proveer los mercados de pescado con pescado seguro y productos pesqueros de mejor calidad, y contribuir a la reducción de las pérdidas post cosecha (Huss, 1988).

### **1.3. Evaluación de la calidad del pescado fresco. Uso de modelos predictivos**

Por lo general, el término "calidad" se refiere a la apariencia estética y frescura, o al grado de deterioro que ha sufrido el pescado. También puede involucrar aspectos de seguridad como: ausencia de bacterias peligrosas, parásitos o compuestos químicos. Es importante recordar que "calidad" implica algo diferente para cada persona y es un término que debe ser definido en asociación con un único tipo de producto.

Los métodos para la evaluación de la calidad del pescado fresco pueden ser divididos en dos categorías: sensorial e instrumental. Dado que el consumidor es el último juez de la calidad, la mayoría de los métodos químicos o instrumentales deben ser correlacionados con la evaluación sensorial antes de

ser empleados en el laboratorio. Sin embargo, los métodos sensoriales deben ser realizados por expertos; bajo condiciones controladas para que los efectos del ambiente y los prejuicios personales puedan ser reducidos (Huss, 1988)

### **1.3.1. Métodos microbiológicos**

La finalidad del análisis microbiológico de los productos pesqueros es evaluar la posible presencia de bacterias u organismos de importancia para la salud pública, y proporcionar una impresión sobre la calidad higiénica del pescado, tanto por el abuso de la temperatura e higiene durante la manipulación y el procesamiento. Para desarrollar un modelo satisfactorio, es necesario establecer una comprensión completa de la naturaleza de la flor bacteriana y de su variación. La contaminación bacteriana del tracto intestinal, la piel y las branquias ocurren después de la muerte y el microflor que domina depende del hábitat natural (agua circundante, temperatura, hábitos alimenticios, etc.), condiciones de almacenamiento y otras posibles rutas de contaminación después de la captura (Alasalvar et al., 2011).

Varios métodos se utilizan para evaluar la frescura de diferentes tipos de productos pesqueros, como indicadores tradicionales y útiles se encuentran el conteo de colonias a 30°C por la técnica de placa vertida y el método horizontal para la detección y enumeración de coliformes, coliformes termotolerantes y escherichia coli presuntiva, por la técnica del número más probable (NMP). En general, los resultados microbiológicos no proporcionan ninguna información sobre la calidad comestible del pescado. Estos indicadores son útiles para la detección precisa del grado de frescura y para predecir la vida útil restante de los peces (Cheng et al., 2013).

Los análisis bacteriológicos tradicionales son laboriosos, costosos, consumen tiempo y requieren de personal capacitado en la ejecución e interpretación de los resultados. Es recomendable que este tipo de análisis sea limitado en número y en extensión. Durante la última década han sido desarrollados varios métodos microbiológicos rápidos y procedimientos automatizados, que pueden ser empleados cuando se debe analizar un gran número de muestras (Huss, 1988).

### **1.3.2. Métodos bioquímicos y químicos**

Las mediciones químicas asociadas con los cambios en la composición química del pescado son un método importante e indispensable para determinar y evaluar la frescura de los mismos (Cheng et al., 2013). El atractivo de los métodos bioquímicos y químicos, en la evaluación de la calidad de los productos pesqueros, está relacionado con la capacidad para establecer estándares cuantitativos. El establecimiento de niveles de tolerancia, a través de indicadores químicos de deterioro, eliminaría la necesidad de sustentar en opiniones personales las decisiones relacionadas con la calidad del producto. Por supuesto, en la mayoría de los casos los métodos sensoriales son de mucha utilidad para identificar productos de muy buena o de baja calidad. De esta forma, los métodos bioquímicos/químicos pueden ser usados para resolver temas relacionados con la calidad marginal del producto. Además, los indicadores bioquímicos/químicos han sido usados para reemplazar los métodos microbiológicos que consumen gran cantidad de tiempo. Estos métodos objetivos deben, sin embargo, mostrar correlación con las evaluaciones sensoriales de la calidad y, además, el compuesto químico a ser medido debe incrementar o disminuir de acuerdo al nivel de deterioro microbiológico o de autólisis. También es importante que el compuesto a medir no pueda ser afectado por el procesamiento (Huss, 1988).

Las mediciones químicas asociadas en lo principal con los cambios en la composición química de los peces, son un método importante e indispensable para determinar y evaluar la frescura de estos. Y las mediciones químicas, por lo general, se refieren a la medición de la humedad, las mediciones de compuestos volátiles, los cambios de proteínas, la oxidación de lípidos, la descomposición de ATP y la medición del valor de K (Cheng et al., 2013).

#### ***Medición de la humedad***

El contenido de humedad es muy importante para la calidad de la frescura de los peces, ya que puede afectar la textura y el músculo de los mismos, por lo que se han desarrollado algunas técnicas no destructivas de determinación rápida (Cheng et al., 2013).

### ***Mediciones de compuestos volátiles***

Los efectos de la actividad microbiana y las descomposiciones enzimáticas endógenas pueden crear algunos compuestos volátiles relacionados con nitrógeno, amina, amoníaco, alcoholes, compuestos que contienen azufre y otros. Por lo tanto, el monitoreo y la determinación de la etapa de frescura o deterioro de los peces pueden basarse en las valiosas medidas de los compuestos volátiles. Entre ellos, el olor es una de las características más significativas de compuestos volátiles, que pueden ser utilizados para evaluar la frescura del pescado. Los compuestos volátiles que contribuyen al olor del pescado pueden dividirse en tres grupos según el origen de los compuestos volátiles durante el almacenamiento. El primer grupo es el olor a pescado fresco relacionado con alcoholes C6-C9 y compuestos de carbonilo; el segundo grupo es el olor de deterioro microbiano, que desempeña un papel fundamental en la evaluación de la frescura, y está muy relacionado con el amoníaco, la trimetilamina (TMA), el sulfuro de hidrógeno y el metilmercaptano; y el último grupo es el olor de oxidación de lípidos más relacionado con hexaldehído de 2, 4, 7-decatrienal (Cheng et al., 2013).

Por otro lado, muchas industrias han practicado el nitrógeno básico volátil total (TVB-N) y / o TMA como indicadores para la determinación de la frescura del pescado. TMA es un olor maloliente importante del segundo grupo, que puede indicar el grado de deterioro del pescado (Cheng et al., 2013).

### ***Cambios en las proteínas en el almacenamiento post mortem***

Las proteínas son un componente básico, vital y nutricional de la carne de pescado, que representa por aproximación del 15-20% de los peces. Las proteínas de la carne de pescado comprenden agua, proteína sarcoplasma soluble, la proteína soluble miofibrilla, sal y proteína de la matriz insoluble. Sin embargo, las proteínas son susceptibles de ser descompuestas por manipulación y procesamiento poco sanos, y por microorganismos y actividades enzimáticas. Por lo tanto, los peces después del sacrificio se almacenan a baja temperatura o en hielo para mantener la frescura (Cheng et al., 2013).

### ***Monitoreo de la oxidación de lípidos***

Se sabe que el pescado es rico en ácidos grasos insaturados y bajo en ácidos grasos saturados. Los ácidos grasos insaturados incluyen ácido tetradeceno, ácido palmitoleico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. Dado que estos ácidos grasos en los peces pueden ser con facilidad oxidados por la luz y la alta temperatura, y de forma gradual se descomponen en las sustancias de bajo peso molecular como aldehídos, cetonas y grupos ácido carboxílico, que resulta en alteraciones del color, olor, textura y valores nutricionales de los peces, la oxidación de lípidos se puede utilizar para indicar la frescura del pescado. La oxidación de los lípidos es la principal reacción de oxidación en relación con la actividad de la lipasa, las especies de peces y las condiciones de almacenamiento y el valor del ácido tiobarbitúrico (TBA) se considera un indicador útil para predecir el grado de oxidación lipídica y evaluar la frescura de los peces (Cheng et al., 2013).

### ***Descomposición ATP e indicador de valor K***

Después de la muerte, la carne de pescado experimenta cambios post mortem debido a un cierto número de reacciones bioquímicas y fisicoquímicas que se producen en la complicada estructura y composición de los músculos de los peces. Por lo tanto, es de gran importancia comprender los cambios de los músculos de los peces después de la muerte a fin de mantener la frescura (Cheng et al., 2013).

En este proceso, la descomposición del ATP es predominante, sobre la base de la descomposición de ATP, Ehira y Uchiyama (1987) introdujeron un valor de K como un indicador de calidad de la frescura del pescado que se define como la relación (%) de la cantidad total de inosina e hipoxantina a la de los compuestos relacionados con el ATP, por un lado, el valor de K como un indicador útil ha sido bien utilizado para evaluar la frescura del pescado, y un valor más alto K indica una mayor tasa de descomposición ATP (Cheng et al., 2013).

### **1.3.3. Métodos sensoriales**

La evaluación sensorial es una disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las características de los alimentos según la percepción

de los sentidos de la vista, el olfato, el gusto, el tacto y la audición relacionado con el color, el olor y la textura de los alimentos (Cheng et al., 2013).

Sobre la base de estos estudios, es evidente que la evaluación sensorial es uno de los métodos más significativos para evaluar la frescura en el sector pesquero y los servicios de inspección del pescado. Este método realizado en una medición proximal de atributos percibidos, es una herramienta fiable capaz de proporcionar información única de la frescura de los peces y productos pesqueros (Cheng et al., 2013). La mayoría de las características sensoriales sólo pueden ser medidas de forma significativa por humanos. Sin embargo, se han efectuado avances en el desarrollo de instrumentos que pueden medir cambios individuales de la calidad (Huss, 1988) (Ver anexos 1 y 7).

### ***Escala de Torry***

La escala de Torry es una escala de 10 puntos desarrollada en un principio para evaluar las cualidades alimenticias de las muestras de pescado cocidas. Las puntuaciones se dan a partir de 10 (muy fresco en sabor y olor) a 3 (mimado). Los puntajes inferiores a 3 se consideran innecesarios, ya que el pescado no es adecuado para el consumo humano. La puntuación media de 5.5 puede utilizarse como límite para el consumo. La escala de Torry se ha desarrollado para las especies de pescados magras, medias y grasas. Los atributos de deterioro pueden observarse tanto en el crudo como en el pescado cocido y los sistemas de puntuación apropiados están disponibles para ambas formas (Alasalvar et al., 2011).

### ***Régimen de la Unión Europea (UE)***

El esquema de la UE identifica tres niveles de calidad: E (Extra) es la calidad más alta, A es de calidad aceptable, y B es el nivel más allá del cual no se admite el pescado para el consumo humano. El sistema de la UE es criticado por sus limitaciones en el hecho de que no tiene en cuenta las diferencias entre especies (utiliza sólo parámetros generales) y mezcla tanto los métodos sensoriales subjetivos como objetivos en el esquema de evaluación (Alasalvar et al., 2011).

### ***Método del Índice de Calidad***

La necesidad de técnicas analíticas rápidas para medir la calidad y frescura de los alimentos, es mayor que siempre. Muchos métodos han sido probados, pero la evaluación sensorial es aún considerada como la técnica más efectiva para asegurar la frescura del pescado y el deterioro de la calidad. Los Institutos Europeos de investigación pesquera, en estrecha cooperación con la industria de alimentos pesqueros, desarrollaron una nueva herramienta, por la cual la valoración sensorial es presentada de manera sistemática y segura, con un método objetivo de evaluación de la calidad, llamada Método del Índice de Calidad (QIM, por sus siglas en inglés). Basado sobre un método de escala estructurada, el QIM es sugerido como una herramienta práctica y objetiva para la evaluación del pescado fresco en el manejo de la producción, en la inspección oficial de los productos pesqueros así como en cualquier otra parte de la cadena (Bernardi et al., 2013b).

El QIM surgió de la necesidad, ya que no existían métodos satisfactorios que pudieran ser usados en una amplia variedad de especies, que no requirieran entrenamiento extenso, fácil de entender y con la capacidad de integración de los efectos del tiempo y la temperatura. El QIM toma información específica de cada especie o producto, evaluando la calidad y frescura del pescado, por análisis sensorial de una serie de atributos considerados relevantes y su consiguiente estimación de la vida útil remanente de un lote (Bernardi et al., 2013b).

El esquema QIM no toma en cuenta la diferencia entre especies; no mide la calidad intrínseca, o la frescura sino más bien el grado o tipo de cambio en criterios importantes usados para describir esas cualidades (Bernardi et al., 2013b).

El QIM utiliza un sistema práctico de evaluación en el cual el pescado es inspeccionado y los puntos de deméritos son registrados. Esta aproximación fue derivada del entendimiento, que durante el almacenamiento del pescado, ocurren cambios que son detectados de forma muy rápida y a menudo medibles. Esto está también en consonancia con el hecho que la mayoría de los test químicos, bioquímicos y microbiológicos utilizados en productos pesqueros, comienzan desde cero o un bajo valor y van incrementándose con

la temperatura y el tiempo de almacenamiento. El uso de un sistema de escalas, establece datos firmes y refleja los distintos niveles de calidad del pescado, de una manera simple y bien documentada.

El QIM está basado sobre parámetros de calidad sensorial significativos, usando las características bien definidas de atributos de apariencia externa para pescado crudo y un sistema de puntuación por deméritos que va de 0 a 3. La técnica descrita se basa en seleccionar un número de atributos de calidad característicos para una especie particular y adjudicar el resultado para cada atributo en dependencia del estado de frescura o calidad del ítem seleccionado para ese alimento (Bernardi et al., 2013b).

Los atributos que se deben evaluar durante la aplicación o desarrollo del esquema QIM son la piel, ojos, branquias, y textura. El olor de las branquias y para algunas especies, el olor de la mucosidad de la piel, también son evaluados (Bernardi et al., 2013b).

Con el uso del sistema QIM, la relación linear entre el Índice de Calidad y el tiempo de almacenamiento en hielo, hace fácil calcular la vida útil remanente del pescado (Bernardi et al., 2013b).

Debido a que todos los pescados tienen su propio y distintivo patrón de deterioro y atributos sensoriales, los esquemas QIM son desarrollados para cada especie individual. El puntaje puede ser utilizado para juzgar los procedimientos de manipulación y almacenamiento, eficiencia del personal, duración del transporte, siendo útil para detectar problemas. El QIM puede también medir la influencia del transporte y el almacenamiento sobre la calidad sensorial y la vida útil remanente, cuando el pescado es almacenado en hielo (Bernardi et al., 2013b).

Esquemas específicos sobre el QIM para combinaciones variables de especies de peces, medio ambiente acuático (relacionado con contaminación bacteriana específica) y tecnología del envasado, necesitan ser desarrollados. Los métodos sensoriales objetivos y estandarizados, pueden dar información más confiable y accesible sobre la calidad del pescado y pueden facilitar y resaltar la calidad y el proceso de manejo en la industria pesquera (Bernardi et al., 2013b).

#### **1.4. Gestión de la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera mediante modelos predictivos de vida útil**

El enfoque tradicional de aprovisionamiento puede caracterizarse por una relación entre proveedor y cliente, marcada por una fuerte competencia entre ambas partes. Esta confrontación es estimulada por la tendencia de aprovisionamientos hacia la reducción de los precios a corto plazo y se pone en práctica por las políticas de negociación, donde calidad, plazo de entrega y especificaciones de diseño, actúan como restricciones impuestas por el usuario y se transmiten al proveedor con el filtro de la negociación entre comprador y vendedor que actúan como meros intermediarios. Puede decirse que aprovisionar es una función destinada a poner a disposición de la industria todos los productos, bienes y servicios del exterior que son necesarios para su funcionamiento (Torres Gemeil et al., 2007).

El objetivo de la función del aprovisionamiento no es más que contribuir a los objetivos comunes de la empresa mediante la adquisición de mercancías de calidad, en las mejores condiciones y al menor precio posible, de ello depende la satisfacción de las necesidades, los gustos y las preferencias de los clientes (Torres Gemeil et al., 2007).

Para la industria pesquera acuícola, conocer el recorrido del pescado desde su extracción hasta la recepción resulta de vital importancia, pues es en este camino donde el pescado presenta las mayores pérdidas post cosecha al pasar por la actividad logística de aprovisionamiento. De manera que podría decirse, que el sistema logístico de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola está compuesto, en lo principal, por cuatro actividades, ellas son la captura, la manipulación, el transporte y la recepción (Ver anexo 2).

En Cuba, para la industria pesquera gestionar la actividad de aprovisionamiento, representa un elemento clave que permite elevar la competitividad empresarial a través del funcionamiento óptimo de la cadena de suministro de alimentos perecederos en el sector acuícola, el aseguramiento de las características de la calidad de la materia prima y de la satisfacción de las necesidades de los clientes mediante la oferta en el mercado de productos inocuos (Betancourt, 2016).

En este sector, la trazabilidad de los productos pesqueros debe considerarse en la cadena de suministro de alimentos perecederos global y no en un factor individual de la cadena. Por tanto se considera necesario la intervención y colaboración entre todos los agentes de la cadena. Con el ánimo de conseguir la máxima eficiencia se debe facilitar la identificación de los datos de los procesos de captura, registro y transmisión de la información necesaria (Betancourt, 2016).

Así, la trazabilidad, es un sistema que permite seguir la ruta de un producto, sus componentes, materias primas e información asociada, desde el origen hasta el punto de destino final o viceversa, a través de toda la cadena de aprovisionamiento (Torres Gemeil et al., 2007). Además, obliga a ordenar los procesos productivos en el interior de la empresa, lo que conduce a mejorar la calidad de los productos, aumentar la productividad, la toma de decisiones oportunas y la reducción de las pérdidas post cosechas (Betancourt, 2016) y con ello, disminuir los costos, es decir, apunta a rentabilizar el negocio, mejorar la imagen y valor de la marca lo que permite diferenciarse de la competencia; además de que facilita la entrega de una respuesta rápida en caso de reclamos de los consumidores y proporciona información exacta acerca de en qué etapa de la cadena de suministro de alimentos perecederos se produjo el problema (Torres Gemeil et al., 2007).

Es por ello que se presenta la necesidad en la industria pesquera acuícola de emplear el Método Índice de Calidad como un modelo predictivo para prever la durabilidad del pescado. Esto hace que sea posible, a través del análisis sensorial, identificar el pescado que presenta características atípicas o los que parecen se han deteriorado más rápido que lo esperado; cuales pueden ser relacionados con malas prácticas tales como el deterioro por la alta temperatura, inadecuada cantidad de hielo, etc. El resultado obtenido, puede ser usado como un índice de qué material puede ser adecuado para un determinado fin y uso, y así verificar su exactitud a lo largo de toda la cadena de suministro de alimentos perecederos. Por lo tanto, la trazabilidad se aplica como una herramienta para ayudar en la garantía de seguridad y calidad de los alimentos perecederos, disminuir las pérdidas post cosecha, así como para lograr la confianza del consumidor.

#### **1.4.1. La carpa dentro de la acuicultura cubana**

El pescado se ha convertido cada vez más importante en las dietas de las personas y desde el punto de vista de la seguridad alimentaria. Se considera que existe seguridad alimentaria cuando todas las personas, en todo momento, tienen acceso físico y económico a alimentos suficientes, seguros y nutritivos; lo que les permite reunir sus necesidades dietéticas y preferencias alimentarias para una vida activa y saludable (De Silva, 2000).

La contribución de la acuicultura al suministro mundial de productos acuáticos ha ido en aumento en los últimos 10 años, en comparación con la captura. La causa principal del surgimiento del sector ha sido la transformación de la acuicultura de una forma "artística" a una "ciencia". Esto trajo muchas ventajas, que van desde una menor dependencia de las poblaciones silvestres hasta el desarrollo de técnicas que optimizaron los rendimientos, como el policultivo, o permitieron obtener altos rendimientos con bajos insumos (De Silva, 2000).

La acuicultura es una actividad muy diversa que involucra la cultura de invertebrados a reptiles, y se realiza en todo tipo de ambientes acuáticos diferentes. Es cierto que esta diversidad tiene sus pros y sus contras. El lado positivo es el hecho de que la diversidad del sector no sólo permite adaptarse a las demandas de los consumidores, sino también responder a las cambiantes aspiraciones de la sociedad. En el lado negativo, se pueden identificar los esfuerzos que se requieren en la investigación, el desarrollo y la comercialización, que deben dedicarse a cada producto para que su potencial sea viable desde el punto de vista técnico y económico (De Silva, 2000).

Es evidente que los peces representan el grueso de la producción acuícola (en volumen), debido a que aportan alrededor del 50 por ciento del total (De Silva, 2000). Casi toda la piscicultura se realiza en agua dulce, con sólo cantidades nominales atribuidas al cultivo de agua salobre. La acuicultura es por lo general percibida como una actividad favorable y rentable (Hernández Rodríguez et al., 2000).

La acuicultura cubana se basa en el desarrollo del cultivo de especies exóticas de peces dulces acuícolas, entre las que se encuentran las carpas chinas, tilapias y clarias. Las carpas chinas fueron introducidas y aclimatadas en las décadas del 60-70 del siglo pasado, como respuesta a las necesidades acuícolas del país.

Las carpas son los peces más cultivados en el mundo, aportando 24.19% a la producción total acuícola, dentro del orden cipriniforme y como una de las especies más cultivadas por la industria pesquera cubana se destacan las carpas chinas. Esta se encuentra en las aguas someras, tranquilas, con hábito omnívoro, ocupa en gran mayoría el fondo en los acuatorios. El cuerpo es robusto, alto, comprimido, la cabeza en forma triangular con boca terminal, protractil con cuatro barbillas. La coloración del cuerpo varía con las especies. Crece rápido y alcanza de 10 -15 Kg. Difiere del resto de los Ciprínidos en el comportamiento de la reproducción que es de forma natural, aunque responde al método artificial, tiene una fecundidad entre 80-100 huevos/g. Es una especie importante para la producción comercial con altos valores nutricionales, tasa de crecimiento rápido y alto rendimiento.

La acuicultura cubana, tiene como objetivo principal la alimentación de la población y contar con reservas vivas de alimento. Hoy estas carpas constituyen el mayor volumen de materia prima en el procesamiento industrial de productos pesqueros destinados a la población, su captura representa cerca del 65.63% del total de toneladas capturadas en los últimos 8 años. El estado actual de la producción acuícola cubana se basa, en su mayoría, en el cultivo de las carpas chinas en sistema extensivo.

El mayor porcentaje de pescado se obtiene del cultivo extensivo (92%), representado por las carpas chinas que son utilizadas como materia prima en el proceso tecnológico para la elaboración de diferentes productos pesqueros (croquetas, embutidos, picadillo, etc.)

El cultivo de estas especies está generalizado en las estaciones de alevinaje del país, se realiza en policultivo en presas y micropresas por presentar diferentes hábitos alimentarios que les permite aprovechar organismos de los distintos niveles tróficos. Esto repercute de forma positiva en los acuatorios al tiempo que aumenta la productividad y las capturas.

Las carpas chinas representan para la acuicultura cubana un renglón fundamental, que han permitido la siembra de alevines en los diferentes cuerpos de agua de la isla. La producción acuícola desempeña una función cada vez mayor en el suministro de pescado para el consumo humano (Millares Dorado and Damas Pérez, 2013).

La proyección de la acuicultura en el desarrollo pesquero del país marcha hacia el incremento de las producciones, la disminución de las pérdidas post cosecha y la optimización de los cultivos extensivos, trabajar los cultivos semi-intensivos y potenciar los cultivos integrados en las entidades agrícolas y pecuarias, lograr un mejor aprovechamiento de los recursos naturales existentes y los subproductos de la industria pesquera cubana y de esta forma garantizar la seguridad alimentaria con la proteína necesaria para la población y sustituir las producciones de pescado importadas.

### **1.5. Conclusiones del capítulo**

Después de haber concluido el marco teórico referencial de la investigación se llegó a las siguientes conclusiones:

1. La gestión de la calidad en la cadena de suministro es la zona de enfoque clave para medir, analizar y mejorar los productos, servicios y procesos para crear valor, disminuir las pérdidas post cosecha y de esta forma aumentar la producción alimentaria sin explotar el medio de cultivo.
2. El pescado es uno de los productos más frágiles y perecederos que existen, por lo que provoca inmensas pérdidas y desperdicios cuando se incurre en errores en la manipulación, conservación, almacenamiento y el transporte, por lo cual requiere una atención especial con el fin de mantener la calidad y atributos nutricionales.
3. La evaluación de la calidad del pescado a través del uso de modelos predictivos permite determinar la seguridad y calidad del pescado, predecir la vida útil y la toma de decisiones oportunas sobre el orden de prioridad para la entrada al procesamiento industrial.
4. El estado actual de la producción acuícola cubana se basa, en su mayoría, en el cultivo de las carpas chinas en sistema extensivo, siendo utilizadas como materia prima en el proceso tecnológico para la elaboración de diferentes productos pesqueros. Las carpas chinas para la acuicultura cubana representan un renglón fundamental debido al suministro constante de pescado para el consumo humano.

## **Capítulo II. Procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad, que prevea la durabilidad de los productos pesqueros, en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, para la toma de decisiones oportunas que permita reducir las pérdidas post cosecha**

A partir de la revisión bibliográfica realizada en el marco teórico referencial y la situación problemática, se dio respuesta al problema científico, a través del diseño de un procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad, basado en el análisis microbiano, bases volátiles totales nitrogenadas y análisis sensorial, en la gestión logística de aprovisionamiento a la empresa pesquera acuícola en Cuba. A continuación se describen las bases del procedimiento, objetivos, entrada, salidas, así como cada una de sus etapas.

### **2.1. Bases del procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad, basado en el análisis microbiano, bases volátiles totales nitrogenadas y análisis sensorial en la industria pesquera acuícola**

El procedimiento se realizó sobre las premisas siguientes:

1. Su concepción permite considerarlo de forma dialéctica y en continuo perfeccionamiento.
2. Se apoya en la correcta clasificación e identificación de la materia prima proveniente de los cultivos intensivos y extensivos desarrollados en la organización.

El procedimiento se plantea como objetivo, determinar los principales problemas que afectan la gestión de la calidad en el sistema logístico objeto de estudio, brindar la información correspondiente sobre las características de calidad de la materia prima que permita la toma de decisiones oportunas y de esta forma reducir las pérdidas post cosecha; a partir de los principios siguientes:

1. Adaptabilidad: la significación de la ingeniería de la calidad y la logística como soporte teórico-metodológico en la toma de decisiones oportunas y la mejora de procesos, que permitan asegurar la calidad e inocuidad de los surtidos derivados del pescado.

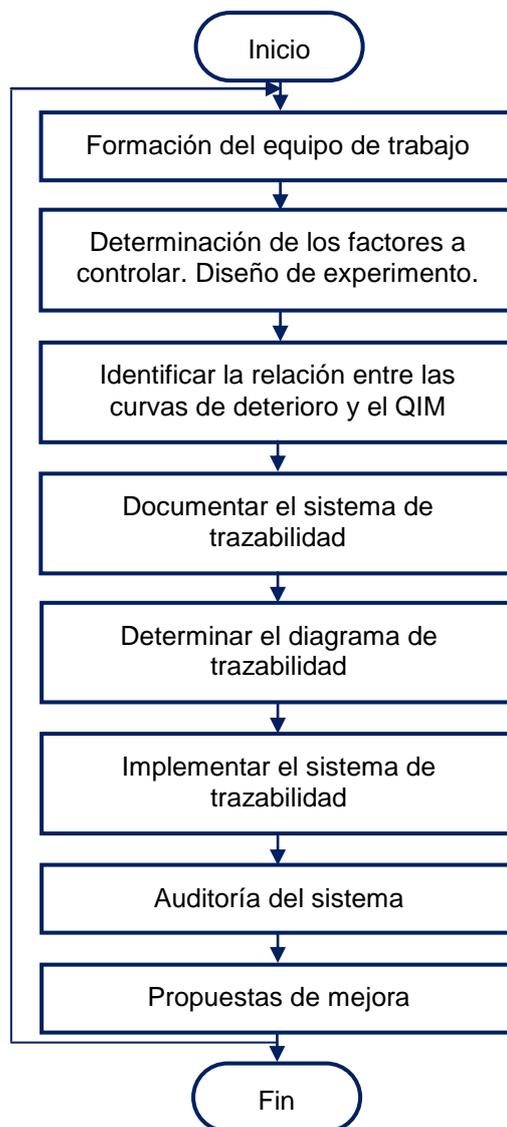
2. Aprendizaje: contempla técnicas y herramientas de trabajo, que para su aplicación se requiere de la capacitación de los involucrados y del ejercicio del método en reiteradas ocasiones.
3. Pertinencia: la posibilidad que tiene el procedimiento de ser aplicado de forma integral en el proceso logístico de aprovisionamiento a las industrias pesqueras acuícolas, sin consecuencias negativas para el cliente interno (la industria) o externo.
4. Perspectiva o generalidad: dada la posibilidad de su extensión como instrumento metodológico para la toma de decisiones oportunas y la mejora de procesos.

Entradas al procedimiento:

1. Información detallada del proceso logístico de aprovisionamiento a las industrias pesqueras acuícolas que permita su caracterización y descripción.
2. Datos de la materia prima que se captura y evaluaciones de los requisitos de la calidad de la misma.
3. Datos del comportamiento de las pérdidas post cosecha según las actividades del proceso logístico de aprovisionamiento a las industrias pesqueras acuícolas.

Salidas del procedimiento:

1. Materias primas identificadas y clasificados por lotes.
2. Procesos interrelacionados a través de identificaciones registradas.
3. Causas que originan la variabilidad en los lotes, y posibles medidas para solucionar deficiencias.
4. Diseño de registros históricos que caracterizan el proceso logístico de aprovisionamiento a las industrias pesqueras acuícolas y la calidad e inocuidad de la materia prima.



**Figura 2.1. Procedimiento para el diseño de un modelo predictivo de calidad en la logística de aprovisionamiento de la empresa pesquera acuícola**

## **2.2. Caracterización de la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR”**

En el año 2000, tras los cambios originados por las reestructuraciones planteadas por el Perfeccionamiento Empresarial en el Ministerio de la Industria Pesquera (MIP), se constituyó la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR” perteneciente al Grupo Empresarial INDIPES. El 20 de mayo del año 2003, se comienza la aplicación del perfeccionamiento empresarial hasta la actualidad, de forma continua e ininterrumpida con avances en su gestión que la distinguen de las de su tipo a nivel de país.

Después de los cambios estructurales llevados a cabo por la máxima dirección del Consejo de Estado de la República de Cuba, bajo lo estipulado en la Resolución No. 264/2009 quedan extinguidos los Ministerios de la Industria Alimenticia y de la Industria Pesquera subrogados por el Ministerio de la Industria Alimentaria, subordinados al Grupo Empresarial Industrial de la alimentaria.

Es una organización con más de 25 años de experiencia, que rectora las actividades de alevinaje, cultivo, captura de especies acuícolas, industrialización y comercialización de productos de la pesca. Cuenta con 5 UEB las cuales son: INDUPIR, COMESPIR, JAULASPIR, ACUIZA y ACUISIER, más la oficina central, las cuales responden a las principales actividades productivas. Además cuenta con un capital humano formado y adiestrado en los procesos operacionales de trabajo y productivos, con bajos niveles de fluctuación. Se cuenta con una infraestructura técnica-productiva adecuada que da respuesta de manera eficaz y eficiente a las exigencias de inocuidad de los alimentos convenidas con los clientes y partes interesadas.

La misión de la empresa es cultivar de forma extensiva e intensiva especies acuícolas para su procesamiento industrial, que permita comercializar productos con altos estándares de calidad en el mercado dentro y fuera de frontera en ambas monedas, garantizado por un capital humano con alto sentido de pertenencia y responsabilidad, así como con una infraestructura tecnológica que permita un desarrollo sostenido y sustentable.

Por otra parte, su visión es ser una empresa distinguida por su liderazgo en la producción de especies acuícolas, procesamiento industrial y comercialización dentro y fuera de frontera, que muestre niveles de excelencia por la certificación del Sistema de Gestión de la Calidad Total y la utilización de las más modernas tecnologías, que garanticen la plena satisfacción y confianza de los clientes y proveedores, basado en un colectivo de trabajadores y directivos con alto sentido de pertenencia y comprometidos con el desarrollo de la organización y el país.

El objeto social de la organización está aprobado según la Resolución 557/06 del Ministerio de Economía y Planificación. A continuación se relacionan las funciones que realiza:

- reproducción y alevinaje de las especies ciprínidos, tilapias y clarias;
- cultivo extensivo en presas y micro presas;
- cultivo intensivo de tilapias en jaulas y clarias en estanques;
- captura de las especies ciprínidos, tilapias y clarias en presas, micro presas, jaulas y estanques;
- industrialización de las especies ciprínidos, tilapias y clarias, de acuicultura, así como especies de la plataforma en menor escala; y
- comercialización de tenca descabezada, eviscerada y congelada, en su forma abreviada, tenca HG (exportable), cabeza de tenca (exportable), vejiga natatoria (exportable), minuta de tilapia congelada, filete de tilapia congelado, filete de claria congelado, picadillo de pescado congelado, picadillo condimentado congelado, croqueta de pescado, medallón de pescado, cóctel de pescado, paté de pescado, mortadela de pescado, perro caliente de pescado, chorizo de pescado y hamburguesa de pescado.

Los principales clientes son:

- clientes minoristas (pescaderías especializadas);
- organismos del territorio;
- empresa comercializadora de alimentos del mar (COPMAR);
- comercio y gastronomía;
- entidades pertenecientes a la Administración Central del Estado;
- tiendas recaudadoras de divisas (TRD);
- turismo; y
- empresa comercial caribex (CARIBEX).

Está diseñada y dirigida para todas las actividades de la empresa, las cuales abarcan el 100 % de sus trabajadores que constituyen los actores y gestores del proceso, al considerar el capital humano el activo más importante para lograr con éxito los cambios deseados.

### **2.3. Etapas del procedimiento**

#### **Etapa 1. Formación del equipo de trabajo**

Es de gran importancia conformar el equipo de trabajo que se encargará de ejecutar la aplicación del procedimiento general. Este equipo deberá estar

integrado por expertos conocedores del tema para brindar valoraciones y aportar recomendaciones con un máximo de competencias (Pérez Noda, 2015).

A continuación se enuncian las tareas a realizar:

1. Organizar y dirigir el trabajo de los expertos (es una tarea específica del jefe del equipo de trabajo).
2. Recopilar la información necesaria para desarrollar cada una de las etapas del procedimiento.
3. Realizar los cálculos y análisis incluidos en cada etapa.

Se recomienda por Trischler, (1998); Amozarrain, (1999); Nogueira Rivera, (2002); Negrín Sosa, (2002); Diéguez Matellán, (2008) y Hernández Nariño, (2010) que grupos de trabajo con pretensiones similares, se caracterizan por:

- estar integrado por un grupo de 7 a 15 personas;
- estar conformado por personas del Consejo de Dirección y una representación de todas las áreas de la organización;
- garantizar la diversidad de conocimientos de los miembros del equipo;
- contar con personas que posean conocimientos de dirección;
- disponer de la presencia de algún experto externo;
- nombrar a un miembro de la dirección como coordinador del equipo de trabajo; y
- contar con la disponibilidad de los miembros para el trabajo solicitado.

Se utiliza el Método de selección de expertos propuesto por Hurtado de Mendoza Fernández (2003); para desarrollarlo se aplica una encuesta que permite realizar un análisis de los candidatos mediante la determinación del coeficiente de competencia de los mismos, luego se calcula la cantidad de expertos necesarios para la investigación y con estos dos elementos se determinan los integrantes del equipo de trabajo. A continuación se describen cada uno de los pasos que son necesarios llevar a cabo para aplicar el método que se propone utilizar.

1. Confeccionar una lista inicial de personas que cumplan con los requisitos para ser expertos en la materia a trabajar.

2. Realizar una valoración sobre el nivel de experiencia y se evalúa de esta forma los niveles de conocimiento que poseen sobre la materia. Para esto, se realiza una primera pregunta para una autoevaluación de los niveles de información y argumentación que tienen sobre el tema en cuestión. En esta pregunta se les pide que marquen con una X, en una escala creciente del 1 al 10, el valor que se corresponde con el grado de conocimiento o información que tienen sobre el tema, la misma se muestra a continuación en la tabla 2.1.

**Tabla 2.1. Resumen de la encuesta inicial para calcular el coeficiente de conocimiento**

Expertos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1										
...										
15										

Fuente: Hurtado de Mendoza Fernández (2003)

A continuación se calcula el coeficiente de conocimiento o información ( $K_c$ ):

$$K_{cj} = n(0,1) \quad (2.1)$$

donde:

$K_{cj}$ : Coeficiente de conocimiento o información del experto "j"

n: Rango seleccionado por el experto "j"

3. Se realiza una segunda pregunta que permite valorar un grupo de aspectos que influyen sobre el nivel de argumentación o fundamentación del tema a estudiar, se marca con una X según el nivel que posean. Esta pregunta se muestra en la tabla 2.2.

**Tabla 2.2. Pregunta que permite valorar aspectos que influyen sobre el nivel de argumentación**

Fuentes de argumentación	Alto	Medio	Bajo
Estudios teóricos realizados			
Experiencia obtenida			
Conocimientos de trabajos en Cuba			
Conocimientos de trabajo en el extranjero			
Consultas bibliográficas			
Cursos de actualización			

Fuente: adaptado de Hurtado de Mendoza Fernández por Medina León et al. (2008)

4. En este paso se determinan los elementos de mayor influencia, las casillas marcadas por cada experto en la tabla se llevan a los valores de una tabla patrón, la cual se relacionan en la tabla 2.3.

**Tabla 2.3. Tabla patrón para determinar el nivel de argumentación del tema a estudiar**

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados	0,27	0,21	0,13
Experiencia obtenida	0,24	0,22	0,12
Conocimientos de trabajos en Cuba	0,14	0,10	0,06
Conocimientos de trabajo en el extranjero	0,08	0,06	0,04
Consultas bibliográficas	0,09	0,07	0,05
Cursos de actualización	0,18	0,14	0,10

Fuente: Medina León et al. (2008)

5. Los aspectos que influyen sobre el nivel de argumentación del tema a estudiar permiten calcular el coeficiente de argumentación ( $K_a$ ) de cada experto a través de la expresión:

$$K_{aj} = \sum_{i=1}^7 n_i \quad (2.2)$$

donde:

$K_{aj}$ : coeficiente de argumentación del experto "j"

$n_i$ : valor correspondiente a la fuente de argumentación "i" (i: 1 hasta 6)

6. A partir de los valores del coeficiente de conocimiento ( $K_c$ ) y el coeficiente de argumentación ( $K_a$ ), se obtiene el valor del coeficiente de competencia ( $K$ ) de cada experto:

$$K = 0,5 * (K_c + K_a) \quad (2.3)$$

donde:

$K$ : coeficiente de competencia

$K_c$ : cociente de conocimiento

$K_a$ : coeficiente de argumentación

1. El coeficiente de competencia se valora en la escala siguiente:

$0,8 < K < 1,0$  Coeficiente de competencia alto

0,5<K<0,8 Coeficiente de competencia medio

K<0,5 Coeficiente de competencia bajo

7. Para la selección se determina el número de expertos necesarios (n), mediante la expresión:

$$M = \frac{p * (1 - p) * k}{i^2} \quad (2.4)$$

donde:

$$k = (Z_{\alpha/2})^2 \quad (2.5)$$

$Z_{\alpha/2}$ : percentil de la distribución normal relacionado con el nivel de confianza (1- $\alpha$ ). Los valores más utilizados en la tabla 2.4.

$i^2$ : error admisible en la estimación, puede oscilar entre (0,05 – 0,10), incluso puede tomar valores menores a 0,05, todo depende de los recursos con que cuente el investigador.

p: es la proporción estimada que está relacionada con la variabilidad de la población, p = 0,5 significa que existe la mayor variabilidad en las opiniones, o es un tema nuevo donde no se conoce nada al respecto, con este valor se obtiene el resultado más alto de la multiplicación de p (1-p)= 0,25, con lo que se obtiene el tamaño óptimo de muestra.

$p*(1-p)$  se obtiene de la distribución Binomial.

**Tabla 2.4. Valores de K según el nivel de confianza**

Nivel de confianza (%)	$\alpha$	$Z_{\alpha/2}$	Valor de K
99	0,01	2,57	6,6564
95	0,05	1,96	3,8416
90	0,10	1,64	2,6896

## **Etapla 2. Determinación de los factores pre cosecha y post cosecha a controlar. Diseño de experimento**

Para la determinación de los factores que inciden en la frescura del pescado y su durabilidad se sugieren métodos y herramientas a aplicar, entre ellas se encuentra la Tormenta de Ideas (Brainstorming) ya que esta contribuye a través de un proceso interactivo de grupo, a generar más y mejores ideas que las que los individuos pueden producir mediante el trabajo de forma

independiente y así involucrar de forma directa al personal con la organización. Dicha herramienta permite aportar un grupo de opiniones relacionadas con los factores pre cosecha y post cosecha que afectan la frescura del pescado y su posterior vida útil y que ayudarán a discernir cuáles podrían ser las principales causas generadoras de la poca durabilidad de los mismos.

El Método Delphi cuyo objetivo es la consecución de un consenso basado en la discusión entre expertos a partir del anonimato de los intervinientes, la repetitividad y retroalimentación controlada, y la respuesta del grupo en forma estadística. La metodología de previsión Delphi utiliza juicios de expertos para considerar las respuestas a un cuestionario y examinar las posibles respuestas. El resumen de los juicios de los expertos (en las formas de evaluaciones cuantitativas y comentarios escritos) son provistos como retroalimentación a los mismos expertos como parte de una siguiente ronda de cuestionarios. A continuación, los expertos reevalúan sus opiniones a la luz de esta información, y tiende a emerger un consenso entre el grupo (Scott, 2001).

Para empezar se pasa a la formulación del problema con el objetivo de evaluar el criterio representativo de los expertos sobre el procedimiento, se debe elaborar un resumen de la investigación que contenga el problema, el objetivo y el procedimiento desarrollado, así como un cuestionario que se le entrega a cada experto seleccionado. Luego se procesa la información cuantitativa y cualitativa ofrecida en los instrumentos, con el análisis de las respuestas e identificación de los criterios en qué están de acuerdo y en qué difieren (Scott, 2001).

Una vez plasmados los criterios de los expertos en cada rango de valoración para los diferentes aspectos, se siguen los pasos descritos a continuación:

1. Se resume el criterio de todos los expertos, a partir de estos valores se calcula la frecuencia absoluta de categorías por cada uno de los indicadores.
2. Basados en las frecuencias absolutas se calculan las frecuencias acumuladas y las frecuencias acumuladas relativas de cada categoría por indicador. Se utilizan las tablas de distribución normal para calcular los puntos de corte.

3. Para finalizar, el responsable del estudio elabora sus conclusiones a partir de la explotación estadística de los datos obtenidos.

El Método de Expertos basado en el cálculo del coeficiente de Kendall (Ver anexo 13), para buscar la correlación y el consenso entre los criterios de los expertos sobre los factores que determinan la variabilidad de los lotes, con este fin se tiene que para la evaluación de la opinión de los mismos:

K: cantidad de factores

M: cantidad de expertos

**Tabla 2.5. Patrón para el cálculo del Coeficiente de Kendall**

Factores \ Expertos	A	B	C	D	E	...	n	
1								
...								
n								
$\Sigma R_j$								$\Sigma =$
$T = 1/2 * (K+1) * M$								
$\Delta = \Sigma R_j - T$								
$\Delta^2$								$S = \Sigma \Delta^2$
$W = 12 * \Sigma \Delta^2 / M^2 * (K^3 - K)$								

$H_0$ : no hay concordancia en el juicio de los expertos

$H_1$ : hay concordancia en el juicio de los expertos

**Tabla 2.6. Región crítica para el cálculo del Coeficiente de Kendall**

Región crítica	
Si $K > 7$	Si $K \leq 7$
$X^2 > X^2_{\alpha, K-1}$	$S \geq S_{\text{tabulada}}$
Tabla Chi-Cuadrado (Siegel, 1970)	Tabla de Friedman (Siegel, 1970)

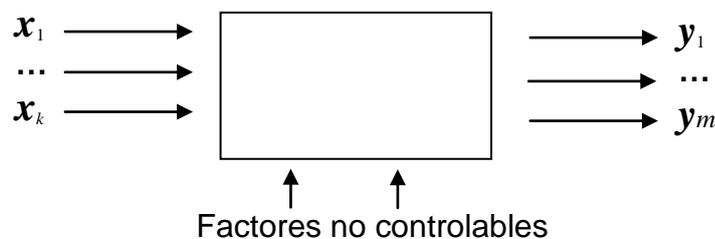
### Diseño de experimento

La experimentación juega un papel fundamental en todos los campos de la investigación y el desarrollo. El Diseño Estadístico de Experimentos (DEE), también denominado diseño experimental, es una metodología basada en útiles matemáticos y estadísticos que consiste en determinar cuáles pruebas y como es que se deben realizar, para obtener datos que al analizarlos

estadísticamente se obtengan conclusiones y decisiones que deriven en mejoras del desempeño del proceso, el DDE ayuda al experimentador a:

1. Seleccionar la estrategia experimental óptima que permita obtener la información buscada con el mínimo costo posible.
2. Evaluar los resultados experimentales obtenidos, para garantizar la máxima fiabilidad en las conclusiones que se obtengan.

El DDE se aplica a sistemas en los cuales se observan una o más variables experimentales dependientes o respuestas ( $y$ ) cuyo valor depende de los valores de una o más variables independientes ( $x$ ) controlables llamadas factores. Las respuestas además pueden estar influidas por otras variables que no son controladas por el experimentador. La relación entre  $x$  e  $y$  no tiene por qué ser conocida Gutiérrez Pulido and de la Vara Salazar (2008) (Ver figura 2.2).



**Figura 2.2. Representación de un sistema en estudio en DDE: factores ( $x$ ), respuestas ( $y$ ). Fuente: Gutiérrez Pulido and de la Vara Salazar (2008)**

La variable de respuesta es la característica, variable de salida o propiedad del producto, cuyo valor interesa mejorar. Por lo general, el valor de dicha característica determina algún aspecto de la calidad del producto. La conjetura típica para utilizar el diseño experimental es que existe otra manera de operar el proceso en la cual el comportamiento de una o varias variables de respuesta sería mejor que el actual.

Los factores controlables son variables de proceso o variables de entrada que se pueden fijar en un punto o en un nivel de operación. Algunos de estos son los que, por lo general, se controlan durante la operación normal del proceso y se distinguen porque, para cada uno de estos, existe la manera o el mecanismo para cambiar o manipular su nivel de operación. Esto último es lo que hace posible que se pueda experimentar con estos.

Los factores no controlables o de ruido son variables que no se pueden controlar durante la operación normal del proceso. Un factor que ahora es no controlable puede convertirse en controlable, cuando se tenga un mecanismo o tecnología para ello.

### **Procedimiento para la aplicación del DEE**

La aplicación del diseño de experimentos según Gutiérrez Pulido and de la Vara Salazar (2008), requiere considerar las etapas que se comentarán a continuación:

#### 1. Determinar el problema de calidad

Las condiciones del medio de cultivo afectan las características de calidad presentes en los productos pesqueros después de la captura, como es el deterioro organoléptico y la contaminación bacteriana del tracto intestinal, la piel y las branquias (Ver anexos 3, 4, 5 y 6).

#### 2. Determinar factores a estudiar o investigar

Se determinará a través de los expertos los factores que influyen en la variable de respuesta y que se consideran variables de entrada.

#### 3. Elegir las variables de respuesta que serán medidas

Las variables de respuesta que reducen la vida útil de los productos pesqueros y por lo tanto, que son necesarios controlar y mejorar, tanto desde el punto de vista bacteriológico como sensorial son, la presencia de colonias de microorganismos (coliformes, coliformes termotolerantes y escherichia coli) y el deterioro de las características organolépticas.

#### 4. Seleccionar el diseño experimental adecuado a los factores que se tienen y al objetivo del experimento

Este paso implica determinar cuántas repeticiones se harán para cada tratamiento, se tiene en cuenta el tiempo y la precisión deseada.

#### 5. Planear y organizar el trabajo experimental

Se tomarán las muestras en la presa, por diferentes puntos de pesca, en los horarios de la mañana y la tarde, para luego hacer los análisis microbiológicos y sensoriales correspondientes en un laboratorio competente.

#### 6. Realizar el experimento

Para la realización del experimento en la unidad se cuenta con un grupo de personas capacitadas y con experiencia previa, se tienen los medios necesarios y los resultados se reportarán a la especialista principal de calidad así como cualquier imprevisto que surja durante dicho proceso.

#### 7. Análisis estadístico

Se determinará el modelo de análisis de varianza Anova o la técnica estadística que mejor describa el comportamiento de los datos, se recomienda utilizar técnicas gráficas de apoyo.

#### 8. Interpretación

Luego de haber realizado los análisis necesarios se conforma la curva de deterioro en correspondencia con los valores bacteriológicos obtenidos, en el caso del análisis microbiológico, o con los valores de demérito obtenidos (0-22), en el caso del análisis sensorial, y los días almacenados en hielo con el objetivo de predecir la vida útil restante de los productos pesqueros, de forma tal que se mantenga la inocuidad alimentaria. En el caso del análisis sensorial se tendrá en cuenta cada parámetro sensorial por separado y de forma general.

#### 9. Conclusiones finales

Para concluir el proyecto se recomienda decidir qué medidas implementar para generalizar el resultado del estudio y para garantizar que las mejoras se mantengan.

Es importante notar que la realización de estas etapas es cíclica. La información obtenida al realizar una serie de experimentos se debe integrar para planificar la experimentación posterior. De esta forma se comprende mejor el problema y se pueden redefinir o concretar más los objetivos, se pueden descartar factores que se ha visto que no eran importantes, o modificar su dominio experimental.

### **Etapas 3. Determinar la relación entre las curvas de deterioro y el QIM**

Para determinar la relación entre las curvas de deterioro del análisis microbiológico y el QIM se utilizará el Diagrama de dispersión que representa de forma gráfica el grado de asociación lógica entre las variables a medir a

partir de la recogida de datos acerca de estas y el análisis posterior necesario para confirmar la correlación del diagrama.

#### **Etapas 4. Documentar el sistema de trazabilidad**

La identificación y el etiquetado de los lotes de pescado se obtendrá mediante el diseño de claves de lotes que se actualizarán conforme a la realización de las capturas, para lo cual se define el “Lote de materia prima” como: cantidad de materia prima (pescado) capturada en circunstancias casi idénticas.

De esta manera, para la delimitación de los lotes, se tendrán en cuenta los diferentes tiros de pesca realizados por la brigada de pesca, se asume que cada tiro de pesca hecho corresponde a un lote de materia prima, ya que no pueden mezclarse las materias primas capturadas en diferentes tiros de pesca debido a que el tiempo de exposición de las mismas no es igual, y por tanto, no lo será el nivel de deterioro que tengan éstas.

La identificación del lote de materia prima estará formado por 12 dígitos, los seis primeros identificarán la fecha (año, mes y día), luego se identificará la especie con una letra (T: tenca, L: tilapia, C: claria y R: carpa) ya que en un mismo tiro de pesca pueden capturarse ejemplares de todas las especies que se encuentran en el embalse, los seis números siguientes corresponderán a la identificación de proveedores (internos) que se tomará como la procedencia de la materia prima en función del embalse, el punto de pesca y la brigada de pesca que realizó la captura.

La identificación de proveedores (internos) se tomará como la identificación de la procedencia de la materia prima (embalses) y de las brigadas de pesca (BP) que capturan el pescado en dichos embalses, para establecer claves y registros de datos seguros para esto. Debe tenerse en cuenta también que las brigadas de pesca pueden intercambiarse de punto de pesca dentro del mismo embalse e incluso pueden realizar pesquerías en diferentes embalses. Los códigos de las materias primas según su procedencia tendrán la siguiente estructura que se muestra en la tabla A. (Ver anexo 17).

Para el etiquetado de los lotes del pescado se diseñó la etiqueta que se muestra en la tabla B. (Ver anexo 17).

En la identificación del pescado por lotes deben tenerse en cuenta el registro de diferentes parámetros como los mostrados en la tabla C. (Ver anexo 17).

Para esto se precisa el establecimiento de un modelo que permita el control de la identificación del pescado, con el objetivo de preservar el registro de la información. En la tabla D del anexo 17 se propone el formato del mismo.

### **Etapa 5. Determinar el diagrama de trazabilidad**

El diagrama de trazabilidad corresponde a los pasos lógicos que permitan rastrear un lote a través de la cadena logística. En el caso de la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola, la trazabilidad es interna y se facilitará por medio del seguimiento de los lotes asociados a las brigadas de pesca identificadas por claves, se sigue la lógica en la que se basa la revisión de los procesos de trazabilidad, mediante el cumplimiento de los tres principios: registro, identificación y transmisión (Ver figura 2.3).



**Figura 2.3. Diagrama de trazabilidad.**

1. Identificación: correcta tipificación de las capturas y características asociadas mediante etiquetado, código de barras, etc.
2. Registro: cada agente involucrado en la cadena de suministro del pescado debe disponer de un sistema informativo para poder generar, gestionar y registrar la información de trazabilidad necesaria en cada momento (se entiende como información de trazabilidad, fechas, número de lote, etc.).
3. Transmisión: se presenta como la necesidad de transmitir la información al siguiente eslabón de la cadena de suministros del pescado y como la necesidad de asociar el flujo de información al flujo físico.

### **Etapa 6. Implementar el sistema de trazabilidad**

En este paso se pretende disminuir las pérdidas post cosechas, ya que una vez identificados los datos de la materia prima, se garantizará la toma de decisiones oportunas enfocadas hacia dos aspectos fundamentales:

- jerarquizar la entrada de la materia prima al proceso industrial; para esto se tiene en cuenta los parámetros de calidad con que se recibe la misma en la industria pesquera acuícola; y
- determinar qué surtido hacer en dependencia del nivel de deterioro que tenga el pescado.

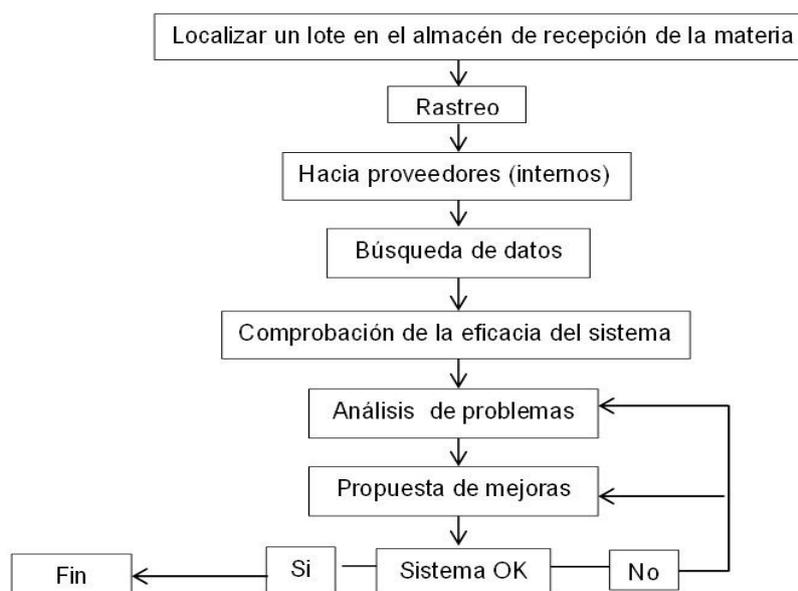
Aquí se sugiere aplicar como herramienta útil en la toma de decisiones, el QIM. Una vez que se ha obtenido una correlación lineal entre los QI y el tiempo de almacenamiento del pescado, las puntuaciones de demérito totales obtenidas pueden ser usadas para predecir de forma fácil la vida útil restante de la misma (Botta, 1995); lo que determina el destino del pescado en función del nivel de deterioro que presente (Bernardi et al., 2013a).

### **Etapa 7. Auditoría del sistema**

En este paso se trata de establecer comprobaciones sistemáticas que permitan evaluar el correcto funcionamiento del sistema y su eficacia, así como la detección de posibles mejoras.

Una vez implantado el sistema es necesario comprobar su eficacia. Para ello, de forma periódica se deben realizar ejercicios de auditoría o autocontrol del sistema de gestión de trazabilidad. La realización de dichos ejercicios detectará las deficiencias que hubiese y permitirá llevar a cabo las mejoras oportunas.

Cuando se realiza una auditoría, la medida de la eficacia del sistema de trazabilidad es determinar la tasa de recuperación, es decir, saber que tanto por ciento del lote en cuestión se recupera, cuya medida de eficiencia para esto es el tiempo que se ha empleado. A continuación en la figura 2.4 se muestra el flujograma para el ejercicio de auditoría o autocontrol del sistema de gestión de trazabilidad.



**Figura 2.4. Flujograma para el ejercicio de auditoría o autocontrol del sistema de gestión de trazabilidad**

## **Etapa 8. Propuestas de mejora**

En este paso se persigue evaluar la disminución de las pérdidas post cosechas una vez implementado el sistema de trazabilidad en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola.

Para lograr tal finalidad resulta necesario la evaluación de las pérdidas post cosecha y sus causas en dos momentos, antes y después de la implementación del sistema de trazabilidad en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera, de modo que se logre establecer un patrón de comportamiento que posibilite el análisis y la comparación, y de esta forma se tribute a la mejora de la calidad en el proceso de aprovisionamiento.

De esta manera se puede entender que si ha habido una disminución de las pérdidas post cosechas, se ha logrado el mejoramiento del proceso logístico de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola, y con ello, se podrá asegurar la calidad e inocuidad del pescado capturado.

Como herramienta fundamental pueden utilizarse los Gráficos de tendencia y los Gráficos de control por variables, pues el análisis de los datos mediante éstos proporciona mayor información que el simple control de los resultados de un proceso, lo que sugiere posibilidades de corrección preventiva y alternativas de investigación.

Los mismos se basan en la observación de la variación de características medibles del producto o materia prima que se analiza, simplifica el análisis de situaciones numéricas complejas al mostrar de forma clara y de un "vistazo" la variabilidad del resultado de un proceso en función del tiempo, respecto a una determinada característica de éste.

### **2.4. Conclusiones del capítulo**

1. A partir del estudio realizado se desarrolla un procedimiento que ofrece diferentes etapas y pasos para la obtención de un modelo predictivo de calidad en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, para la toma de decisiones oportunas encaminado a reducir las pérdidas post cosecha.
2. Las herramientas ingenieriles propuestas dentro del procedimiento como la Tormenta de ideas, Método Delphi, DEE, diagrama de trazabilidad, flujograma, facilitan una mejor comprensión del proceso y resultan un

aporte novedoso para el análisis de la cadena de suministro en la industria pesquera acuícola cubana.

3. El DEE permite identificar las características de calidad que tienen mayor influencia en la calidad final de los productos pesqueros y que medidas implementar para la mejora continua del desempeño del proceso, de modo que no sea afectado por fuentes de variabilidad externas.

Mediante la realización eficiente de la trazabilidad de la captura durante el proceso logístico de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola, se puede garantizar la adecuada identificación de los lotes, que permitirán acceder a esta en línea de seguimiento para la toma de decisiones oportunas.

### Capítulo III. Aplicación del procedimiento propuesto para prever la durabilidad de la carpa en la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR”

En el presente capítulo se realiza la aplicación del procedimiento propuesto en el capítulo anterior en la especie de mayor volumen de producción en el país, como es la carpa común; y para la posterior implantación del QIM en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR”.

#### 3.1. Caracterización de la materia prima

La acuicultura cubana se basa en el desarrollo del cultivo de especies exóticas de peces dulceacuícolas, entre las que se encuentran las carpas chinas o carpa común, tilapias y clarias. La materia prima con la que se trabajará proviene de las capturas de los cultivos extensivos e intensivos, como es la carpa común, cuyos parámetros de calidad e inocuidad están dados en lo fundamental por la calidad que tenga el recurso agua en los diferentes puntos de pesca de los embalses, la manipulación durante y después de la captura, el transporte y la relación tiempo-temperatura durante todo el proceso logístico de aprovisionamiento (Millares Dorado and Damas Pérez, 2013).

La carpa común fue introducida y aclimatada de forma escalonada en las décadas del 60-70 del siglo pasado, como respuesta a las necesidades acuícolas del país. Hoy esta especie constituye el mayor volumen de materia prima en el procesamiento industrial de productos pesqueros destinados a la población (Millares Dorado and Damas Pérez, 2013). Este representa aproximadamente el 65.63% del total de toneladas capturadas en los últimos siete años (ONEI, 2015; ONEI, 2016), como se muestra en la tabla 3.1.

**Tabla 3.1. Total de toneladas capturadas de la carpa en los últimos años**

Captura bruta (ton)	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total	%Total
Carpa	17616.6	16319.9	14690.5	14523.4	16473.6	18193.0	17853.1	<b>115670.1</b>	<b>65.63</b>
Tilapia	3 156.0	2 538.1	1 675.8	1 996.6	2 108.4	2 327.9	2 337.9	<b>16140.7</b>	9.16
Claria	6 031.0	5 277.9	5 181.1	6 347.3	6 758.3	7 102.1	7 746.4	<b>44444.1</b>	25.21
<b>Total</b>	<b>26803.6</b>	<b>24135.9</b>	<b>21547.4</b>	<b>22867.3</b>	<b>25340.3</b>	<b>27623.0</b>	<b>27937.4</b>	<b>176254.9</b>	100
%carpa	65.72	67.62	68.18	63.51	65.01	65.86	63.90		

La adecuación a la transferencia tecnológica de la carpa en el país radica en el dominio de la tecnología de la reproducción artificial, que permite formar en las granjas de cultivo, bancos de reproductores que maduren de forma sincrónica, logrado a través de la selección sistemática de los peces por grupos de maduración en cada desove (Millares Dorado and Damas Pérez, 2013).

Con este método de trabajo se ha elevado la producción de larvas obtenidas en varios ciclos de desove al año, destinados a garantizar la producción sostenida de alevines a sembrar en los acuatorios. El cultivo de esta especie está generalizado en las estaciones de alevinaje del país, se realiza en policultivo en presas y micropresas por presentar diferentes hábitos alimentarios que les permite aprovechar organismos de los distintos niveles tróficos. Se encuentran en las aguas someras, tranquilas, con hábito omnívoro. El cuerpo es robusto, alto, comprimido, la cabeza en forma triangular con boca terminal, protractil con cuatro barbillas. La coloración del cuerpo varía con las especies y presenta un crecimiento rápido. Esto repercute de forma positiva en los acuatorios por el incremento de la productividad y las capturas (Millares Dorado and Damas Pérez, 2013).

La carpa común es utilizada como materia prima en el proceso tecnológico para la elaboración de diferentes productos pesqueros (croquetas, embutidos, picadillo, etc.) El auge del cultivo de esta especie, según Millares Dorado and Damas Pérez (2013), en el país ha radicado en:

- ser el alimento natural su fuente de alimentación incrementado con técnicas de fertilización;
- hábitos alimentarios diferentes, lo que facilita realizar el alevinaje y engorde en condiciones de policultivo; y
- desarrollar su cultivo en sistema extensivo y semintensivo.

### **3.2. Aplicación del procedimiento propuesto**

Para la aplicación del procedimiento serán abordadas en forma de sub-epígrafes cada una de las etapas que a él pertenecen, en aras de hacer lógica la secuencia de trabajo y poder abordar de forma clara los puntos de interés.

### 3.2.1. Formación del equipo de trabajo

Para la formación del equipo de trabajo, se confeccionó una lista inicial de personas que cumplen con los requisitos para ser expertos, los datos de los candidatos se muestran en el anexo 10.

Luego de realizarse las encuestas pertinentes sobre los niveles de conocimientos y argumentación que tienen los expertos sobre el tema, se tienen en cuenta los valores de la tabla patrón y se obtienen los coeficientes de conocimiento y argumentación ( $K_c$  y  $K_a$ ), y se calculan los coeficientes de competencia ( $K$ ); en el anexo 10 se reflejan los resultados de las encuestas con los cálculos.

Para la selección del número de expertos necesarios, se fijaron los valores siguientes:

- nivel de precisión deseado ( $i = 0.1$ )
- nivel de confianza (99%)
- proporción estimada de errores de los expertos ( $p = 0,01$ )
- constante cuyo valor está asociado al nivel de confianza elegido ( $k = 6.6564$ )

Para finalizar se calculó el número de expertos necesarios mediante la siguiente expresión (3.1):

$$M = \frac{p * (1 - p) * K}{i^2} = \frac{0,01 (1 - 0,01) * 6,6564}{0,1^2} = 6,5898 \quad (3.1)$$

Se obtuvo un valor de  $M = 6,5898 \approx 7$  expertos, y se decide entonces trabajar con un total de siete expertos. A partir de este análisis se seleccionaron aquellos con un mayor coeficiente de competencia, el equipo de trabajo para la investigación quedó conformado según se muestra en la tabla 3.2.

**Tabla 3.2. Datos de los expertos seleccionados**

Cód. del experto	Ocupación
1	Director Logístico
2	Técnico de Gestión de la Calidad Establecimiento Pesquero Acuícola
4	Especialista Principal de Gestión de la Calidad
6	Jefe de Zona de Pesca
9	Especialista en Acuicultura
12	Técnico de Gestión de la Calidad Industria Pesquero Acuícola
14	Especialista UNISS

Los expertos solo poseen conocimientos generales sobre la gestión del proceso logístico de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola, por lo que es necesaria una preparación inicial, con herramientas y técnicas relacionadas con el tema que les permita adquirir la cultura necesaria para la implementación del procedimiento. Con esta preparación del equipo de trabajo, se procede a la determinación de los factores pre cosecha y post cosecha a controlar.

### **3.2.2. Determinación de los factores pre cosecha y post cosecha a controlar. Diseño de experimento**

Una vez seleccionados los expertos, se aplica una tormenta de ideas para identificar todos los factores pre cosecha y post cosecha que afectan la frescura del pescado y que por tanto son necesarios controlar. A continuación se procede a utilizar el método Delphi por su adecuación para la validación de los factores establecidos como más apropiados según las condiciones del medio de cultivo y las condiciones de la empresa, con el objetivo de disminuir las pérdidas post cosecha mediante la toma de decisiones oportunas.

Se le entregó a cada uno de los expertos seleccionados en la Empresa Pesquera de Sancti Spíritus (PESCASPIR), un cuestionario para obtener criterios sobre el procedimiento a aplicar (Anexo 11).

#### Procesamiento estadístico de la información ofrecida por los expertos

El diseño de una hoja de cálculo en Microsoft Excel permitió procesar el criterio de los expertos seleccionados para validar el procedimiento. La misma está estructurada de la forma siguiente:

- una tabla que permite registrar los criterios de cada experto y se toma como variables los criterios y las categorías de la escala como valores de las variables;
- una tabla de frecuencia absoluta donde se toma como variables a los aspectos y las categorías de la escala como valores de las variables;
- una tabla de frecuencias acumuladas absolutas;
- una tabla de frecuencias acumuladas relativas; y

- una tabla que permite determinar los puntos de corte y la escala de los aspectos considerados. La obtención de los puntos es a través del cálculo de  $N - P$ , donde:

$$N = \frac{\text{Sumatoria de la Suma por Aspectos}}{\text{No.de Rangos de Valoración*No.de Aspectos}} = \frac{146.95}{75} = 1.959 \quad (3.2)$$

$$P = \text{Promedio por Aspectos} \quad (3.3)$$

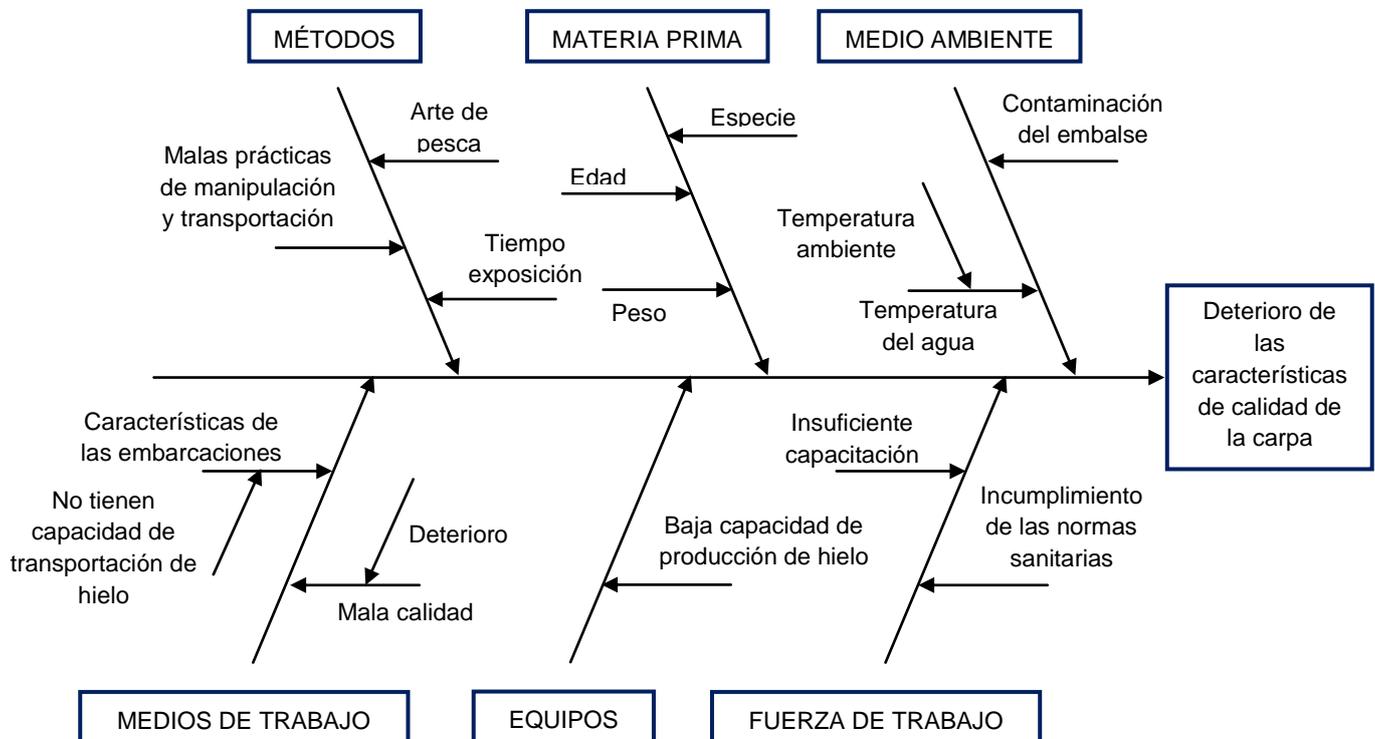
Para esto se elaboró una matriz de valoración, en la que se recogieron los elementos a tener en cuenta por el experto al emitir su opinión y se estableció la escala valorativa siguiente con un valor numérico ascendente desde 1 hasta 5:

1. Muy adecuado (MA): se considera aquel aspecto que es óptimo y abarca todos y cada uno de los componentes del objeto a evaluar.
2. Bastante adecuado (BA): se considera aquel aspecto que comprende en casi su totalidad al objeto y sea capaz de abordarlo en un grado bastante elevado de certeza en el momento de tomarlo en cuenta en el contexto donde tiene lugar.
3. Adecuado (A): tiene en cuenta una parte importante de las cualidades del objeto a evaluar, las cuales aportan juicios de valor.
4. Poco adecuado (PA): recoge solo algún rasgo distintivo del hecho o fenómeno a evaluar, que aporta poco elemento valorativo.
5. Inadecuado (I): procesos, aspectos, hechos o fenómenos que por su poco valor o inadecuación en el reflejo de las cualidades del objeto no proceden ser evaluados.

Al comparar la diferencia (N-P) para cada paso de la metodología con los respectivos puntos de corte, se obtuvo la matriz de relación entre los factores y las categorías donde los expertos llegaron a la conclusión de que los factores pre cosecha y post cosecha que más afectan la calidad e inocuidad de la carpa y que por lo tanto son necesarios tener en cuenta en cualquier estudio a realizar, son los factores número 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 12, 13, 14 y 15 que resultaron muy adecuados, solo resultaron como inadecuados los factores número 6, 9, 10 y 11 (Ver anexo 12).

## Diseño de experimento

Para una mayor comprensión de las características de calidad que más favorecen al deterioro de la carpa, se empleó el diagrama causa-efecto, como se muestra en la figura 3.1.



**Figura 3.1. Diagrama causa-efecto para la variabilidad del deterioro de los requisitos de calidad de la carpa**

Debido a las características del laboratorio solo se pueden llevar a cabo los análisis experimentales microbiológicos y sensoriales. Para esto se tomaron 5 muestras de pescado en cada análisis realizado, establecido por la NC-ISO 7218.

## Diseño de experimento para el análisis microbiológico

### 1. Determinar el problema de calidad

Uno de los problemas que causan mayores pérdidas post cosecha a la logística de aprovisionamiento de la industria pesquera acuícola son los relacionados con la presencia de bacterias u organismos en el pescado, producto de las características del medio de cultivo, a las prácticas de manipulación y las características de la especie; las cuales afectan la inocuidad y la calidad alimentaria. Por lo tanto el objetivo del diseño experimental es disminuir las

mismas por medio de los análisis correspondientes para la toma de decisiones oportunas.

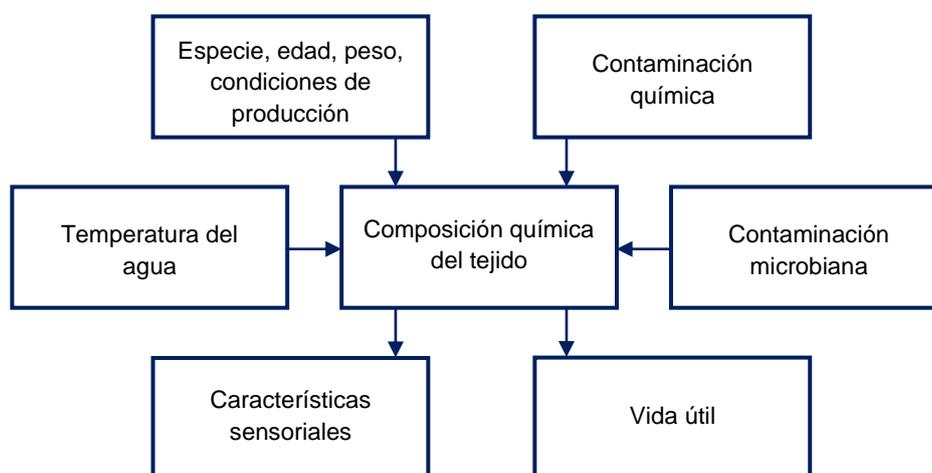
En la empresa objeto de estudio no se manejan los registros de las pérdidas post cosechas ocasionadas, por esta razón se toman como referencia los estudios realizados en los países en vía de desarrollo.

Con base en lo antes expuesto se definen como indicadores para medir el éxito del proyecto de mejora, los siguientes:

- rendimiento industrial;
- relación tiempo-temperatura; y
- utilización del hielo por toneladas capturadas.

## 2. Determinar factores a estudiar e investigar

Mediante el cálculo del coeficiente de Kendall se demuestra que existe concordancia en el juicio de los expertos (Ver anexo 13). Por lo tanto dentro de los factores que influyen de manera significativa en la variable de respuesta se encuentran las condiciones de producción y la contaminación del embalse (contaminación química y microbiana) que se consideran variables de entrada. Los demás parámetros no varían en el experimento.



**Figura 3.2. Factores pre cosecha que afectan la frescura de los peces y la calidad alimentaria**

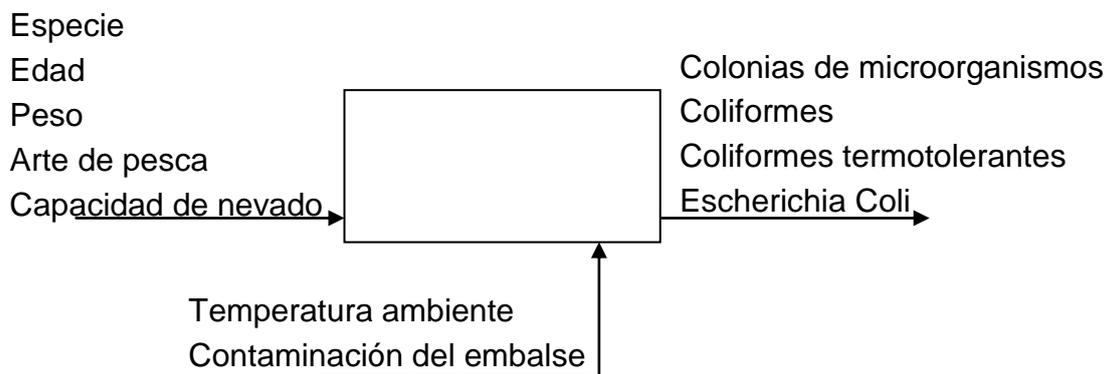
Los niveles de prueba para cada factor son:

- Especie: carpa común
- Edad: 2 - 3 años
- Peso: 1.8 - 2.3 kg
- Condiciones de producción:
  - Arte de pesca: Bocana

- Temperatura ambiente (TA): Mañana (-), tarde (+)
- Capacidad de nevado (CN): Nevado en la captura (+), nevado en tierra (-)
- Contaminación del embalse (CE): Punto más contaminado (+), punto menos contaminado (-)

### 3. Elegir las variables de respuesta que serán medidas

Las características de calidad que se derivan del análisis microbiológico en las que se espera se reflejen los cambios producidos en los factores controlables y no controlables, y que se pueden medir de manera confiable son las siguientes:



**Figura 3.3. Características de calidad que se derivan del análisis microbiológico**

### 4. Seleccionar el diseño experimental adecuado a los factores que se tienen y al objetivo del experimento

Se seleccionó el diseño factorial  $2^k$  (k factores con dos niveles de prueba cada uno) y dentro de este el modelo  $2^3$  por ser tres factores los que inciden en la variable respuesta y por tanto son necesario estudiar ( $2 \leq k \leq 5$ ). Consta de  $2^3 = 2*2*2 = 8$  tratamientos diferentes.

Para conocer en qué consisten las pruebas que se llevarán a cabo, Ver anexos 3, 4 y 5. El proceso se operará hasta que el pescado no se considere inocuo para la salud humana.

El número de capturas que se deterioran en el tratamiento usual por la actividad logística de aprovisionamiento representan el 60% del total, lo que equivale a una proporción de  $p_0 = 0.6$ . La estimación del número de pescados a correr en cada tratamiento se calcula con la fórmula (3.4):

$$m = (2.5)^2 \left( \frac{1 - p_0}{p_0} \right) \quad (3.4)$$

donde  $p_0$  es la proporción utilizada como base y  $(2.5)^2$  una constante.

$$m = (2.5)^2 \left( \frac{1 - 0.6}{0.6} \right) = 6.25 \left( \frac{0.4}{0.6} \right) = 4.36 \approx 5 \text{ pescados}$$

En este experimento  $p_0 = 0.6$  y cuando se sustituye en la relación anterior se obtiene que  $m = 5$  pescados por tratamiento para poder detectar los efectos que tiene en cada factor de manera satisfactoria; lo que se demuestra en la norma cubana mencionada anteriormente.

Con el diseño factorial completo  $2^3$  se pueden estudiar en total los  $2^{k-1}$  efectos, como muestra la siguiente expresión (3.5):

$$\binom{k}{r} = \frac{k!}{r!(k-r)!} \quad (3.5)$$

$$\binom{3}{1} = \frac{3!}{1!(3-1)!} = \frac{6}{1 * 2} = 3 \text{ efectos principales}$$

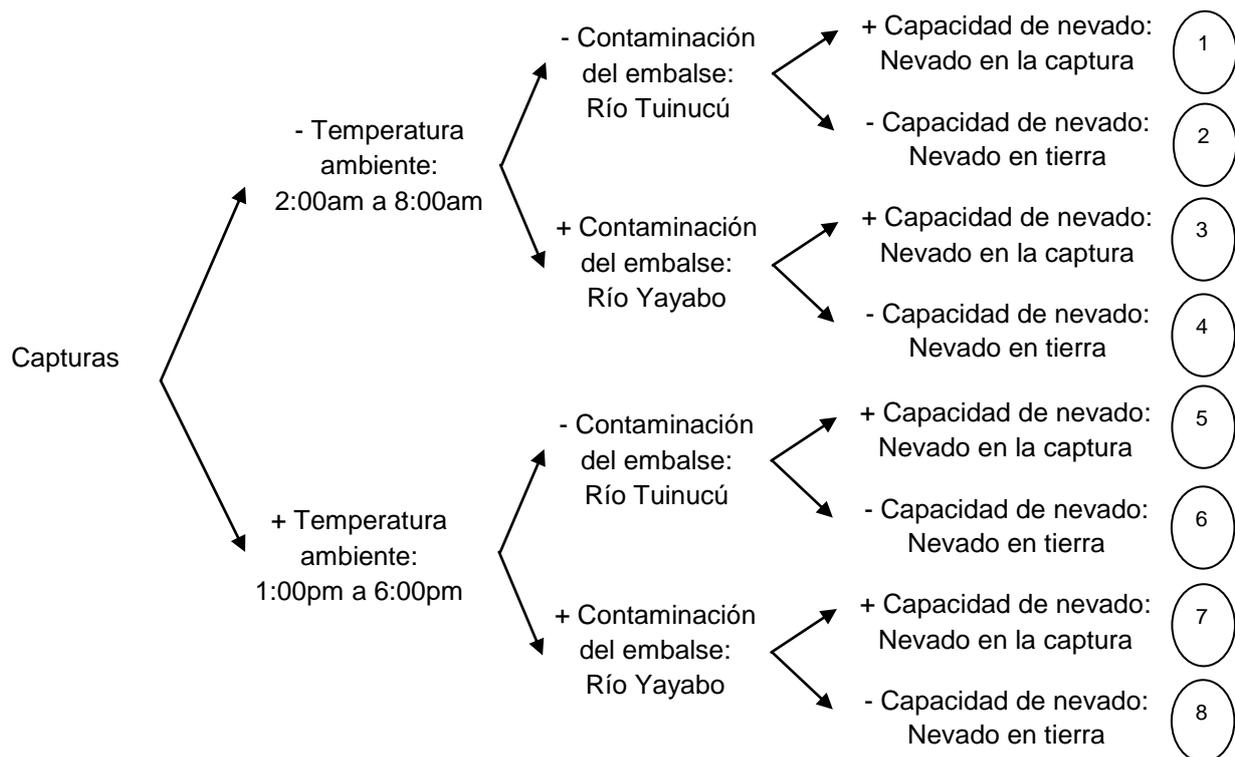
$$\binom{3}{2} = \frac{3!}{2!(3-2)!} = \frac{6}{2 * 1} = 3 \text{ interacciones dobles}$$

$$\binom{3}{3} = 1 \text{ interaccion triple}$$

Lo que da un total de 7 efectos en el factorial completo.

**Tabla 3.3. Familia de diseños factoriales  $2^3$**

Tratamiento	Notación de Yates	A	B	C
1	(1)	-	-	-
2	a	+	-	-
3	b	-	+	-
4	ab	+	+	-
5	c	-	-	+
6	ac	+	-	+
7	bc	-	+	+
8	abc	+	+	+



**Figura 3.4. Diagrama para determinar los distintos tratamientos que se llevarán a cabo**

**Tabla 3.4. Variables de entrada del diseño experimental**

	- Capacidad del Embalse		+ Capacidad del Embalse	
	+ Capacidad de Nevado	- Capacidad de Nevado	+ Capacidad de Nevado	- Capacidad de Nevado
- Temp. Ambiente	--+	---	-++	-+-
+ Temp. Ambiente	+++	+--	+++	++-

### 5. Planear y organizar el trabajo experimental

Se trabajará con el grupo de expertos seleccionado. Las muestras de pescado se capturarán en la presa Zaza perteneciente a la empresa pesquera “PESCASPIR” en los horarios de la mañana y la tarde, en el punto más y menos contaminado del embalse y se nevará una parte en la embarcación y el resto cuando llegue a tierra.

Luego se trasladarán dichas muestras hasta la Empresa Pesquera Industrial de Sancti Spíritus (EPISAN) donde se realizarán las pruebas correspondientes para determinar la presencia de bacterias u organismos en el pescado (Ver anexos 3, 4 y 5).

## 6. Realizar el experimento

En esta fase experimental se exponen los resultados obtenidos en las tablas 3.5, 3.6 y 3.7 a través de los análisis microbiológicos realizados.

**Tabla 3.5. Valores en No. bacterias/g del análisis microbiológico al parámetro de calidad microorganismos a 30°C de la carpa común**

Microorganismos a 30°C										
Días almacenados en hielo										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am
1	148	1800	1960	2258	2848	5240	62600	90600	99800	186432
2	742	2000	3260	3760	6920	59540	86800	215400		
7	410	940	5280	5760	5920	6300	12440	23200	198200	
8	422	1620	5660	5800	6000	6820	19200	105000		

Se determinó el límite máximo de microorganismo a 30°C que puede presentar la carpa común para considerarse inocua para el consumo humano (hasta  $1.0 \cdot 10^5$  ufc/g).

**Tabla 3.6. Valores por NMP/g del análisis microbiológico al parámetro de calidad coliformes a 45°C de la carpa común**

Coliformes a 45°C									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.25
2	0	0	0	0	0	0	0.43		
7	0	0	0	0	0.33				
8	0	0	0	0.92					

Los coliformes a 45°C en la carpa común, se consideran saludables mientras su valor sea 0, lo cual significa que a partir de la presencia de estos organismos bacteriológicos en la especie, se encuentra deteriorada.

**Tabla 3.7. Análisis microbiológico al parámetro de calidad crecimiento microbiano de la carpa común**

Análisis microbiológico									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am
1	148	1800	1960	2258	2848	5240	62600	90600	99800
2	742	2000	3260	3760	6920	59540	86800		
7	410	940	5280	5760	5920				
8	422	1620	5660	5800					

Como se determinó la presencia de coliformes a 45°C; en el tratamiento 1 al noveno día y en el tratamiento 2 al séptimo día, los valores del crecimiento microbiano se mantienen iguales hasta ese día para los límites superiores de calidad; para los límites inferiores de calidad se consideró inocuo hasta el quinto día, en el tratamiento 7 y hasta el cuarto día, en el tratamiento 8.

## **7. Análisis estadístico**

Mediante el análisis estadístico a través del ANOVA se demostró con un 99.0% de confianza para todos los parámetros microbiológicos resultantes que como sea:

H<sub>0</sub>: no existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables

H<sub>1</sub>: existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables

Para el análisis de los microorganismos a 30°C se cumple la condición de  $p \leq 0.01$  ( $p=0.000$ ) por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se prueba que existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables del diseño experimental.

En el análisis de coliformes a 45°C no se encontraron diferencias bajo las distintas condiciones ( $p=0.738$ ,  $p>0.01$ ) por esto se rechaza H<sub>1</sub>.

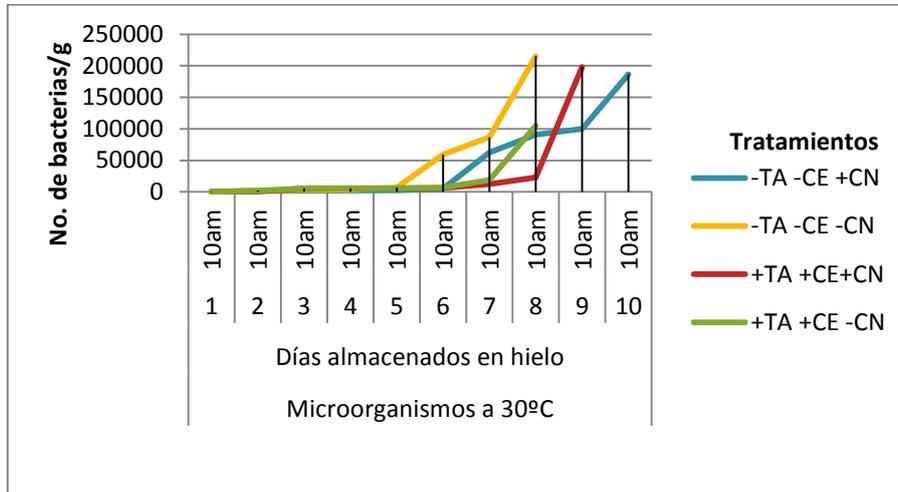
Para el análisis microbiológico general se acepta H<sub>1</sub> por lo cual sí existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables, lo que demuestra que la contaminación del embalse, la temperatura ambiente y la capacidad de nevado influyen en la toma de decisiones oportunas para el procesamiento industrial de la carpa común ( $p=0.000$ ,  $p>0.01$ ). (Ver anexo 15)

## **8. Interpretación**

Las curvas de deterioro conformadas en correspondencia con los valores bacteriológicos obtenidos y los días de almacenamiento en hielo de acuerdo a los parámetros de calidad medidos, como son los microorganismos a 30°C, los coliformes totales, los coliformes termotolerantes y el escherichia coli, se muestran a continuación en las figuras 3.5, 3.6 y 3.7:

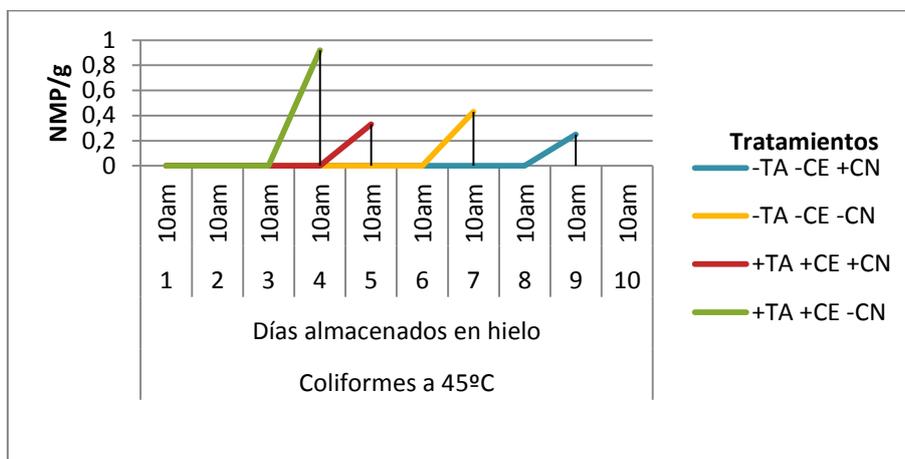
Solo se llevaron a cabo las curvas de deterioro de los límites superiores (tratamientos 1 y 2) e inferiores de calidad (tratamientos 7 y 8). Los demás

tratamientos no se hacen por el costo de los experimentos, asumiendo que los valores de comportamiento están dentro de los límites marcados por los tratamiento 1 y 8 que son los verdaderos límites.



**Figura 3.5. Análisis microbiológico de vida útil de la carpa común en relación con los microorganismos a 30°C de acuerdo a la cantidad de bacterias/g**

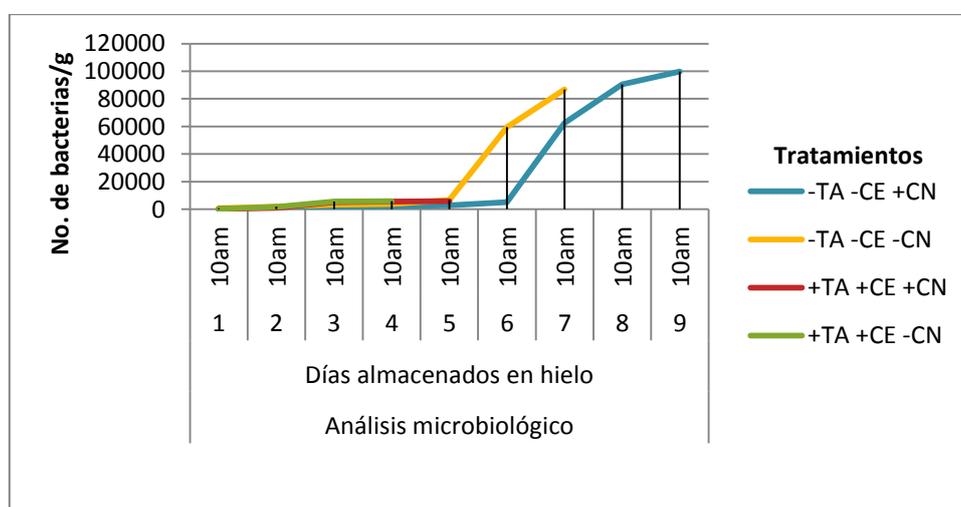
A través de este gráfico se demuestra que la característica de calidad de los microorganismos a 30°C de la carpa, medida por la cantidad de bacterias por gramo en las mejores condiciones, tiene una duración máxima de diez días en el horario de la mañana (ya que se considera deteriorado el pescado a partir de la presencia de  $1.0 \cdot 10^5$  microorganismos a 30°C) y como límite inferior de calidad en las condiciones más desfavorables sería de hasta ocho días de almacenamiento constante en hielo en las primeras horas de la mañana.



**Figura 3.6. Análisis microbiológico de vida útil de la carpa común en relación con los coliformes a 45°C de acuerdo al NMP/g**

El límite óptimo de calidad para los coliformes a 45°C, también llamados coliformes termotolerantes o coliformes fecales, de acuerdo al número más probable por gramo se determinó al noveno día de almacenamiento en hielo en el horario de la mañana, y como límite inferior de calidad se estableció al cuarto día al realizar el análisis en el horario de las diez de la mañana.

No se realizaron los demás análisis para coliformes totales y escherichia coli debido a que con los resultados del análisis de los coliformes a 45°C se puede llegar a la conclusión de si la carpa se considera inocua para el consumo humano o no, de no existir la presencia de coliformes a 45°C no existe tampoco la presencia de coliformes totales o escherichia coli y viceversa.



**Figura 3.7. Análisis microbiológico de vida útil de la carpa común en relación con el No. de bacterias/g**

Mediante el análisis microbiológico general se determinó que la especie carpa común en las condiciones ideales de pre cosecha y post cosecha tiene una duración total de nueve días de almacenamiento en hielo en el horario de la mañana, de lo contrario se considera inocua para el consumo humano hasta el cuarto día a las 10:00am.

### 9. Conclusiones del análisis microbiológico

De acuerdo a todos los análisis realizados se llegó a la conclusión que la carpa común en relación con el crecimiento microbiano tiene una duración máxima en las condiciones óptimas de manipulación almacenamiento y transportación del medio de cultivo, entre otras, de 9 días; por lo que para generalizar el resultado del diseño experimental y de esta forma lograr que las mejoras se mantengan,

se deben seguir las normas higiénicas sanitarias correctas de manipulación, conservar la cadena de frío desde la captura y en el caso de no tener las condiciones ideales para esto, nevar apenas llegue la embarcación a tierra. Siempre se debe tener en cuenta el horario en que se realizan las capturas, los puntos de pesca, la edad, peso de la carpa y el arte de pesca.

## **Diseño de experimento para el análisis sensorial**

### **1. Determinar el problema de calidad**

Uno de los problemas que causan mayores pérdidas post cosecha a la logística de aprovisionamiento de la industria pesquera acuícola son los relacionados con el deterioro organoléptico en el pescado producto de las características del medio de cultivo, a las prácticas de manipulación y las características de la especie; las cuales afectan la inocuidad y la calidad alimentaria. Por lo tanto el objetivo del diseño experimental es disminuir las mismas por medio de los análisis correspondientes para la toma de decisiones oportunas.

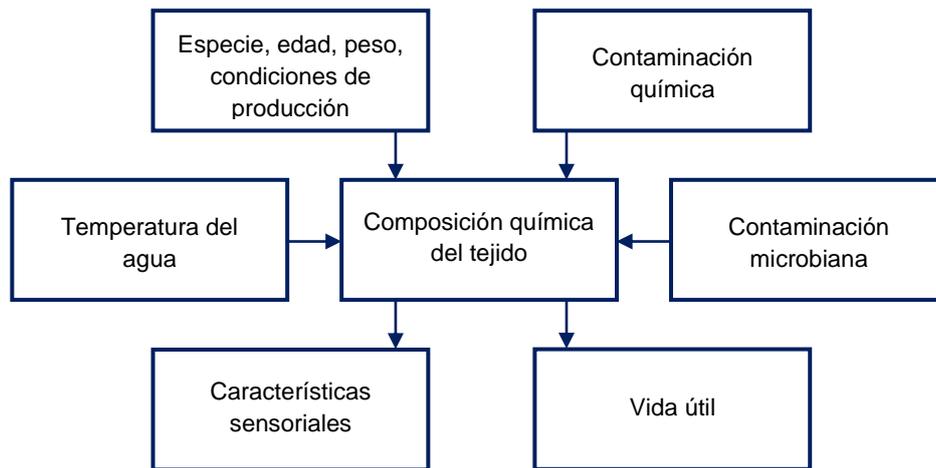
En la empresa objeto de estudio no se manejan los registros de las pérdidas post cosechas ocasionadas, por esta razón se toman como referencia los estudios realizados en los países en vía de desarrollo.

Con base en lo antes expuesto se definen como indicadores para medir el éxito del proyecto de mejora, los siguientes:

- rendimiento industrial;
- relación tiempo-temperatura; y
- utilización del hielo por toneladas capturadas

### **2. Determinar factores a estudiar e investigar**

Mediante el cálculo del coeficiente de Kendall se demuestra que existe concordancia en el juicio de los expertos (Ver anexo 13). Por lo tanto dentro de los factores que influyen de manera significativa en la variable de respuesta se encuentran las condiciones de producción y la contaminación del embalse (contaminación química y microbiana), que se consideran variables de entrada. Los demás parámetros no varían en el experimento.



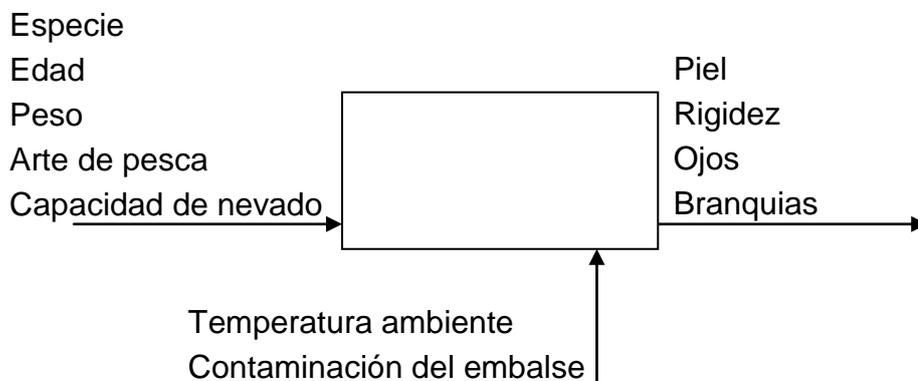
**Figura 3.8. Factores pre cosecha que afectan la frescura de los peces y la calidad alimentaria**

Los niveles de prueba para cada factor son:

- Especie: carpa común
- Edad: 2 - 3 años
- Peso: 1.8 - 2.3 kg
- Condiciones de producción:
  - Arte de pesca: Bocana
  - Temperatura ambiente (TA): Mañana (-), tarde (+)
  - Capacidad de nevado (CN): Nevado en la captura (+), nevado en tierra (-)
  - Contaminación del embalse (CE): Punto más contaminado (+), punto menos contaminado (-)

### 3. Elegir las variables de respuesta que serán medidas

Las características de calidad que se derivan del análisis sensorial en las que se espera se reflejen los cambios producidos en los factores controlables y no controlables, y que se pueden medir de manera confiable son las siguientes:



**Figura 3.9. Características de calidad que se derivan del análisis sensorial**

#### 4. Seleccionar el diseño experimental adecuado a los factores que se tienen y al objetivo del experimento

Se seleccionó el diseño factorial  $2^k$  (k factores con dos niveles de prueba cada uno) y dentro de este el modelo  $2^3$  por ser tres factores los que inciden en la variable respuesta y por tanto son necesario estudiar ( $2 \leq k \leq 5$ ). Consta de  $2^3 = 2*2*2 = 8$  tratamientos diferentes.

Para conocer en qué consisten las pruebas que se llevarán a cabo (Ver anexo 6). El proceso se operará hasta que el pescado no se considere inocuo para la salud humana.

El número de capturas que se deterioran en el tratamiento usual por la actividad logística de aprovisionamiento representan el 60% del total, lo que equivale a una proporción de  $p_0 = 0.6$ . La estimación del número de pescados a correr en cada tratamiento se calcula con la fórmula (3.4), donde  $p_0$  es la proporción utilizada como base.

$$m = (2.5)^2 \left( \frac{1 - 0.6}{0.6} \right) = 6.25 \left( \frac{0.4}{0.6} \right) = 4.36 \approx 5 \text{ pescados}$$

En este experimento  $p_0 = 0.6$  y cuando se sustituye en la relación anterior se obtiene que  $m = 5$  pescados por tratamiento para poder detectar los efectos que tiene en cada factor de manera satisfactoria, lo que se demuestra en la norma cubana mencionada anteriormente.

Con el diseño factorial completo  $2^3$  se pueden estudiar en total los  $2^{k-1}$  efectos siguientes:

$$\binom{3}{1} = \frac{3!}{1!(3-1)!} = \frac{6}{1*2} = 3 \text{ efectos principales}$$

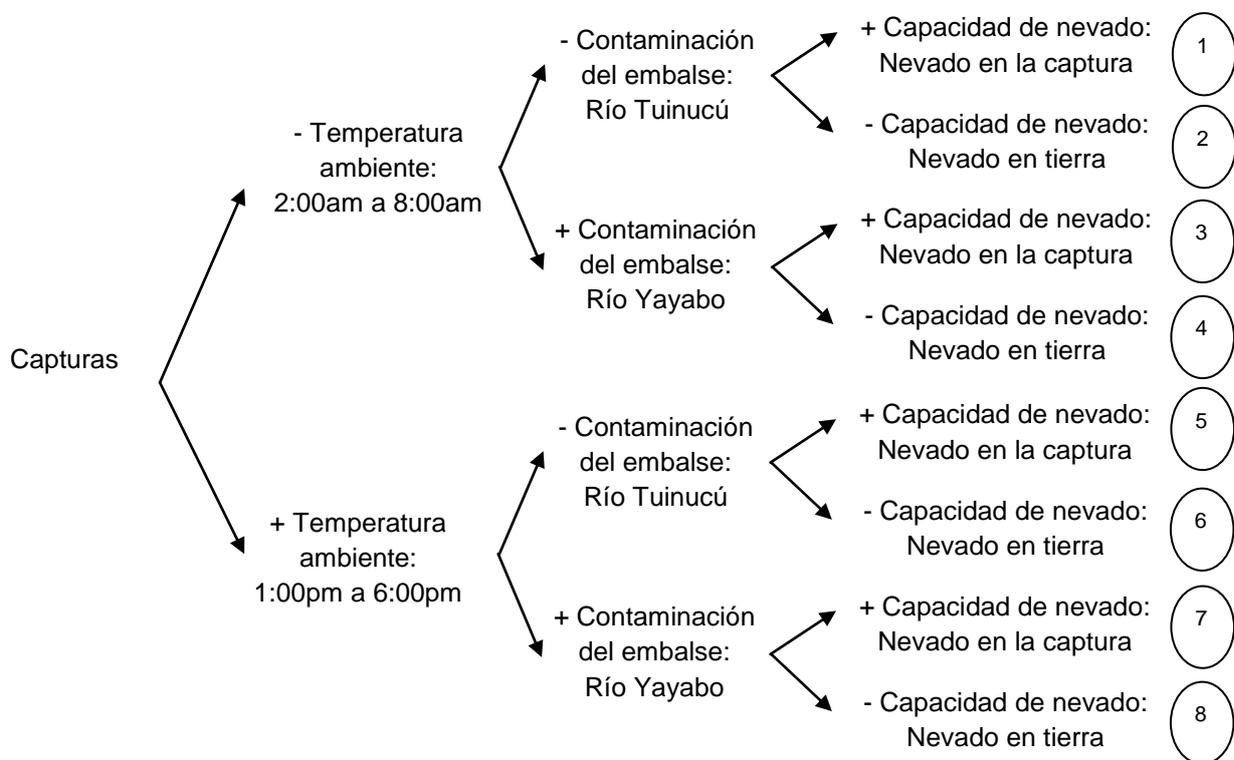
$$\binom{3}{2} = \frac{3!}{2!(3-2)!} = \frac{6}{2*1} = 3 \text{ interacciones dobles}$$

$$\binom{3}{3} = 1 \text{ interaccion triple}$$

Lo que da un total de 7 efectos en el factorial completo.

**Tabla 3.8. Familia de diseños factoriales 2<sup>3</sup>**

Tratamiento	Notación de Yates	A	B	C
1	(1)	-	-	-
2	a	+	-	-
3	b	-	+	-
4	ab	+	+	-
5	c	-	-	+
6	ac	+	-	+
7	bc	-	+	+
8	abc	+	+	+



**Figura 3.10. Diagrama para determinar los distintos tratamientos que se llevarán a cabo**

**Tabla 3.9. Variables de entrada del diseño experimental**

	- Capacidad del Embalse		+ Capacidad del Embalse	
	+ Capacidad de Nevado	- Capacidad de Nevado	+ Capacidad de Nevado	- Capacidad de Nevado
- Temp. Ambiente	--+	---	-++	--+
+ Temp. Ambiente	+++	+-	+++	+-

## 5. Planear y organizar el trabajo experimental

Se trabajará con el grupo de expertos seleccionado, las muestras de pescado se capturarán en los horarios de la mañana y la tarde, en el punto más y menos contaminado del embalse y se nevará una parte en la embarcación y el resto cuando llegue a tierra.

Luego se trasladarán dichas muestras hasta la empresa (EPISAN) donde se realizarán las pruebas correspondientes para determinar el grado de deterioro mediante un esquema de calificación (Ver anexo 6).

## 6. Realizar el experimento

Con los datos obtenidos en las etapas anteriores y a través del QIM se llevaron a cabo los análisis sensoriales necesarios para detectar el deterioro de la carpa hasta el momento en que no se considera inocua para la salud humana. A continuación se muestran las tablas 3.10, 3.11, 3.12, 3.13 y 3.14 con los resultados del laboratorio.

**Tabla 3.10. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad fresca de la piel de la carpa común**

	Piel								
	Días almacenados en hielo								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am	10am
1	0	0	0	0	0	1	2	4	7
2	0	0	0	0	2	4	5	7	
3	0	0	0	3	3	5	7		
4	0	0	2	3	5	6	7		
5	0	0	0	0	0	3	4	7	
6	0	0	0	0	3	4	7		
7	0	0	1	3	4	4	7		
8	0	0	3	3	5	7			

El parámetro piel de la carpa común tiene una puntuación por deméritos de (0-7) e incluye la característica de calidad de apariencia/color que va de (0-2), mucus de (0-2) y el olor de (0-3), estos resultados demuestran la variación que sufre la especie una vez capturada hasta que no se considera inocua para la salud pública.

**Tabla 3.11. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad rigidez/textura de la carpa común**

Rigidez/ textura									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	1	1	1	1	2	2	3
2	0	1	1	1	1	1	2	3	
3	0	0	1	1	1	1	2	3	
4	0	0	1	1	2	2	3		
5	0	1	1	1	1	2	2	3	
6	0	1	1	1	2	2	3		
7	0	0	1	1	2	2	3		
8	0	1	1	1	2	2	3		

La rigidez/textura de la carpa común tiene una puntuación por deméritos de (0-3) donde en 0 se encuentra en rigor mientras que en el valor 3 está muy suave, los resultados de la tabla 3.11 reflejan el deterioro por el que pasa la misma.

**Tabla 3.12. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad ojos de la carpa común**

Ojos									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	1	2	2	3	4	5
2	0	1	2	2	3	3	5		
3	0	0	0	2	2	3	4	5	
4	0	0	1	2	3	4	5		
5	0	0	1	2	2	3	4	5	
6	0	1	2	3	3	5			
7	0	0	1	2	3	4	5		
8	0	0	1	2	3	5			

El parámetro de calidad de los ojos de la carpa común tiene una puntuación por deméritos de (0-5), y en él se incluyen las características de calidad córnea de (0-3) y pupila de (0-2).

**Tabla 3.13. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad fresca de las branquias de la carpa común**

Branquias									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	1	4	7
2	0	0	0	0	1	4	7		
3	0	0	0	2	3	6	7		
4	0	0	3	4	6	7			
5	0	0	0	0	0	2	5	7	
6	0	0	0	1	4	7			
7	0	0	1	3	4	7			
8	0	0	3	4	5	7			

Dentro del parámetro branquias de la carpa común se encuentra la adherencia que va de (0-3), el color de (0-2) y olor de (0-2) para un total de (0-7) puntos.

**Tabla 3.14. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad fresca de la carpa común**

Análisis sensorial									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	1	2	3	4	8	14	22
2	0	2	3	3	7	12	19	22	
3	0	0	1	8	9	15	20	22	
4	0	0	6	10	16	19	22		
5	0	1	2	3	3	10	15	22	
6	0	2	3	5	11	18	22		
7	0	0	4	9	13	17	22		
8	0	1	8	10	15	21	22		

El análisis sensorial general con una puntuación por deméritos de (0-22) demostró que la carpa común en las condiciones ideales puede alcanzar hasta nueve días de almacenamiento en hielo en el horario de la mañana, mientras que en condiciones desfavorables solo hasta siete días en el mismo horario.

El resto de los datos que fueron necesarios para conformar estas tablas se pueden observar en el anexo 14.

## 7. Análisis estadístico

Mediante el análisis estadístico a través del ANOVA se demostró con un 99.0% de confianza para todos los parámetros sensoriales resultantes que como sea:

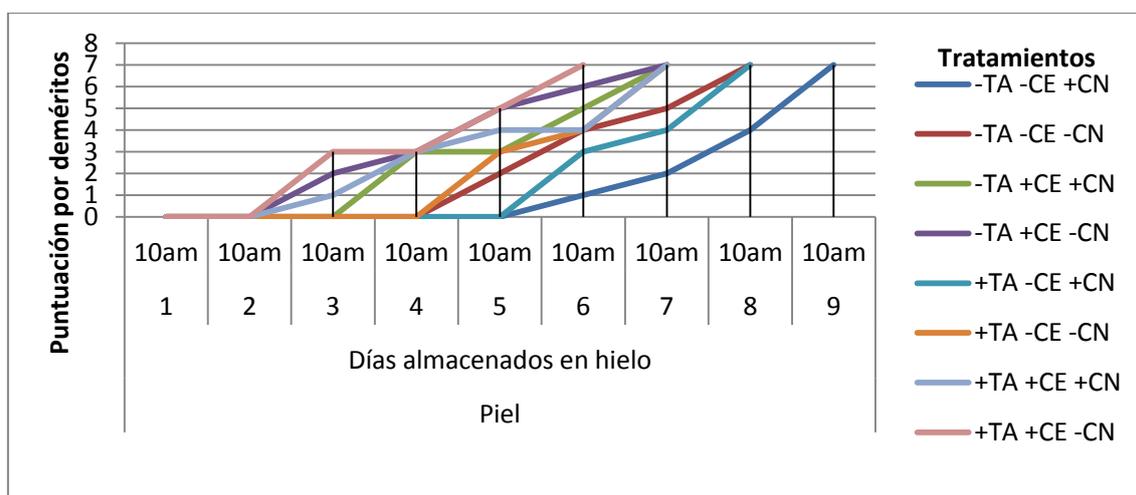
H<sub>0</sub>: no existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables

H<sub>1</sub>: existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables

Para el análisis de la piel, rigidez/textura, ojos, branquias y el análisis sensorial general se cumple la condición de  $p \leq 0.01$  ( $p=0.000$ ) por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se prueba que existen diferencias bajo las condiciones más favorables o menos desfavorables del diseño experimental (Ver anexo 16).

## 8. Interpretación

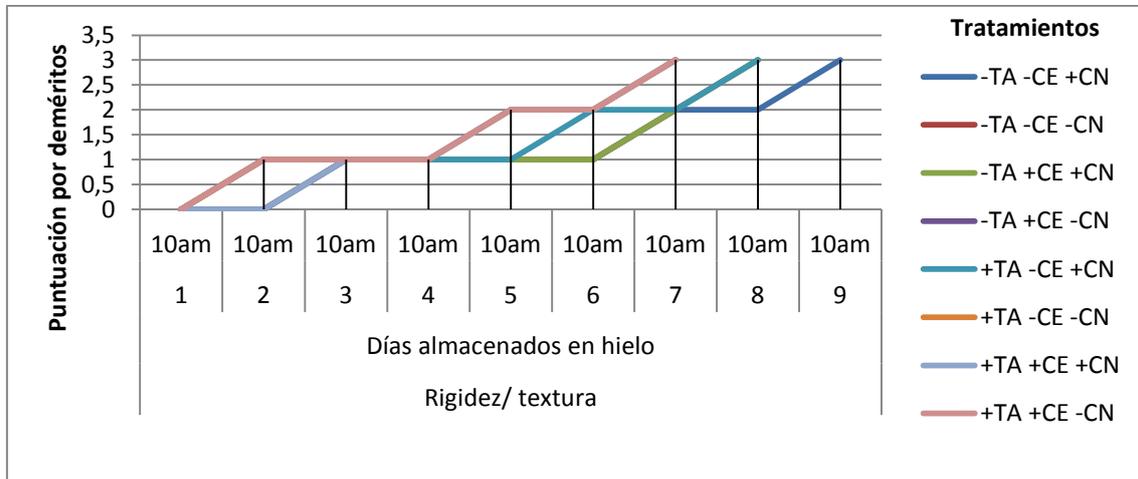
Las curvas de deterioro conformadas en correspondencia con los valores de deméritos obtenidos y los días de almacenamiento en hielo de acuerdo a los parámetros de calidad medidos, como son la piel, la rigidez, los ojos, las branquias y el análisis sensorial en general, se muestran a continuación en las figuras 3.11, 3.12, 3.13, 3.14 y 3.15:



**Figura 3.11. Análisis sensorial de vida útil de la carpa común en relación con la piel de acuerdo a la puntuación por deméritos**

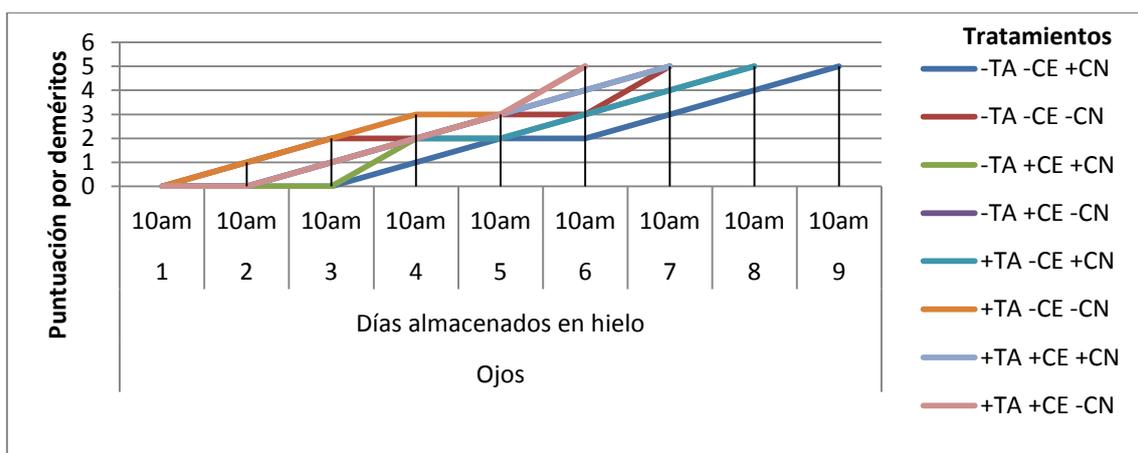
Mediante este gráfico se puede observar que las características de calidad piel de la carpa común en óptimas condiciones tiene una vida útil de hasta nueve

días almacenada en hielo lo que se establece como el límite superior de calidad, el límite inferior de calidad de acuerdo a las condiciones del embalse, la capacidad de nevado y las altas temperaturas sería de hasta seis días de almacenamiento en hielo.



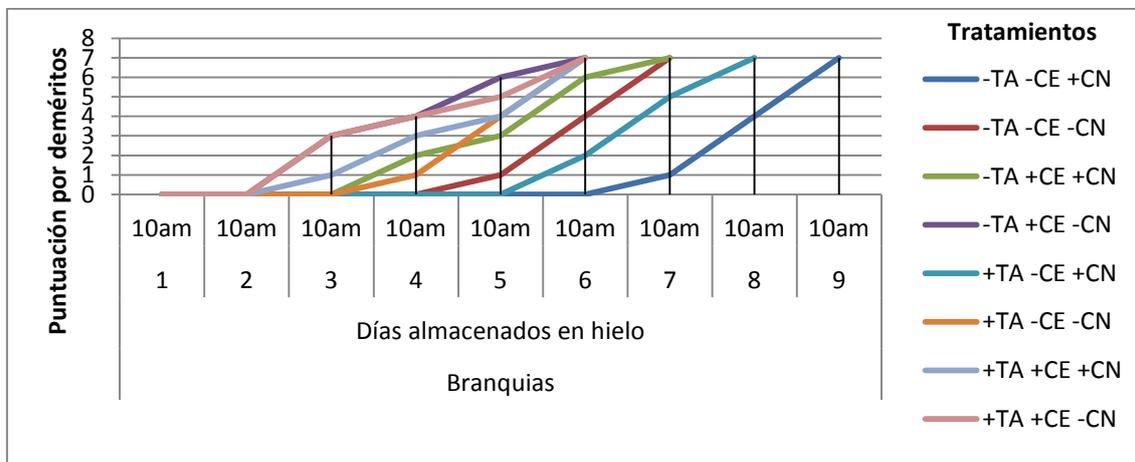
**Figura 3.12. Análisis sensorial de vida útil de la carpa común en relación con la rigidez de acuerdo a la puntuación por deméritos**

A través de este gráfico se demuestra que la característica de calidad rigidez/textura de la carpa común en las mejores condiciones posibles tiene una duración de hasta nueve días de almacenamiento en hielo, lo que se establece como el límite superior de calidad, el límite inferior de calidad en las condiciones más desfavorables sería de hasta siete días de almacenamiento en hielo en el horario de la mañana.



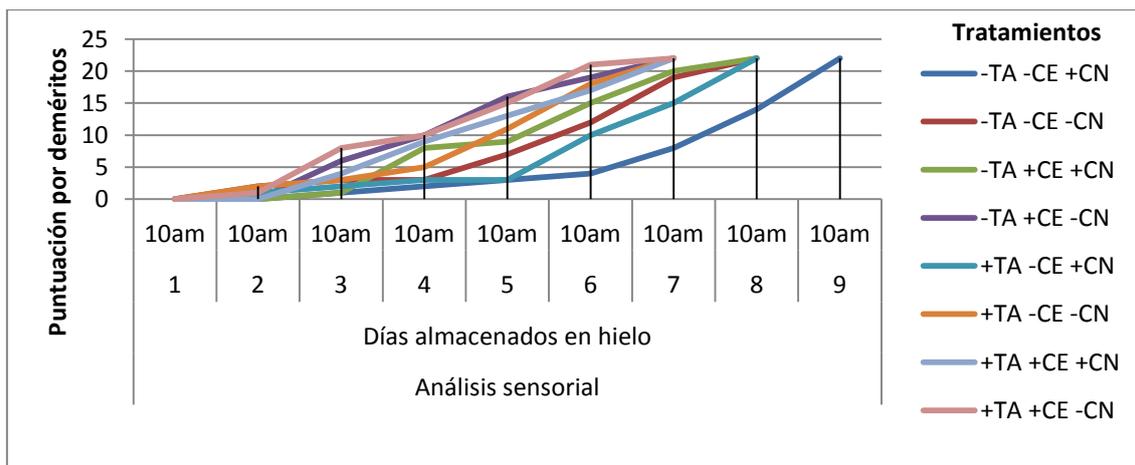
**Figura 3.13. Análisis sensorial de la carpa común en relación con el deterioro de los ojos de acuerdo a la puntuación por deméritos**

El límite óptimo de calidad para la carpa común mediante el análisis de los ojos, se determinó al noveno día de almacenamiento en hielo, y como límite inferior de calidad se estableció al sexto día al realizar el análisis en el horario de las diez de la mañana.



**Figura 3.14. Análisis sensorial de la carpa común en relación con el deterioro de las branquias de acuerdo a la puntuación por deméritos**

Con el análisis de este gráfico se llegó a la conclusión de que las branquias en las mejores condiciones de temperatura, contaminación del embalse y capacidad de nevado tiene una duración de hasta nueve días de almacenamiento constante en hielo, mientras que en condiciones desfavorables la vida útil se limita hasta los seis días de almacenamiento en hielo.



**Figura 3.15. Análisis sensorial de la carpa común de acuerdo a la puntuación por deméritos**

Mediante el análisis sensorial general se determinó que en las condiciones ideales de pre cosecha y post cosecha tiene una duración total de nueve días de almacenamiento constante en hielo, mientras que en las condiciones más desfavorables se considera inocua para el consumo humano hasta el séptimo día.

Los demás gráficos por parámetros se muestran en el anexo 14.

### 9. Conclusiones del análisis sensorial.

De acuerdo a todos los análisis realizados se llegó a la conclusión que la carpa común en relación con la puntuación por deméritos tiene una duración máxima en condiciones óptimas de manipulación, almacenamiento y transportación de la materia prima, entre otras, de 9 días; por lo que para generalizar el resultado del diseño experimental y de esta forma lograr que las mejoras se mantengan, se deben seguir las normas higiénicas sanitarias correctas de manipulación, conservar la cadena de frío desde la captura y en el caso de no tener las condiciones ideales para esto, nevar apenas llegue la embarcación a tierra. Siempre se debe tener en cuenta el horario en que se realizan las capturas, los puntos de pesca, la edad, peso de la carpa y el arte de pesca.

### 3.3. Determinar la relación entre las curvas de deterioro y el QIM

Para determinar la relación existente entre las curvas de deterioro y el QIM se tomó en cuenta solo los límites máximos y mínimos de vida útil, los cuales se muestran en las tablas 3.15, 3.16, 3.17 y 3.18.

**Tabla 3.15. Relación entre las curvas de deterioro y el QIM de los límites máximos de vida útil**

Tratamiento 1			
Día	Horario	Puntuación por deméritos	Crecimiento microbiano
		Máximo	Máximo
1	10am	0	148
2	10am	0	1800
3	10am	1	1960
4	10am	2	2258
5	10am	3	2848
6	10am	4	5240
7	10am	8	62600
8	10am	14	90600
9	10am	22	99800

### Límite máximo de vida útil:

Puntuación por deméritos (análisis sensorial): x

Crecimiento microbiano (análisis microbiológico): y

Valor mínimo y máximo de x: 0 y 22

Valor mínimo y máximo de y: 148 y 99800

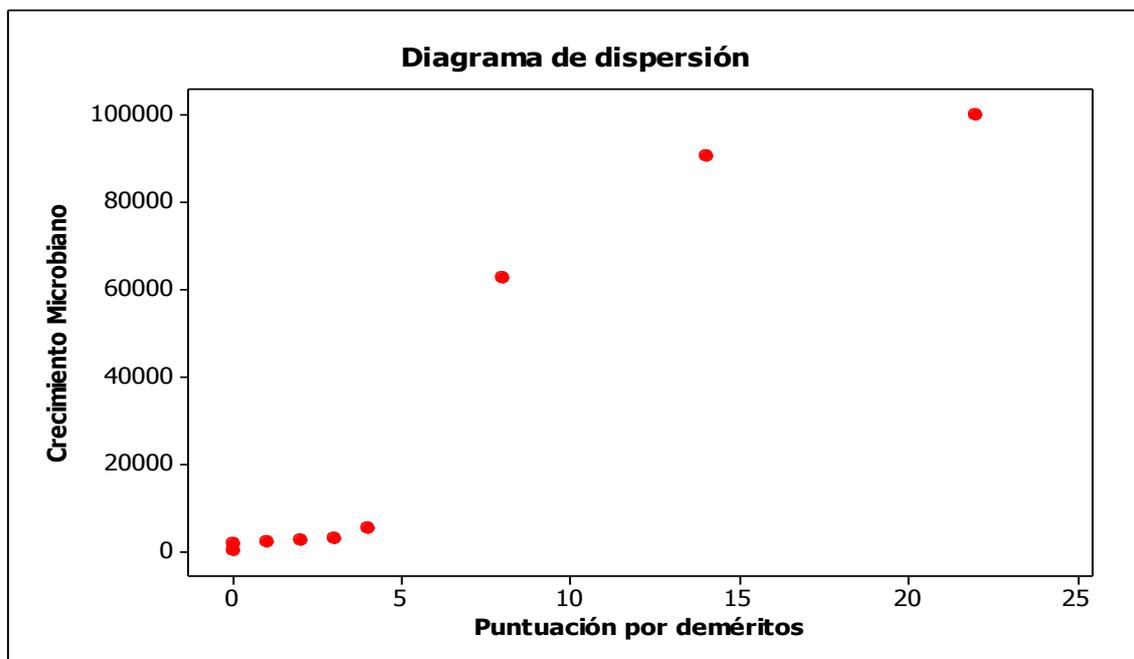


Figura 3.17. Diagrama de dispersión para los límites máximos de vida útil

A través del diagrama se puede observar que el valor de la variable y (crecimiento microbiano) aumenta con el valor de la variable x (puntuación por deméritos) lo que se clasifica como una correlación fuerte positiva.

Tabla 3.16. Relación entre las curvas de deterioro y el QIM de los límites máximos de vida útil

Tratamiento 2			
Día	Horario	Puntuación por deméritos	Crecimiento microbiano
		Máximo	Máximo
1	10am	0	742
2	10am	2	2000
3	10am	3	3260
4	10am	3	3760
5	10am	7	6920
6	10am	12	59540
7	10am	19	86800
8	10am	22	

### Límite máximo de vida útil:

Puntuación por deméritos (análisis sensorial): x

Crecimiento microbiano (análisis microbiológico): y

Valor mínimo y máximo de x: 0 y 22

Valor mínimo y máximo de y: 742 y 86800

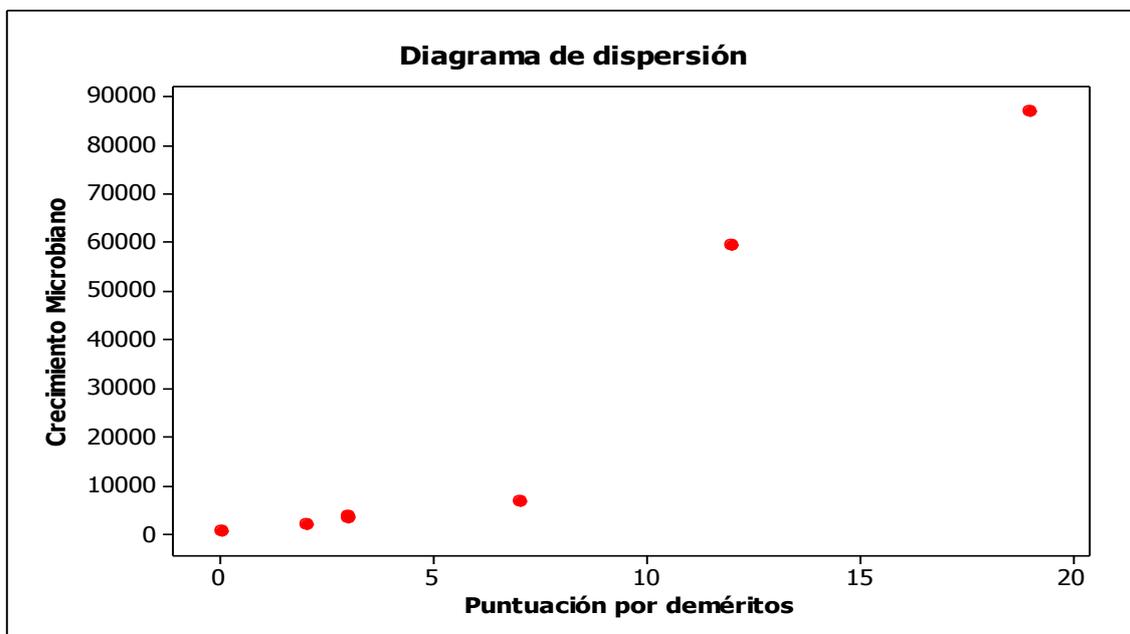


Figura 3.18. Diagrama de dispersión para los límites mínimos de vida útil

Con el examen de los datos observados en el diagrama se puede llegar a la conclusión que el valor del crecimiento microbiano aumenta con el valor de la puntuación por deméritos lo que se clasifica como una correlación fuerte positiva.

Tabla 3.17. Relación entre las curvas de deterioro y el QIM de los límites mínimos de vida útil

Tratamiento 7			
Día	Horario	Puntuación por deméritos	Crecimiento microbiano
		Mínimo	Mínimo
1	10am	0	410
2	10am	0	940
3	10am	4	5280
4	10am	9	5760
5	10am	13	5920
6	10am	17	
7	10am	22	

### Límite mínimo de vida útil:

Puntuación por deméritos (análisis sensorial): x

Crecimiento microbiano (análisis microbiológico): y

Valor mínimo y máximo de x: 0 y 22

Valor mínimo y máximo de y: 410 y 5920

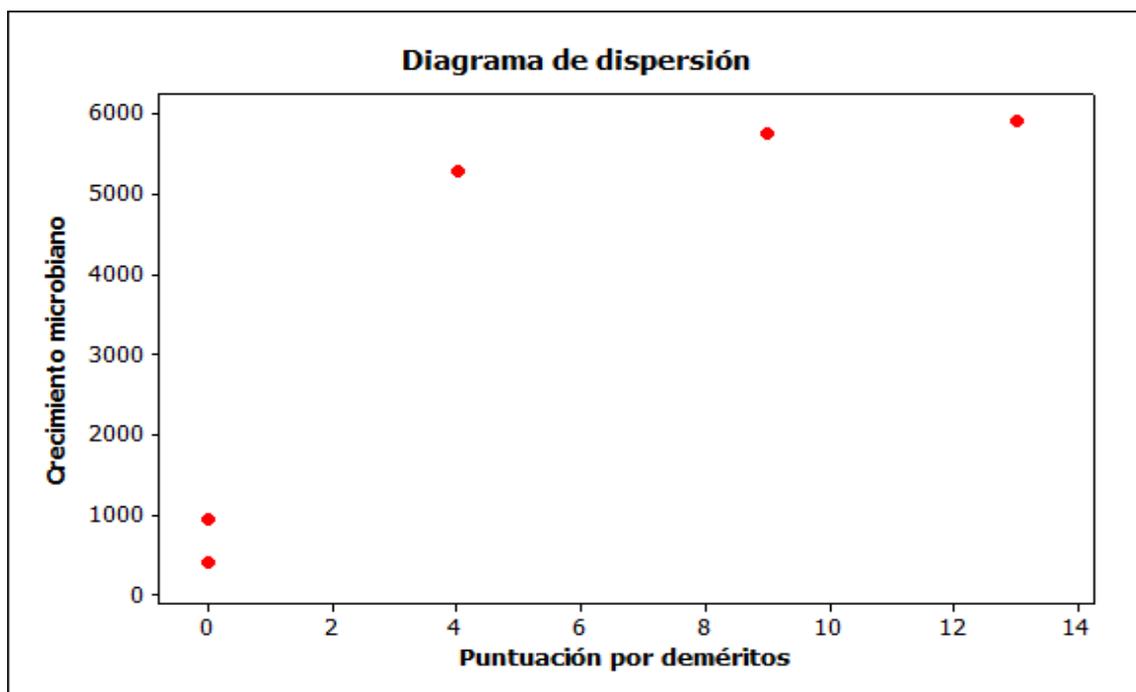


Figura 3.19. Diagrama de dispersión para los límites mínimos de vida útil

A través del diagrama se puede observar que el valor de la variable y (crecimiento microbiano) aumenta con el valor de la variable x (puntuación por deméritos) lo que se clasifica como una correlación fuerte positiva.

Tabla 3.18. Relación entre las curvas de deterioro y el QIM de los límites mínimos de vida útil

Tratamiento 8			
Día	Horario	Puntuación por deméritos	Crecimiento microbiano
		Mínimo	Mínimo
1	10am	0	422
2	10am	1	1620
3	10am	8	5660
4	10am	10	5800
5	10am	15	
6	10am	21	
7	10am	22	

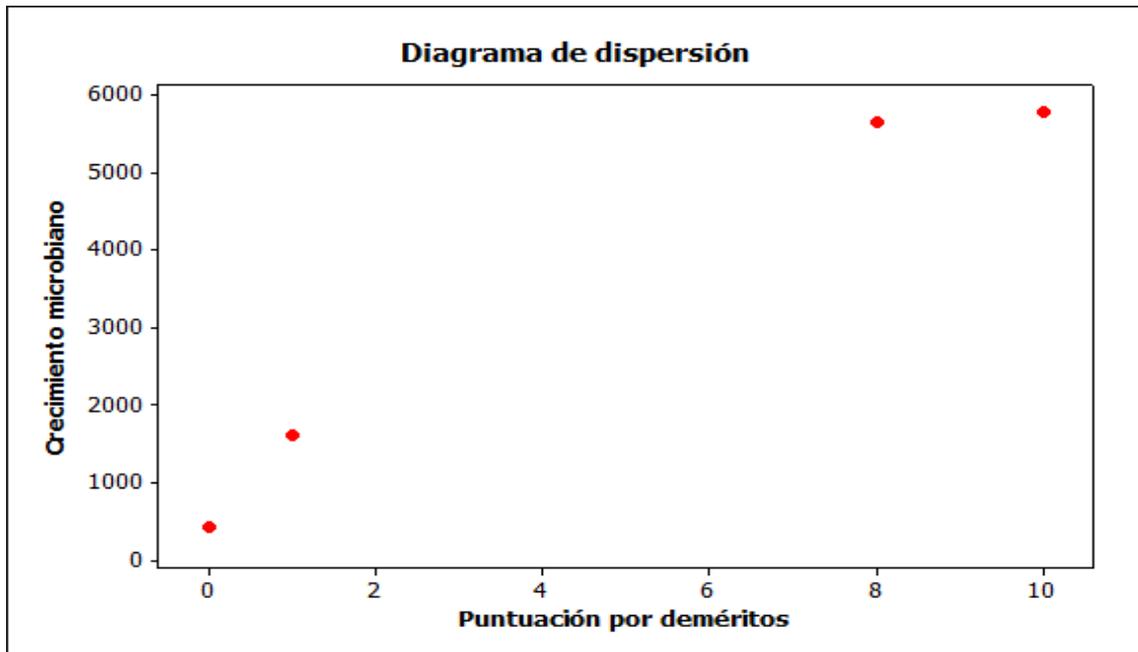
### Límite mínimo de vida útil:

Puntuación por deméritos (análisis sensorial): x

Crecimiento microbiano (análisis microbiológico): y

Valor mínimo y máximo de x: 0 y 22

Valor mínimo y máximo de y: 422 y 5800



**Figura 3.20. Diagrama de dispersión para los límites mínimos de vida útil**

Mediante el diagrama se puede observar que el valor del crecimiento microbiano aumenta con el valor de la puntuación por deméritos lo que se clasifica como una correlación fuerte positiva.

### 3.4. Conclusiones del capítulo

La aplicación parcial del procedimiento propuesto permitió a la empresa:

1. Identificar los factores pre cosecha y post cosecha que afectan de forma significativa la calidad e inocuidad alimentaria, constituyendo los más importantes la especie, condiciones de producción, temperatura del agua, contaminación del embalse, malas prácticas de manipulación y transportación, fase tiempo-temperatura y conservación de la cadena de frío.

2. La toma de decisiones oportunas en relación con las curvas de deterioro por parámetros de la carpa, lo que contribuye a la disminución de las pérdidas post cosecha.
3. Determinar a través del QIM la vida útil que presenta la carpa para asegurar la frescura y la calidad, lo que permite con un ahorro significativo de tiempo y recursos, la toma de decisiones oportunas y el aumento de la producción alimentaria.

## **Conclusiones generales**

1. El estudio bibliográfico arrojó las concepciones teóricas necesarias para el mejoramiento de la calidad en la logística de aprovisionamiento a las industrias pesqueras acuícolas basado en el uso de modelos predictivos de vida útil.
2. Se propone un procedimiento para la obtención de un modelo predictivo de calidad en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola de Sancti Spíritus, que prevea la durabilidad de los productos pesqueros en función del tiempo y la temperatura de almacenamiento, para la toma de decisiones oportunas que permita reducir las pérdidas post cosecha.

La aplicación parcial del procedimiento propuesto, crea las condiciones para la toma de decisiones basado en el QIM en función del nivel de deterioro que presente la carpa.

## **Recomendaciones**

1. Culminar la aplicación del procedimiento propuesto, mediante la utilización de métodos bioquímicos y químicos para la carpa en las industrias pesqueras cubanas.
2. Implementar un programa de capacitación a todos los directivos, especialistas, técnicos y obreros involucrados en la mejora de la gestión de la calidad en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola.
3. Divulgar los resultados de esta investigación mediante la publicación en revistas científicas referenciadas en el tema y la presentación en eventos científicos.

## Bibliografía

1. (NC), O. N. D. N. 2013. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes termotolerantes. Técnica del número más probable (NMP). *NC 968: 2013*. Cuba.
2. AGUILAR MORALES, J. 2012. *Métodos de Conservación de Alimentos*.
3. ALASALVAR, C., MIYASHITA, K., SHAHIDI, F. & WANASUNDARA, U. 2011. *Handbook of seafood quality, safety and health applications*, John Wiley & Sons.
4. ANMAT 2007. El Boletín del Inspector Bromatológico. *El Boletín*.
5. BERNARDI, D. C., TEIXEIRA MÁRSICO, E. & QUEIROZ DE FREITAS, M. 2013b. Quality Index Method (QIM) to assess the freshness and shelf life of fish. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56, 587-598.
6. BETANCOURT, J. D. 2016. *Diseño de un procedimiento en la logística de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola.*, Universidad de Sancti Spíritus: José Martí Pérez.
7. BINTE ISLAM, S. & MAMUN HABIB, D. M. 2013. Supply Chain Management in Fishing Industry: A Case Study. *International Journal of Supply Chain Management*
8. CABELLOS GARCÍA, J. M. 2015. *Aplicación de hidrocoloides, biopreservación, liofilización y radiación en conservación de pescado.*, Universidad Nacional de Trujillo.
9. CASTILLO JIMÉNEZ, D. T. 2015. *Mejoramiento de la calidad en la gestión logística de aprovisionamiento a la industria pesquera.*, Universidad de Sancti Spíritus "José Martí Pérez".
10. CHENG, J., SUN, D.-W., ZENG, X.-A. & LIU, D. 2013. Recent advances in methods and techniques for freshness quality determination and evaluation of fish and fish fillets: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
11. DE SILVA, S. S. 2000. A Global Perspective of Aquaculture in the New Millennium. 431-459.
12. FAO 2016. *The State of World Fisheries and Aquaculture*, Roma, Italia.
13. GINEBRA, S., SECRETARÍA CENTRAL DE ISO 2015. *Sistemas de gestión de la calidad — Fundamentos y vocabulario*.
14. GUSTAVSSON, J., CEDERBERG, C., SONESSON, U., VAN OTTERDIJK, R. & MEYBECK, A. 2011. Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo. Alcance, causas y prevención
15. GUTIÉRREZ PULIDO, H. & DE LA VARA SALAZAR, R. 2008. *Análisis y Diseño de Experimentos*, México, McGraw-Hill.
16. HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, A., ALCESTE OLIVIERO, C., SANCHEZ, R., JORY, D., VIDAL, L. & CONSTAIN FRANCO, L. F. 2000. Aquaculture Development Trends in Latin America and the Caribbean *In*: ARTHUR, M. J. R. (ed.) *Aquaculture in the Third Millennium*. Bangkok, Thailand.
17. HUSS, H. H. 1988. *El Pescado Fresco: Su Calidad y Cambios de Calidad*.
18. LEMMA, Y., KITAW, D. & GATEW, G. 2014. Loss in Perishable Food Supply Chain: An Optimization Approach Literature Review. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 5.
19. LIPINSKI, B., HANSON, C., LOMAX, J., KITINOJA, L., WAITE, R. & SEARCHINGER, T. 2013. Reducing Food Loss and Waste. *World Resources Institute*.
20. MILLARES DORADO, N. & DAMAS PÉREZ, T. 2013. Estado Actual de las Carpas Chinas en la Acuicultura Cubana.
21. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (NC) & ISO 2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examinations. Part1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. *NC-ISO 6887-1: 2002*. Cuba: ISO 6887-1:1999, IDT.
22. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (NC) & ISO 2010. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de

- coliformes. Técnica del número más probable. *NC-ISO 4831: 2010*. Cuba: ISO 4831:2006, IDT.
23. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (NC) & ISO 2011. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de *Escherichia Coli* presuntiva. Técnica del número más probable (NMP). *NC-ISO 7251: 2011*. Cuba: ISO 7251:2005, IDT.
  24. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN (NC) & ISO 2014. Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la enumeración de microorganismos. Parte 1: Conteo de colonias a 30°C por la técnica de placa vertida. *NC-ISO 4833-1: 2014*. Cuba: ISO 4833-1: 2013, IDT.
  25. ONEI, O. N. D. E. E. I. 2015. Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Pesca. *Anuario Estadístico de Cuba*.
  26. ONEI, O. N. D. E. E. I. 2016. Agricultura, Ganadería, Silvicultura y Pesca. *Anuario Estadístico de Cuba*.
  27. PÉREZ NODA, L. 2015. *Mejoramiento de la calidad en el proceso productivo de productos acuícolas en la empresa (PESCASPIR)*. Universidad de Sancti Spíritus "José Martí Pérez" (UNISS).
  28. SCOTT, G. 2001. Strategic Planning for High-Tech Product Development. *Technology Analysis & Strategic Management*, 13.
  29. SHARMA, A., GARG, D. & AGARWAL, A. 2012. Quality management in supply chains: The literature review. *International Journal for Quality Research*, 6, 193-206.
  30. SHI, C., LU, H., CUI, J., SHEN, H. & LUO, Y. 2012. Study on the predictive models of the quality of silver carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) Fillets stored under variable temperature conditions. *Food Processing and Preservation*.
  31. SHUKLA, M. & JHARKHARIA, S. 2013. Agri-fresh produce supply chain management: a state-of-the-art literature review. *International Journal of Operations & Production Management*, 33, 114-158.
  32. SOCIAL, D. E. Y. 2000a. La seguridad alimentaria y nutricional: importancia de la producción de alimentos.
  33. TORRES GEMEIL, M., DADUNA, J. R. & MEDEROS CABRERA, B. 2007. *Fundamentos Generales de la Logística*, Ciudad de La Habana y Berlín, Editorial Universitaria Universidad de Pinar del Río "Hermanos Saíz Montes de Oca".
  34. XUE, M., ZHANG, J. & TANG, W. 2014. Optimal temperature control for quality of perishable foods. *ISATransactions*, 53, 542-546.

## Anexos

### Anexo 1. Aplicación del Método Índice de Calidad (QIM) para las carpas

Parámetro de calidad de frescura		Descripción	Puntuación
Piel	Apariencia/color	Piel muy brillante. Colores bien marcados, verdosos con tonalidades doradas, amarillentas	0
		Pérdida de brillo y colores ligeramente desvanecidos	1
		Decolorados, mates; colores azulinos, violeta hacia región dorsal	2
	Mucus	Transparente	0
		Ligeramente espeso	1
		Lechoso, espeso, abundante	2
	Olor	Fresco, neutro	0
		Dulce, a sangre, metálico	1
		Ligero olor a pescado, agrio	2
		Intenso olor a pescado, pútrido	3
Rigidez	Textura	En rigor	0
		Firme	1
		Suave	2
		Muy suave	3
Ojos	Córnea	Convexa	0
		Plana	1
		Ligeramente hundida	2
		Totalmente hundida	3
	Pupila	Negra, brillo metálico, nítida	0
		Gris oscuro	1
Mate, turbio	2		
Branquias	Color	Rojo muy intenso, brillante	0
		Rojo, pérdida de intensidad y brillo	1
		Marrón oscuro, pardas parcial o totalmente	2
	Adherencias	Sin adherencias, bien peinadas	0
		Adherencia, sin mucus o ligeramente mucoso	1
		Adherencias, con mucus evidente, espeso, lechoso, amarillento, verdoso	2
	Olor	Fresco, a algas, neutro	0
		A sangre, metálico, dulce	1
		A pescado, algas secas	2
		Muy intenso a pescado, ácido úrico, aminas, deteriorado	3
Puntuación total			0-22

## **Anexo 2. Actividades que componen el sistema logístico de aprovisionamiento a la industria pesquera acuícola**

<b>Actividades</b>	<b>Descripción</b>
Captura	La constituye el proceso de extracción de la materia prima (el pescado) en su punto de origen (el embalse), donde juega un papel determinante en la conservación o deterioro de las características de calidad, los métodos y estilos de trabajo utilizados por los recursos humanos.
Manipulación	Implica el tratamiento dado a la materia prima durante y después del proceso de captura, para esto se tiene en cuenta las características de la especie con la que se trabaja (tenca, carpa, tilapia o claria)
Transporte	Implica los medios utilizados en el traslado de la materia prima capturada hasta el punto de recepción donde juega un papel determinante la relación tiempo-temperatura y la conservación de la cadena de frío.
Recepción	Implica el conteo de la materia prima que se recibe tanto en el punto de acopio del establecimiento pesquero acuícola como en la industria pesquera acuícola, así como los tratamientos (el nevado) que puedan aplicarse para la conservación de las características de calidad de la misma.

### **Anexo 3. Procedimiento Operacional de Trabajo. Preparación de la porción de ensayo para los análisis microbiológico, químico y sensorial**

Con el fin de evitar la contaminación del entorno y de las porciones de los ensayos, se trabaja en locales especiales, en un gabinete de seguridad biológico o en un cuarto de siembra con lámpara ultravioleta. Se priorizan aquellos productos que contienen baja concentración de microorganismos (productos precocinados, platos cocinados) seguido por uno que esté muy contaminado. La protección del entorno contra la contaminación es de particular importancia durante el pesaje y muestreo de la porción de ensayo.

Porciones de los ensayos.

Se manipulan las muestras de forma tal que se evite cualquier riesgo de contaminación. Para lograr esto, se toman las siguientes precauciones:

- trabajar cerca de una llama, cuando no se trabaje en un gabinete de seguridad;
- para un producto empaquetado, limpiar la parte de afuera del envase con etanol al 70 % por donde se va a abrir, flamear si es posible. El alcohol se prepara según el MANUAL DE PREPARACION DE SOLUCIONES Y REACTIVOS, 2011;
- esterilizar cualquier instrumento que se emplee para abrir el envase (abridor de latas, tijeras, etc.);
- esterilizar cualquier instrumento que se utilice para tomar la muestra (cuchara, pipeta, pinzas, etc.);
- marcar de forma cuidadosa la referencia de la muestra del laboratorio en los contenedores, bolsas plásticas, etc. que contiene la muestra del ensayo; y
- excepto en casos especiales, mantener las muestras del laboratorio hasta que se hayan obtenido todos los resultados, o mayores, si son necesarios, y empacar en recipientes esterilizados (bolsas plásticas) y llevarlas de nuevo a la temperatura de almacenamiento de la muestra.

Antes de eliminar las muestras, descontaminar cualquier muestra del laboratorio deteriorada o peligrosa.

#### **Anexo 4. Preparación de la muestra de ensayo, la suspensión inicial y las diluciones decimales. Reglas generales para la preparación de la suspensión inicial y las diluciones decimales**

Suspensión inicial (dilución primaria): suspensión, solución o emulsión obtenida después que una cantidad pesada o medida del producto en examen (o de una muestra de ensayo preparada a partir del producto) ha sido mezclada con nueve partes del diluyente, lo que permite la sedimentación de las partículas de mayor tamaño, si están presentes.

Diluciones decimales adicionales: suspensiones o soluciones obtenidas a partir de la mezcla de la suspensión inicial con nueve partes del volumen del diluyente, se repite esta operación con diluciones adicionales hasta obtener una serie de diluciones decimales, requeridas para la inoculación del medio de cultivo.

#### **Principio**

Preparación de la suspensión inicial en la cual se obtenga una distribución de microorganismos tan uniforme como la contenida en la muestra de ensayo.

Preparación, si es necesario, de diluciones decimales de manera de reducir el número de microorganismos por unidad de volumen para permitir, después de la incubación, la observación o no de su crecimiento (en caso de tubos o frascos) o conteo de colonias (en caso de placas), como se establece en cada norma específica.

#### **Diluentes**

Para mejorar la reproducibilidad de los resultados, se recomienda que para la preparación del diluyente se usen los componentes básicos deshidratados o la preparación completa deshidratada.

Deben seguirse de forma rigurosa las instrucciones del fabricante.

Los productos químicos usados deberán ser de calidad analítica reconocida para análisis microbiológicos. El agua utilizada deberá ser agua destilada o de calidad equivalente (Ver ISO 7218).

#### **Diluentes para uso general**

Dentro de los diluentes para uso general se encuentran la solución salina peptonada y el agua peptonada bufferada.

## Preparación de la solución salina peptonada

**Tabla A. Composición de la solución salina peptonada**

### Composición

Digerido enzimático de la caseína	1.0g
Cloruro de Sodio	8.5g
Agua	1000mL

Disolver los componentes en el agua, por calentamiento si es necesario. Si es necesario, ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea  $7,0 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

## Preparación del agua peptonada bufferada

**Tabla B. Composición del agua peptonada bufferada**

Composición	
Digerido enzimático de tejido animal (Peptona bacteriológica)	10.0g
Cloruro de Sodio	5.0g
Hidrógeno fosfato disódicododecahidratado( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	9.0g
Dihidrógeno fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1.5g
Agua	1000ml

Disolver los componentes en el agua, por calentamiento si es necesario. Si es necesario, ajustar el pH de modo que después de la esterilización sea  $7,0 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

## Diluentes para propósitos especiales

Ver la norma específica apropiada al producto concerniente.

## Distribución y esterilización del diluyente

Distribuir el diluyente en volúmenes como se requiere para la preparación de las suspensiones iniciales en frascos de capacidad apropiada.

Distribuir el diluyente en volúmenes como se requiere para la preparación de las diluciones decimales en tubos de ensayo o frascos en cantidades tales que, después de la esterilización, cada tubo o frasco contenga 9 ml. La incertidumbre de la medición del volumen final, después de la esterilización, no excederá de  $\pm 2\%$ .

NOTA: Si se desea contar varios grupos de microorganismos con el uso de diferentes medios de cultivo, puede ser necesario distribuir todos los diluyentes

(o algunos de ellos) en cantidades mayores de 9 ml; tiene que ser especificado el tamaño de los frascos y de los tubos de ensayo.

Tapar los tubos o frascos.

Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

### **Aparatos y cristalería**

Aparatos usuales en el laboratorio de microbiología (Ver ISO 7218), y en particular los siguientes:

- aparato para esterilización seca (horno) y para esterilización húmeda (autoclave);
- equipos homogeneizadores;
- agitador mecánico;
- frascos o botellas con tapa de rosca, de capacidades apropiadas;
- tubos de ensayo, de capacidades apropiadas;
- pipetas graduadas con capacidades nominales de 1 ml y 10 ml, graduadas en divisiones de 0,1 ml y 0,5 ml;
- medidor de pH, capaz de ser leído lo más cercano a 0,01 unidad de pH a 25°C, lo que permite hacer mediciones con precisión de  $\pm 0,1$  unidad de pH; y
- balanza, capaz de pesar con precisión de 0,01 g.

### **Muestreo**

Llevar a cabo el muestreo de acuerdo con la norma específica apropiada para el producto en cuestión. Si no existe una norma específica se recomienda que se realice el muestreo de acuerdo entre las partes interesadas.

### **Preparación de la muestra de ensayo**

Ver la norma específica apropiada para el producto en cuestión. Si no existe una norma específica se recomienda que se realice el muestreo de acuerdo entre las partes interesadas.

### **Procedimiento**

#### **Porción de ensayo y suspensión inicial (dilución primaria)**

Pesar, en un recipiente estéril o en un bolso plástico estéril, con una incertidumbre de medición de  $\pm 5\%$  de masa ( $m$ ) en g, o medir con una incertidumbre de medición de  $\pm 5\%$  un volumen ( $V$ ) en ml (mínimo 10 g ó 10

mL, a menos que sea indicado de otra manera) representativo de la muestra de ensayo. Adicionar una cantidad del diluyente igual a  $9 \times m$  (g) o  $9 \times V$  (ml). Esta cantidad debe ser medida por masa con una incertidumbre de  $\pm 5 \%$  o por un volumen con una incertidumbre de medición de  $\pm 5 \%$ .

Para evitar el daño de los microorganismos por cambios frecuentes de temperatura, la temperatura del diluyente durante las operaciones dadas debajo, deberá ser, con escasa diferencia, la misma que la temperatura ambiente.

Homogeneizar la mezcla de acuerdo a las recomendaciones de la ISO 7218.

Si es necesario, dejar sedimentar las partículas de gran tamaño por más de 15 minutos. Deben usarse sistemas de filtración que den resultados similares. En el caso de enumeración de esporas, deberá llevarse a cabo el calentamiento de la suspensión inicial después de su preparación.

#### **Diluciones decimales adicionales**

Se transfiere por medio de una pipeta, 1mL de la suspensión inicial con una incertidumbre de medición 2) de  $\pm 5 \%$ , en un tubo que contenga 9mL del diluyente estéril a la temperatura apropiada.

Para una precisión óptima, no se debe introducir la pipeta más de 1 cm dentro de la suspensión inicial y evitar cualquier contacto entre la pipeta que contenga el inóculo y el diluyente estéril.

Luego se mezcla con un agitador mecánico durante 5s o 10s para obtener la dilución  $10^{-2}$ .

Si es necesario, se repiten estas operaciones usando la dilución  $10^{-2}$  y diluciones adicionales, usando en cada dilución una nueva pipeta estéril para obtener diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , etc., hasta que se obtenga el número de microorganismos apropiados.

#### **Duración del procedimiento**

El tiempo transcurrido entre el final de la preparación de la suspensión inicial y el instante en que el inóculo se pone en contacto con el medio de cultivo no excederá los 45 min, mientras que el tiempo límite transcurrido entre la preparación de la suspensión inicial (9.1) y el comienzo de la preparación de la siguiente dilución decimal es 30 min, a menos que sea indicado en la norma específica (Oficina Nacional de Normalización (NC) and ISO, 2002).

## **Anexo 5. Análisis microbiológicos**

### **Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la enumeración de microorganismos. Parte 1: Conteo de colonias a 30°C por la técnica de placa vertida.**

Microorganismo: Entidad de tamaño microscópico, que comprende bacterias, hongos, protozoos y virus.

#### **Principio**

Se preparan dos placas vertidas en un medio de cultivo específico y una cantidad específica de la muestra de ensayo, si el producto inicial es líquido, o una cantidad específica de una suspensión inicial en el caso de otros productos.

Bajo las mismas condiciones se preparan otros pares de placas vertidas y se usan las diluciones decimales obtenidas a partir de la muestra para ensayo o de la suspensión inicial.

Las placas se incuban en aerobiosis a 30°C, durante 72h.

El número de microorganismos por gramo o por mililitro de la muestra de ensayo es calculado del número de colonias obtenidas en las placas que contienen menos de 300 colonias.

#### **Medio de cultivo y diluentes**

Para la preparación, producción y evaluación del desempeño de los medios de cultivo se debe guiar por la NC-ISO 11133.

#### **Diluentes**

Ver la NC-ISO 6887-1 o la parte relevante de la ISO 6887

#### **Preparación del Medio Agar: Agar para Conteo en placa (PCA)**

**Tabla A. Composición del Medio Agar**

<b>Composición</b>	
Digerido enzimático de la caseína	5g
Extracto de levadura	2.5g
Glucosa, anhidro ( $C_6H_{12}O_6$ )	1.0g
Agar <sup>a</sup>	9g a 18g
Agua	1000ml
<sup>a</sup> Depende de la fortaleza del agar.	

Se disuelven los componentes o el medio completo deshidratado en el agua, mediante calentamiento si fuera necesario. Mezclar y dejar reposar varios minutos.

En caso de ser necesario, se ajusta el pH de manera tal que después de la esterilización sea de  $7,0 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

Se dispensa el medio en tubos, frascos o botellas de capacidad adecuada y se esteriliza en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  por 15min.

Antes de comenzar el examen microbiológico se funde, en su totalidad, el medio para luego enfriarlo de  $44^{\circ}\text{C}$  a  $47^{\circ}\text{C}$  en un baño de agua antes de su uso.

Se debe usar el agar fundido lo antes posible; este no debe ser retenido por más de 4h.

### Pruebas de desempeño para el medio de cultivo

El agar de recuento en placa es un medio no selectivo, usado en esta parte de la NC-ISO 4833 para verter en placa. La productividad debe ser comprobada de acuerdo a la NC-ISO 11133.

**Tabla B. Productividad del Agar para Conteo en placa**

Productividad	
Incubación	$(30 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ por $(72 \pm 3)\text{h}$
Cepas control	<i>Escherichia coli</i> WDCM 00013 o WDCM 00012 <sup>a</sup> (World date Centre for Microorganism) <i>Bacillus subtilis</i> subsp. Spizizenii WDCM 00003 <sup>a</sup> <i>Staphylococcus aureus</i> WDCM 00032 o WDCM 00034
Medio de referencia	Agar Triptona soya
Método de control	Cuantitativo
Criterio	Razón de productividad PR $\geq 0.7$
<sup>a</sup> Cepas que deben ser usadas como mínimo por el laboratorio usuario.	

### Preparación del Medio para sobrecapa

**Tabla C. Composición del Medio para sobrecapa**

Composición	
Agar <sup>a</sup>	12g a 18g
Agua	1000ml
<sup>a</sup> Depende de la fortaleza del agar	

Se adiciona el agar al agua y se calienta hasta la ebullición, sin parar de revolver hasta que el agar se encuentre disuelto, o al vapor por cerca de 30min. Si es necesario se ajusta el pH de manera que después de la esterilización sea de  $7.0 \pm 0.2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

Se dispensa el medio en los tubos de ensayo o frascos con la capacidad apropiada y se esteriliza en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  durante 15min.

Antes de comenzar el análisis microbiológico se funde el medio en su totalidad y antes de usarlo se enfría en baño de agua regulado de  $44^{\circ}\text{C}$  a  $47^{\circ}\text{C}$ .

### **Aparatos y cristalería**

La cristalería desechable es una alternativa aceptable ante la cristalería reutilizable si esta tiene las especificaciones adecuadas.

Equipamiento usual en los laboratorios de microbiología, y en particular el siguiente:

- aparatos para esterilización seca (horno) o para esterilización húmeda (autoclave). Ver NC-ISO 7218;
- incubadora: regulable a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- baño de agua: capaz de operar de  $44^{\circ}\text{C}$  a  $47^{\circ}\text{C}$ ;
- pH-metro: con precisión de calibración de  $\pm 0.1$  unidad de pH a  $25^{\circ}\text{C}$ ;
- placas Petri: de cristal o plástico, de 90mm a 100mm de diámetro;
- pipetas graduadas de descarga total: de 1ml de capacidad nominal, graduada con divisiones de 0.1ml, ISO 835 de clase A, o pipetas automáticas, ISO 8655-2, usando puntas estériles;
- contador de colonias: que consiste, por ejemplo, de una base iluminada con un fondo oscuro, con lentes de aumento apropiados, pueden usarse lentes con un incremento de aproximado 1.5X, y un contador mecánico o electrónico digital; y
- tubos de ensayo, frascos o pomos: de capacidad adecuada que no excedan de 500ml.

### **Muestreo**

Es importante que el laboratorio reciba una muestra que sea representativa y que no haya sido dañada o cambiada durante el transporte o el almacenamiento. El muestreo no es parte del método especificado en la norma.

Ver la norma específica relacionada con el producto concerniente. Si no existe una Norma específica, se recomienda que las correspondientes partes se pongan de acuerdo con respecto a este tema.

### **Preparación de la muestra de ensayo**

Se prepara la muestra de ensayo de acuerdo con la parte relevante de la ISO 6887 o ISO 8261 y a la Norma específica del producto concerniente.

### **Procedimiento**

#### **Porción de ensayo, suspensión inicial y diluciones**

Ver la parte relevante de la ISO 6887 y de la Norma específica del producto en cuestión.

#### **Inoculación e incubación**

Se toman dos placas de Petri estériles. Mediante una pipeta estéril se transfiere a cada placa 1ml de la muestra de ensayo, si es líquido, o 1ml de la suspensión inicial en el caso de otros productos (dilución  $10^{-1}$ ).

Luego se toman otras dos placas Petri estériles y mediante otra pipeta estéril se transfiere a cada una de las placas 1ml de la dilución  $10^{-1}$  (si el producto es líquido) o 1ml de la dilución  $10^{-2}$  en el caso de otros productos.

Si es necesario se repite el procedimiento con las diluciones sucesivas y se usa una nueva pipeta estéril para cada dilución decimal.

De esta forma se obtendrán conteos entre 10 y 300 colonias por placa.

A continuación se vierten de 12ml a 15ml de agar para conteo en placa de 44°C a 47°C en cada placa de Petri. Se mezcla el inóculo con el medio de cultivo a través de la rotación de las placas de Petri y se deja solidificar dichas placas en una superficie fría y horizontal.

Después de completada la solidificación, y solo en el caso donde se sospeche que el producto examinado contiene microorganismos cuyas colonias podrán tener un crecimiento de colonias expandidas en la superficie del medio, se añade una sobrecapa de 4mL de medio o de agar para conteo en placa de 44°C a 47°C en la superficie del medio inoculado, y se deja solidificar en las mismas condiciones anteriores.

Luego se invierten las placas preparadas y se colocan en la incubadora a  $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante  $72\text{h}\pm 3\text{h}$ .

### **Conteo de las colonias**

Después del período de incubación, de ser posible, se retienen las placas con menos de 300 colonias. Se cuentan las colonias en las placas y se examinan bajo la luz suave.

Calcular la cantidad  $N$  de microorganismos por gramo de producto, mediante la siguiente ecuación:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

$\sum c$ : Sumatoria de las colonias contadas en todas las placas.

$n_1$ : Número de placas en la dilución más baja.

$n_2$ : Número de placas contadas en la dilución más alta.

$d$ : Factor de la dilución para la dilución más baja (donde existe la más alta concentración de la muestra).

Los datos de precisión se evalúan para placas que contengan entre 15 y 300 colonias.

### **Expresión de los resultados**

#### **Método de cálculo**

Seguir el procedimiento especificado en NC-ISO 7218

#### **Precisión**

##### **General**

Los datos de precisión dependen de la microbiota asociada y de la matriz de la muestra.

##### **Repetibilidad**

La diferencia absoluta entre dos resultados de ensayos simples independientes, obtenidos con el uso del mismo método en material de ensayo idéntico en el mismo laboratorio por el mismo operador, equipamiento dentro de un intervalo de tiempo corto, no debe ser mayor que el límite de repetibilidad  $r = 0.25 \text{ en } \log_{10} N$ , donde  $N$  es el número de microorganismos por mililitro (correspondiente a 1.8 de la escala normal en microorganismos por mililitro).

##### **Reproducibilidad**

La diferencia absoluta entre dos resultados de ensayo simples, obtenidos con el uso del mismo método en material de ensayo idéntico en diferentes

laboratorios con diferentes operadores y equipamiento, no debe ser mayor que el límite de reproducibilidad  $R = 0.45 \text{ en } \log_{10} N$ , donde  $N$  es el número de microorganismos por mililitro (correspondiente a 2.8 de la escala normal en microorganismos por mililitro).

### **Estimación de las pequeñas cantidades**

Si las dos placas, contienen menos de 15 colonias, se calcula la media aritmética  $m$  de colonias contadas en ambas placas.

Cantidad estimada de microorganismos por gramo:

$-NE = mx d^{-1}$  (otros productos),  $d$  es el promedio de dilución de la suspensión inicial (Oficina Nacional de Normalización (NC) and ISO, 2014).

### **Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes. Técnica del número más probable (NMP)**

Coliformes: Bacterias las cuales, a la temperatura especificada (esto es 30°C ó 37°C, según lo acordado) fermentan la lactosa con producción de gas bajo las condiciones de ensayo especificadas.

Detección de coliformes: Determinación de la presencia o ausencia de estas bacterias, en una cantidad particular de producto, cuando los ensayos se llevan a cabo de acuerdo con el método especificado en esta Norma Cubana.

Enumeración de coliformes: Número más probable de coliformes encontrados por mililitro o por gramo de la muestra de ensayo, cuando los ensayos se llevan a cabo de acuerdo con el método especificado en esta Norma Cubana.

### **Principio**

#### **Detección de coliformes**

Un tubo de caldo de enriquecimiento selectivo se inocula con la porción de ensayo y se incuba a 30°C ó 37°C (según lo acordado) por 24h ó 48h.

Un tubo de medio de confirmación se inocula a partir del tubo obtenido cuando se observa opacidad y/o formación de gas, y se incuba a 30°C ó 37°C (según lo acordado) por 24h ó 48h.

La presencia de coliformes se confirma en el caso en que la opacidad y la formación de gas se observen después de examinar este último tubo.

#### **Enumeración por la técnica de NMP**

Se procede a la inoculación de tres tubos de medio líquido de enriquecimiento selectivo de doble fuerza con una cantidad específica de la muestra de ensayo si el producto inicial es líquido, o con una cantidad específica de una suspensión inicial en el caso de otros productos.

Y a la inoculación de tres tubos de medio líquido de enriquecimiento selectivo de simple fuerza con una cantidad específica de la muestra de ensayo si el producto inicial es líquido, o con una cantidad específica de una suspensión inicial en el caso de otros productos. Entonces, bajo las mismas condiciones, se inoculan tres tubos más de medio simple fuerza con las diluciones decimales de la muestra de ensayo o de la suspensión inicial.

Luego se pasa a la incubación de los tubos que contienen el medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza a 30°C ó 37°C (según lo acordado) por 24h, y los tubos que contienen el medio simple fuerza se incuban por 24h ó 48h, después de este periodo los tubos se examinan para observar formación de gas u opacidad previa a la formación de gas.

Se incuban una serie de tubos de medio de confirmación con los cultivos de los tubos del medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza en los cuales se ha notado formación de gas u opacidad previa a la formación de gas. Se incuban los tubos obtenidos a 30°C ó 37°C (según lo acordado) por 24h ó 48h y examen de los tubos para apreciar formación de gas.

Por último se calcula el número más probable de coliformes por mililitro o por gramo de muestra a partir del número de tubos en las nuevas series que muestran formación de gas.

#### **Medio de cultivo y diluentes**

Ver ISO 7218, ISO/TS 11133-1 e ISO/TS 11133-2 para la preparación, producción y pruebas de rendimiento de los medios de cultivo.

#### **Diluentes**

Ver NC ISO 6887-1 o ISO 6887 (parte relevante), ISO 8261 o la Norma Cubana específica para el producto que se examina.

#### **Preparación del Medio de enriquecimiento selectivo: Caldo triptosa lauril sulfato**

#### **Tabla D. Composición del caldo triptosa lauril sulfato**

Composición	Medio de doble fuerza	Medio simple fuerza
Digerido enzimático de la leche y deproteínas animales	40g	20g
Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ )	10g	5g
Hidrógeno fosfato dipotásico ( $K_2HPO_4$ )	5.5g	2.75 g
Dihidrógeno fosfato de potasio ( $KH_2PO_4$ )	5.5g	2.75g
Cloruro de sodio ( $NaCl$ )	10g	5g
Lauril sulfato de sodio	0.2g	0.1g
Agua	1000ml	1000ml

Se disuelven los componentes o el medio completo deshidratado en el agua, se calienta de ser necesario. Se ajusta el pH, si es necesario, tal que después de la esterilización sea  $6.8 \pm 0.2$  a  $25^\circ\text{C}$ .

Luego se dispensa el medio simple fuerza en cantidades de 10 ml en tubos de dimensiones alrededor de 16 mm x 160 mm que contengan tubos Durham, y en el caso del medio de doble fuerza se utilizan tubos de ensayo de 20 mm x 200 mm (tubos que no contengan tubos Durham).

Se esteriliza en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  por 15 min. Los tubos Durham no deben contener burbujas de aire después de la esterilización.

### **Pruebas de rendimiento para el aseguramiento de calidad de los medios de cultivo**

Para las definiciones de selectividad y productividad, referirse a la ISO/TS 11133-1. Las pruebas de rendimiento correspondientes al caldo triptosa lauril sulfato se ofrecen en la ISO/TS 11133-2:2003.

### **Preparación del Medio de confirmación: Caldo bilis lactosa verde brillante**

**Tabla E. Composición del caldo bilis lactosa verde brillante**

Composición	
Digerido enzimático de la caseína	10g
Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ )	10g
Bilis de Buey deshidratada	20g
Verde brillante	0.0133 g
Agua	1000 ml

Se disuelven los componentes o el medio completo deshidratado en el agua, se calienta de ser necesario. Se ajusta el pH, si es necesario, tal que después de la esterilización sea  $7.2 \pm 0.2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

Se dispensa el medio en cantidades de 10 ml en tubos de ensayo de dimensiones entre los 16 mm x160 mm que contengan tubos Durham.

Por último se esteriliza en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 min. Los tubos Durham no deben contener burbujas de aire después de la esterilización.

### **Pruebas de rendimiento para el aseguramiento de calidad de los medios de cultivo**

Para las definiciones de selectividad y productividad, referirse a la ISO/TS 11133-1. Las pruebas de rendimiento correspondientes al caldo triptosa lauril sulfato se ofrecen en la ISO/TS11133-2:2003, Tabla B.1.

### **Aparatos y cristalería**

Equipamiento usual del laboratorio de microbiología (Ver ISO 7218), y en particular los siguientes:

- aparato para esterilización seca (horno) o para esterilización húmeda (autoclave). Ver ISO 7218;
- incubadoras, capaces de operar a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  ó  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- asas, hechas de platino-iridio, o de níquel-cromo, con una aproximación de 3mm de diámetro o asas desechables;
- tubos de ensayo, con una aproximación de 16mm x 160mm y 20mm x 200mm;
- tubos Durham, de tamaño adecuado para el uso en tubos de ensayo de dimensiones de 16 mm x 160 mm;
- pipetas de descarga total, con capacidades nominales de 1 ml y 10 ml; y
- pH metro, con precisión para  $\pm 0.1$  unidades de pH a  $25^{\circ}\text{C}$ .

### **Muestreo**

El muestreo debe llevarse a cabo de acuerdo con la norma nacional o internacional establecida para el producto en cuestión. Si no existe una norma nacional o internacional, se recomienda que se realice el muestreo de acuerdo entre partes.

### **Preparación de la muestra de ensayo**

Se prepara la muestra de ensayo de acuerdo con la NC ISO 6887-1, ISO 6887 (parte relevante), ISO 8261 o la norma cubana o internacional específica apropiada para el producto en cuestión. Si no existe una norma específica, se recomienda que las partes lleguen a un acuerdo en este aspecto.

## **Procedimiento**

### **Método de detección**

#### **Porción de ensayo y suspensión inicial**

Ver la NC ISO 6887-1, ISO 6887 (parte relevante), ISO 8261 o la norma específica para el producto en cuestión.

#### **Inoculación e incubación**

En dependencia del límite de detección que se requiera, se transfieren x ml de la muestra de ensayo si es líquida, o x ml de la suspensión inicial en el caso de productos sólidos, a un tubo que contenga 10 ml de medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza cuando  $1 \text{ ml} < x < 10 \text{ ml}$ , o a un tubo que contenga 10 ml de medio de enriquecimiento selectivo de simple fuerza cuando  $x \leq 1 \text{ ml}$ .

Se coloca el tubo con medio doble fuerza en la incubadora regulada a 30°C o 37°C (según lo acordado) por  $24\text{h} \pm 2\text{h}$ . Se repite la misma operación con el medio simple fuerza, en caso de no observarse formación de gas ni opacidad previa a la formación de gas se continúa la incubación por  $24\text{h} \pm 2 \text{ h}$ .

#### **Confirmación**

A partir de los tubos incubados con medio doble fuerza, se inocula con un asa un tubo de medio de confirmación. Se incuba en la incubadora regulada a 30°C ó 37°C (según lo acordado) por  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  o, si la formación de gas no se observa en esta etapa, se incuba por  $48\text{h} \pm 2\text{h}$ .

Se sigue el mismo procedimiento anterior para los tubos incubados que contengan medio simple fuerza y muestren formación de gas, u opacidad previa a la detección de la formación de gas, cuando cualquiera de estas características se observe primero (esto es después de  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  o después de  $48\text{h} \pm 2\text{h}$ ).

#### **Interpretación**

Un tubo, a partir de los procedimientos anteriores, en el cual se observó formación de gas después de  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  ó  $48\text{h} \pm 2\text{h}$  se considera como un tubo positivo.

### **Método de enumeración (NMP)**

#### **Porción de ensayo, suspensión inicial y diluciones**

Ver la NC ISO 6887-1, ISO 6887 (parte relevante), ISO 8261 o la norma específica para el producto en cuestión. Se prepara un número de diluciones suficientes para garantizar que todos los tubos correspondientes a la dilución final ofrezcan un resultado negativo.

#### **Inoculación e incubación**

Es usual que exista una combinación de tres tubos para cada serie de dilución. Sin embargo, para algunos productos y/o cada vez que los resultados requieran mayor exactitud, puede ser necesario inocular series que consistan de más de tres tubos (ejemplo cinco tubos).

Para estos casos, para el cálculo del NMP vea las tablas correspondientes incluidas en la ISO 7218.

Se toman tres tubos del medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza y con una pipeta estéril se transfiere a cada uno de esos tubos 10 ml de la muestra de ensayo si es líquida, o 10 ml de la suspensión inicial en el caso de otros productos.

Del medio de enriquecimiento selectivo de simple fuerza se toman tres tubos y con una pipeta estéril, se transfiere a cada uno de esos tubos 1 ml de la muestra de ensayo si es líquida, o 1 ml de la suspensión inicial en el caso de otros productos. Para cada una de las diluciones posteriores se repite la misma operación.

Se utiliza una pipeta estéril para cada dilución. Luego se mezclan con cuidado el inóculo y el medio.

Para el medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza se colocan los tubos con el medio de doble fuerza en la incubadora a  $30^{\circ}\text{C}$  ó  $37^{\circ}\text{C}$  (según lo acordado) por  $24\text{h} \pm 2\text{h}$ .

Para el medio de enriquecimiento selectivo de simple fuerza se colocan los tubos con el medio simple fuerza en la incubadora regulada a  $30^{\circ}\text{C}$  ó  $37^{\circ}\text{C}$  (según lo acordado) por  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  o, si no se observa formación de gas u

opacidad previa a la formación de gas en esta etapa, se continúa la incubación por otras 24h ± 2h.

### **Confirmación**

A partir de cada uno de los tubos incubados con el medio de doble fuerza se inocula con un asa un tubo con el medio de confirmación. Se incuba en una incubadora a 30 °C o 37°C (según lo acordado) por 24h ± 2h o, si no se observa formación de gas u opacidad previa a la formación de gas en esta etapa, se continúa la incubación por otras 24h ± 2h.

Se sigue el mismo procedimiento anterior para los tubos incubados a partir del medio simple fuerza, que muestren formación de gas, u opacidad previa a la detección de la formación de gas, cuando cualquiera de estas características se observe primero (esto es después de 24h± 2h o después de 48h ± 2h).

### **Interpretación**

Para cada dilución, se cuenta el número total de tubos en los cuales se observó formación de gas (tubos positivos) después de 24h ± 2h y (si se usó) 48h ± 2h.

### **Cálculo y expresión de los resultados**

De acuerdo con los resultados de la interpretación, se indica la presencia o ausencia de coliformes en una porción de ensayo de x g o x ml de producto (Ver ISO 7218). Se calcula el número más probable a partir del número de tubos positivos en cada dilución. Ver ISO 7218.

### **Precisión**

Está reconocido que pueden ocurrir amplias variaciones en los resultados con la técnica de NMP. Los resultados obtenidos usando este método deberán entonces ser usados con cuidado.

Los límites de confianza se ofrecen en la ISO 7218 (Oficina Nacional de Normalización (NC) and ISO, 2010).

### **Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes termotolerantes. Técnica del número más probable (NMP).**

Coliformes termotolerantes: Bacterias que a la temperatura especificada (44,5°C ± 0,5°C) fermentan la lactosa con producción de gas a las 48h, bajo las condiciones de ensayo especificadas.

Detección de coliformes termotolerantes: Determinación de la presencia o ausencia de estas bacterias, en una cantidad particular de producto, cuando los ensayos se llevan a cabo de acuerdo con el método especificado en esta Norma Cubana.

Enumeración de coliformes termotolerantes: Número más probable de coliformes encontrados por mililitro o por gramo de la muestra de ensayo, cuando los ensayos se llevan a cabo de acuerdo con el método especificado en esta Norma Cubana.

## **Principio**

### **Detección de coliformes termotolerantes**

Un tubo de medio selectivo de enriquecimiento se inocula con la porción de ensayo y se incuba a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24h ó 48h.

Un tubo de medio selectivo de confirmación se inocula a partir del tubo obtenido en un inicio cuando se observa opacidad y/o formación de gas, y se incuba a  $44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24h.

La presencia de coliformes termotolerantes se confirma en el caso en que la opacidad y la formación de gas se observen después de examinar este último tubo.

### **Enumeración por la técnica de NMP**

Se inoculan tres tubos de medio selectivo de enriquecimiento de doble concentración con una cantidad específica de la muestra de ensayo si el producto inicial es líquido, o con una cantidad específica de una suspensión inicial en el caso de otros productos.

Se repite el proceso con el medio selectivo de enriquecimiento de simple concentración y bajo las mismas condiciones, se inoculan tres tubos más de medio simple concentración con las diluciones decimales sucesivas de la muestra de ensayo o de la suspensión inicial.

Se incuban los tubos que contienen el medio líquido de enriquecimiento selectivo de doble concentración y los tubos que contienen el medio de simple concentración se incuban a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 h ó 48h, después de este periodo los tubos se examinan para observar formación de gas u opacidad previa a la formación de gas.

A partir de los tubos del medio selectivo de enriquecimiento de doble concentración obtenidos en los cuales se ha notado formación de gas u opacidad, se inoculan una serie de tubos de medio selectivo de confirmación, e incuban a  $44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24h.

A partir de los tubos del medio selectivo de enriquecimiento de simple concentración obtenidos en los cuales se ha notado formación de gas u opacidad, se inoculan los tubos de medio selectivo de confirmación e incuban a  $44,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24h.

Se calcula el número más probable de coliformes termotolerantes por mililitro o por gramo de muestra a partir del número de tubos en las nuevas series que muestran formación de gas. Se anexa la tabla para la determinación del número más probable (Anexo 8).

#### **Medio de cultivo y diluentes**

Ver NC-ISO 7218, NC-ISO 11133-1 y NC-ISO 11133-2 para la preparación, producción y pruebas de rendimiento de los medios de cultivo.

#### **Diluentes**

Ver NC-ISO 6887-1 o NC-ISO 6887 (parte aplicable), ISO 8261 o la Norma Cubana específica para el producto que se examina.

#### **Medios selectivos de enriquecimiento:**

##### **Preparación del Caldo triptosa lauril sulfato**

**Tabla F. Composición del caldo triptosa lauril sulfato**

<b>Composición</b>	<b>Medio de doble concentración</b>	<b>Medio simple concentración</b>
Digerido enzimático de la leche y de proteínas animales	40g	20g
Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ )	10g	5g
Hidrógeno fosfato dipotásico ( $K_2HPO_4$ )	5.5g	2.75 g
Dihidrógeno fosfato de potasio ( $KH_2PO_4$ )	5.5g	2.75g
Cloruro de sodio ( $NaCl$ )	10g	5g
Lauril sulfato de sodio	0.2g	0.1g
Agua	1000ml	1000ml

Se disuelven los componentes en el agua y se calientan con agitación, si es necesario, para conseguir la completa disolución. Se ajusta el pH, si es necesario, de forma tal que después de la esterilización sea  $6,8 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ . Se dispensa el medio simple concentración en cantidades de 10ml en tubos de dimensiones 16mm x 160mm que contengan tubos Durham, y en el caso del medio de doble concentración se utilizan tubos de ensayo de 20mm x 200mm (tubos que no contengan tubos Durham). Se esteriliza en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 min. Los tubos Durham no deben contener burbujas de aire después de la esterilización.

### Preparación del Caldo lactosado

**Tabla G. Composición del caldo lactosado**

Composición	Doble Concentración Cantidad	Simple Concentración Cantidad
Digerido enzimático de la caseína	10g	5g
Lactosa ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\text{H}_2\text{O}$ )	10g	5g
Agua destilada o desionizada	1000ml	1000ml

Se disuelven los componentes o el medio completo deshidratado en el agua. De ser necesario se calienta para garantizar la completa disolución de los ingredientes. Luego se ajusta el pH, siempre que sea preciso, y se adiciona solución de hidróxido de sodio [ $c^*(\text{NaOH})=1\text{mol/L}$ ] o ácido clorhídrico [ $c^*(\text{HCl})=1\text{mol/L}$ ] de forma tal que después de la esterilización este se encuentre a  $7,2 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ . Se distribuye el medio en cantidades de 10 ml en tubos de ensayo de 16mm x 160mm o de 20mm x 200mm, con tapa de rosca de baquelita u otro material inerte resistente al tratamiento térmico a que serán sometidos, que contengan los tubos de fermentación (tubos Durham). Se esteriliza en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$  por 15 min, en un intervalo de tiempo no superior a las 2 horas posteriores a la disolución de los ingredientes. Los tubos Durham no deben contener burbujas de aire después de la esterilización y, al menos, una o dos terceras partes de su altura debe estar bajo el nivel del líquido contenido en el tubo.

### Preparación del Medio de confirmación: Caldo EC

**Tabla H. Composición del medio de confirmación**

Composición	
Triptona o Tripticasa	20g
Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ )	5g
Sales biliares	1,5g
Fosfato dipotásico ( $K_2HPO_4$ )	4g
Fosfato monopotásico ( $KH_2PO_4$ )	1,5g
Cloruro de sodio	5g
Agua destilada o desionizada	1000ml

Se disuelven los componentes en el agua y se calientan con agitación, si es necesario, para conseguir la completa disolución. Se distribuye en volúmenes de 10 ml en tubos para ensayos que contengan Durham invertidos, se esteriliza en autoclave a 121°C durante 10 min. Se ajusta el pH, siempre que sea necesario, tal que después de la esterilización el pH final del medio sea  $6,8 \pm 0,2$  a 25°C.

#### **Pruebas de rendimiento para el aseguramiento de calidad de los medios de cultivo**

Para las definiciones de selectividad y productividad, referirse a la NC-ISO 11133-1. Las pruebas de rendimiento correspondientes al caldo triptosa lauril sulfato y al caldo EC se ofrecen en la NC-ISO 11133-2:2003, Tabla B.1.

#### **Aparatos y cristalería**

Para el equipamiento usual del laboratorio de microbiología (Ver NC-ISO 7218), y en particular los siguientes:

- aparato para esterilización seca (horno) o para esterilización húmeda (autoclave). Ver NC-ISO 7218;
- incubadora, capaz de operar a  $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ ;
- baño de María capaz de operar a  $44,5^{\circ}C \pm 0,5^{\circ}C$ ;
- asas, hechas de platino-iridio, o de níquel-cromo, de 3 mm de diámetro o asas desechables;
- tubos de cultivo, con una aproximación de 16 mm x 160 mm y 20 mm x 200 mm;

- tubos Durham, de tamaño adecuado para el uso en tubos de ensayo de dimensiones de 16 mm x 160 mm;
- pipetas de descarga total, con capacidades nominales de 1 ml y 10 ml;
- medidor de pH, con precisión para  $\pm 0.1$  unidades de pH a 25°C; y
- homogenizador con vaso esterilizable u homogenizador peristáltico.

### **Muestreo**

El muestreo debe llevarse a cabo de acuerdo con la norma nacional o internacional establecida para el producto en cuestión. Si no existe una norma nacional o internacional, se recomienda que se realice el muestreo de acuerdo entre las partes interesadas.

### **Preparación de la muestra de ensayo**

Se prepara la muestra de ensayo de acuerdo con la NC-ISO 6887-1, ISO 6887 (parte aplicable), ISO 8261 o la Norma Cubana o Internacional específica apropiada para el producto en cuestión. Si no existe una norma específica, se recomienda que las partes lleguen a un acuerdo en este aspecto.

### **Procedimiento**

#### **Método de detección**

#### **Porción de ensayo y suspensión inicial**

Ver NC-ISO 6887-1, ISO 6887 (parte aplicable), ISO 8261 o la norma específica para el producto en cuestión.

#### **Inoculación<sup>1</sup> e incubación**

En dependencia del límite de detección que se requiera, se transfieren x ml de la muestra de ensayo si es líquida, o x ml de la suspensión inicial en el caso de productos sólidos, a un tubo que contenga 10 ml de medio de enriquecimiento selectivo de doble concentración cuando  $1 \text{ ml} \leq x \leq 10 \text{ ml}$ , o a un tubo que contenga 10 ml de medio de enriquecimiento selectivo de simple concentración cuando  $x \leq 1 \text{ ml}$ .

Después se coloca el tubo con el medio selectivo de enriquecimiento de doble concentración en la incubadora regulada a 37°C 24h  $\pm$  2h o se continúa la incubación por 24h  $\pm$  2h si no se observa formación de gas ni opacidad previa a la formación de gas.

Se coloca el tubo con el medio selectivo de enriquecimiento de simple concentración en la incubadora a 37°C (según lo acordado) por 24h ± 2h, o se continúa la incubación por 24h ± 2h si no se observa formación de gas ni opacidad previa a la formación de gas.

Se indican combinaciones de tres tubos para cada serie de dilución, pero si se requiere mayor seguridad en los resultados puede ser necesario utilizar series de cinco tubos.

### **Confirmación**

A partir de los tubos incubados, se inocula con un asa un tubo de medio selectivo de confirmación. Se incuba en baño de María regulado a 44,5°C ± 0,5°C por 24h ± 2h.

Se sigue el mismo procedimiento para los tubos incubados recién obtenidos que muestren formación de gas, u opacidad previa a la detección de la formación de gas, cuando cualquiera de estas características se observe primero (esto es, después de 24h ± 2h).

### **Interpretación**

Un tubo a partir de su confirmación en el cual se observó formación de gas después de 24h ± 2h se considera como un tubo positivo.

### **Método de enumeración (NMP)**

#### **Porción de ensayo, suspensión inicial y diluciones**

Ver NC-ISO 6887-1, ISO 6887 (parte aplicable), ISO 8261 o la norma específica para el producto en cuestión. Se prepara un número de diluciones suficientes para garantizar que todos los tubos correspondientes a la dilución final ofrezcan un resultado negativo.

#### **Inoculación e incubación**

Es usual que exista una combinación de tres tubos para cada serie de dilución. Sin embargo, para algunos productos y/o cada vez que los resultados requieran mayor exactitud, puede ser necesario inocular series de más de tres tubos (ejemplo cinco tubos).

Se inoculan tres tubos del medio selectivo de enriquecimiento de doble concentración, para esto se usa una pipeta estéril se transfiere a cada uno de

esos tubos 10 ml de la muestra de ensayo si es líquida, ó 10 ml de la suspensión inicial en el caso de otros productos.

Se repite el mismo procedimiento para el medio selectivo de enriquecimiento de simple concentración, transfiriéndose siempre en este caso 1mL de la muestra de ensayo o de la suspensión inicial. Para cada una de las diluciones posteriores, se realiza como se describe en este caso.

Se utiliza una pipeta estéril para cada dilución y se mezcla con cuidado el inóculo y el medio.

A continuación se colocan los tubos con el medio de doble concentración en la incubadora a 37 °C por 24h ± 2h y los tubos con el medio simple concentración en la incubadora regulada a 37°C por 24h ± 2h, si no se observa formación de gas u opacidad previa a la formación de gas en esta etapa, se extiende la incubación por otras 24h ± 2h.

### **Confirmación**

A partir de cada uno de los tubos incubados con el medio de doble concentración se inocula con un asa un tubo con el medio de confirmación. Este procedimiento se lleva a cabo en baño de María a 44,5°C ± 0,5°C por 24h ± 2h.

Se sigue de igual forma para los tubos incubados con el medio simple concentración, que muestren formación de gas, u opacidad previa a la detección de la formación de gas, cuando cualquiera de estas características se observe primero (esto es después de 24h ± 2h).

### **Interpretación**

Para cada dilución, se cuenta el número total de tubos en los cuales se observó formación de gas en la confirmación (tubos positivos) después de 24h ± 2h.

### **Cálculo y expresión de los resultados**

De acuerdo con los resultados de la interpretación, se indica la presencia o ausencia de coliformes en una porción de ensayo de x g o x ml de producto y se calcula el número más probable a partir del número de tubos positivos en cada dilución.

### **Selección de diluciones**

En este trabajo, la suspensión inicial y, si es necesario, la muestra de ensayo son consideradas como diluciones.

Para cada muestra examinada, se seleccionan 3 diluciones consecutivas acorde con uno de los 3 casos siguientes:

**Caso 1-Al menos una dilución ofrece 3 tubos positivos**

Se selecciona la dilución más alta (es la que tiene menor concentración de la muestra), donde aparecen 3 tubos positivos, seguido con las próximas 2 diluciones más altas (aquellas que tienen concentraciones de la muestra de 1/10 y 1/100 de la primera dilución seleccionada).

Si se hicieron suficientes diluciones sucesivas más allá de la dilución más alta y se obtuvieron tres tubos positivos, se seleccionan las tres diluciones más altas en las series (aquellas que tengan la concentración de muestra más baja).

**Caso 2- Diluciones que no muestren tres tubos positivos**

Si el caso 1 no puede ser aplicado. Se seleccionan las tres diluciones más altas en las series (aquellas que tengan la concentración de muestra más baja) entre las cuales al menos un resultado positivo fue obtenido.

**Casos especiales**

En todos los casos donde más de una de las tres diluciones seleccionadas acorde con las anteriores no mostraron tubos positivos, se seleccionan de esas diluciones la más baja que no mostró tubos positivos (la que tiene mayor concentración de la muestra) y las dos siguientes diluciones menores en las series (aquellas que tienen concentraciones de la muestra de 10 y 100 veces de la primera dilución seleccionada, excepto cuando los tubos positivos son solos encontrados al nivel de la primera dilución preparada de la muestra en este último caso. Si es necesario se seleccionan las primeras tres diluciones para el cálculo del NMP siempre que estas series incluyan dos diluciones y muestren tubos negativos.

**Determinación del índice de NMP**

Acorde al número de muestras examinadas por lotes, se chequea, mediante la tabla A o la tabla B del anexo 8, según las secuencias de números de tubos positivos correspondientes a las diluciones seleccionadas de acuerdo con la selección de las diluciones que sean de forma estadística aceptables. La aceptabilidad depende de los números de muestras examinadas y de la precisión y la decisión o no para aceptar los resultados de categoría 2.

Por ejemplo, si solamente resultados de categoría 1 son aceptados, la secuencia 221 es aceptable solo cuando 10 muestras (del lote concerniente) han sido examinadas, si los resultados menos probables de la categoría 2 son también aceptados, la secuencia 221 es también aceptable cuando solo 2,3 ó 5 muestras han sido examinadas. Sin embargo cuando la secuencia 221 es el resultado de una simple prueba nunca es aceptable.

Cada secuencia se encuentra aceptable acorde con lo referido al obtener el índice NMP del anexo 8.

### **Cálculo del número más probable (NMP)**

Se obtiene el número de coliformes por ml o por g al multiplicar el índice de NMP por el recíproco de la menor dilución seleccionada (que es la que tiene mayor concentración de la muestra).

Cuando la menor dilución seleccionada corresponde a los tubos preparados con el medio a doble concentración (inoculación con 10 ml) primero se divide el índice NMP por 10.

Los resultados se expresan como un número entre 1.0 y 9.9 multiplicado por 10<sup>x</sup>, donde x es la potencia adecuada de 10.

### **Precisión**

Está reconocido que pueden ocurrir amplias variaciones en los resultados con la técnica de NMP. Los resultados obtenidos a través de este método deben ser usados con cuidado. Los límites de confianza se ofrecen en las tablas A y C del anexo 8 ((NC), 2013).

### **Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Método horizontal para la detección y enumeración de *escherichia coli* presuntiva.**

#### **Técnica del número más probable (NMP)**

*escherichia coli* presuntiva: Bacteria que fermenta la lactosa a 44 °C con producción de gas, a 44°C produce indol a partir del triptófano, cuando el ensayo se realiza de acuerdo al método descrito en este trabajo.

Enumeración de *escherichia coli* presuntiva: El número más probable de E. coli por mililitro o por gramo de la muestra de ensayo, cuando el ensayo se lleva a cabo de acuerdo al método descrito en esta Norma Cubana.

### **Principio**

### **Método de detección**

Un medio de enriquecimiento selectivo se inocula con una cantidad específica de la suspensión inicial de la muestra de ensayo.

El tubo inoculado se incuba a 37°C durante 48 h. Se examina la producción de gas en el tubo pasadas 24h y 48h. Si se detecta opacidad, turbiedad o emisión de gas en el tubo, se realiza un subcultivo a un tubo que contenga medio selectivo líquido (Caldo EC).

El tubo subcultivado se incuba a 44°C durante 48h. Se examina la producción de gas en el tubo después de 24h y 48h. Si el tubo de medio incubado muestra producción de gas, este se subcultiva a un tubo que contenga agua de peptona sin indol. El tubo obtenido subcultivado se incuba a 44°C por 48h. El tubo se examina para la producción de indol resultante a partir de la degradación del triptófano en la peptona constituyente.

Los tubos que muestren opacidad, turbidez o producción de gas en el medio líquido de enriquecimiento selectivo, y que en los subcultivos han mostrado producción de gas en el caldo EC e indol en el agua de peptona a 44°C, se consideran que contienen escherichia coli presuntivas. Los resultados se dan como la “presencia” o “ausencia” de escherichia coli presuntiva en x g o x ml de producto.

### **Método de enumeración**

Tres tubos con medio líquido de enriquecimiento selectivo de doble fuerza se inoculan con una cantidad específica de la suspensión inicial.

Tres tubos con medio líquido de enriquecimiento de simple fuerza se inoculan con una cantidad específica de la suspensión inicial.

Entonces, bajo las mismas condiciones, otros 3 tubos con medio simple fuerza se inoculan con una cantidad específica de diluciones decimales de la suspensión inicial.

Los tubos que contienen medios doble fuerza y simple fuerza se incuban a 37°C durante 48h. los tubos se examinan para ver la producción de gas pasadas 24h y 48h.

Cada tubo con medio doble fuerza que muestre opacidad, turbiedad o emisión de gas, y cada tubo con medio simple fuerza que muestre emisión de gas se subcultiva a un tubo que contenga medio líquido selectivo (caldo EC). Los

tubos de ensayo inoculados son incubados a 44°C alrededor de 48h. Se examina la producción de gas a las 24h y 48h.

Cada tubo con medio obtenido con anterioridad, que ha mostrado incremento en la emisión de gas, se subcultiva a un tubo que contenga agua de peptona libre de indol.

Estos últimos tubos obtenidos se incuban a 44°C por 48h. Los tubos se examinan para ver la producción de indol resultante a partir de la degradación del triptófano contenido en la peptona.

El número más probable de escherichia coli presuntiva se determina mediante la tabla de NMP (Ver Anexo 9), de acuerdo con el número de tubos con medios simple fuerza y doble fuerza que al subcultivarse, han producido gas en Caldo EC e indol en el agua de peptona a 44°C.

### Diluentes, medios de cultivo y reactivos

Para el seguimiento de las prácticas de laboratorio. Ver ISO 7218.

### Diluentes

En general ver NC-ISO 6887-1.

### Preparación del Medio de enriquecimiento selectivo (Caldo lauril sulfato)

**Tabla I. Composición del medio de enriquecimiento selectivo**

Composición	Medio doble fuerza	Medio simple fuerza
Digerido enzimático de tejido animal y vegetal	40g	20g
Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ )	10g	5g
Monohidrógeno fosfato de dipotasio ( $K_2HPO_4$ )	5.5g	2.75 g
Dihidrógeno fosfato de potasio ( $KH_2PO_4$ )	5.5g	2.75g
Cloruro de sodio ( $NaCl$ )	10g	5g
Lauril sulfato de sodio	0.2g	0.1g
Agua	1000ml	1000ml

Se disuelven los componentes o el medio deshidratado completo en agua, caliente si es necesario. Se ajusta el pH, si es necesario, de tal manera que después de la esterilización este sea  $6,8 \pm 0,2$  a 25°C.

En el caso del medio de simple fuerza, se dispensa el medio en cantidades de 9 ml en tubos de dimensiones 16 mm x 160 mm que contengan tubos Durham, y en el caso del medio de doble fuerza, se adiciona 10 ml en tubos de dimensiones 18 mm x 180 mm ó 20 mm x 200 mm que contengan tubos Durham.

Se esteriliza por 15 min en autoclave a 121°C. Los tubos Durham no contendrán burbujas después de la esterilización.

### **Preparación del Caldo EC (medio selectivo)**

**Tabla J. Composición del caldo EC**

<b>Composición</b>	
Digerido enzimático de la caseína	20g
Lactosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ )	5g
Sales biliares	1,5g
Fosfato dipotásico( $K_2HPO_4$ )	4g
Fosfato monopotásico ( $KH_2PO_4$ )	1,5g
Cloruro de sodio	5g
Agua destilada o desionizada	1000ml

Se disuelven los componentes o el medio deshidratado completo en agua, caliente si es necesario. Se ajusta el pH, si es necesario, de tal manera que después de la esterilización este sea  $6,8 \pm 0,2$  a 25°C.

Se dispensa el medio en cantidades de 10 ml en tubos de dimensiones 16 mm x 160 mm que contengan tubos Durham.

Se esteriliza por 15 min en autoclave a 121°C. Los tubos Durham no contendrán burbujas después de la esterilización.

### **Pruebas de rendimiento y aseguramiento de calidad de los medios de cultivo**

Para la comprobación del rendimiento del medio de cultivo. Ver ISO/TS 11133-1 e ISO/TS 11133-2.

### **Preparación del Agua de peptona libre de indol**

**Tabla K. Composición del agua de peptona libre de indol**

Composición	
Digerido enzimático de la caseína	10g
Cloruro de sodio	5g
Agua	1000mL

Se disuelven los componentes o el medio deshidratado completo en agua, caliente si es necesario. Se ajusta el pH, si es necesario, de tal manera que después de la esterilización este sea  $7,3 \pm 0,2$  a  $25^{\circ}\text{C}$ .

Se dispensa el medio en cantidades de 5 ml o 10 ml dentro de tubos de ensayo de dimensiones 16 mm x 160 mm.

Por último se esteriliza por 15 min en autoclave a  $121^{\circ}\text{C}$ .

#### **Preparación del Reactivo Indol (reactivo de Kovacs)**

**Tabla L. Composición del reactivo Indol**

Composición	
4-Dimetilaminobenzaldehído	5g
2-Metilbutano-1-ol o pentano-1-ol	75,0mL
Ácido hidroclicóric (ρ <sub>20</sub> 1,18 g/ml a 1,19 g/ml)	25,0mL

Se disuelve el 4-Dimetilaminobenzaldehído en el alcohol por calentamiento suave en baño de agua mantenido entre  $50^{\circ}\text{C}$  y  $55^{\circ}\text{C}$ .

Se enfría y adiciona el ácido. Es necesario protegerlo de la luz y almacenarlo alrededor de los  $4^{\circ}\text{C}$ .

El reactivo será amarillo ligero a carmelita ligero.

#### **Aparatos y cristalería**

Los aparatos desechables son una alternativa aceptable ante la cristalería reutilizable si tienen especificaciones similares.

Se utiliza el equipamiento usual del laboratorio de microbiología y, en particular, los siguientes:

- equipo para la esterilización seca (horno) o para la esterilización húmeda (autoclave). Ver ISO 7218;
- incubadora: capaz de operar a temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- baño de agua: capaz de mantener la temperatura a  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;

- tubos de ensayo: de dimensiones de 16 mm x 160mm y 18 mm x 180 mm o 20 mm x 200 mm;
- asas: de platino-iridio o de níquel-cromo, con una aproximación de 3 mm de diámetro, o asas estériles desechables sobre los 10 µl;
- tubos Dirham: de dimensiones apropiadas para su empleo en los tubos de ensayo;
- pipetas de descarga total: con capacidades nominales de 1 ml y 10 ml; y
- pH-metro: con resolución de 0,01 unidades de pH y precisión de  $\pm 0,1$  unidades de pH a25°C.

### **Muestreo**

Se debe enviar una muestra representativa al laboratorio, sin haber sido dañada o cambiada durante la transportación o el almacenamiento. El muestreo no es parte del método especificado en esta Norma Cubana. Si no existe una Norma Nacional o Internacional apropiada para el muestreo del producto en cuestión se recomienda que se llegue a un acuerdo entre las partes involucradas.

### **Preparación de la muestra de ensayo**

Se prepara la muestra de ensayo de acuerdo con la Norma Cubana específica apropiada para el producto en cuestión. Si no existe una norma nacional o internacional específica se recomienda que las partes involucradas se pongan de acuerdo en este aspecto.

### **Procedimiento**

#### **Método de detección**

#### **Porción de ensayo y suspensión inicial**

Consultar la parte correspondiente de la ISO 6887 o ISO 8261 en dependencia del producto en cuestión.

Se adiciona 1 ml de la suspensión inicial a 9 ml del caldo lauril sulfato de simple fuerza (esto es 0,1 g o 0,1 ml de muestra) o 10 ml de la suspensión inicial a 10 ml del caldo lauril sulfato de doble fuerza (esto es 1 g o 1 ml de muestra). Para volúmenes mayores de las porciones de ensayo, se prepara la suspensión inicial mediante la adición de x ml o x g a 9x ml del diluyente, entonces se

adiciona la suspensión inicial completa a 90x ml de caldo lauril sulfato simple fuerza.

#### **Incubación del medio de enriquecimiento selectivo (caldo lauril sulfato)**

Para empezar se incuba el caldo lauril sulfato de simple o doble fuerza en la incubadora fijada a 37°C durante 24h ± 2h. Si no se observa durante este intervalo producción de gas, ni opacidad, se incuba hasta 48h ± 2h.

#### **Inoculación e incubación del medio selectivo (caldo EC)**

Si después de la incubación del medio doble fuerza, se observa opacidad, turbiedad o producción de gas, o si después de la incubación del medio simple fuerza, se observa producción de gas, se inocula un tubo con caldo EC mediante el uso de un asa estéril y se incuba en baño de agua o en una incubadora a 44°C durante 24h ± 2h. Si, durante este tiempo, no se observa producción de gas en el caldo EC, se extiende el tiempo de incubación hasta un total de 48h ± 2h.

#### **Inoculación e incubación en agua de peptona**

Si después de la incubación acorde a 9.1.3, se observa producción de gas se inocula un tubo con agua de peptona, precalentado a 44°C, y se emplea un asa estéril, se incuba durante 48h ± 2h a 44°C.

#### **Prueba para la producción de Indol**

Se adiciona 0,5 ml del reactivo para indol a los tubos con agua de peptona y se incuba acorde a la inoculación e incubación en agua de peptona.

A continuación se mezcla bien y examina luego de transcurrido 1 min. La aparición de un color rojo en la fase alcohólica indica la presencia de indol.

#### **Interpretación**

Como positivo se considera el medio de enriquecimiento selectivo incubado según la incubación del medio de enriquecimiento selectivo (caldo lauril sulfato), que muestre (después del subcultivo e incubación acorde a la inoculación e incubación del medio selectivo (caldo EC) y la inoculación e incubación en agua de peptona) visible producción de gas en el tubo con caldo EC y producción de indol en el tubo con agua de peptona.

#### **Método de enumeración**

### **Porción de ensayo, suspensión inicial y diluciones**

Consultar la parte correspondiente en la norma ISO 6887 o la ISO 8261, en dependencia del producto en cuestión.

Para asegurar que todos los tubos correspondientes a la dilución final produzcan un resultado negativo se prepara un número suficiente de diluciones.

### **Inoculación e incubación en medio de enriquecimiento selectivo (caldo lauril sulfato)**

Se prepara una serie de tres tubos de ensayo para cada dilución. En el caso de mariscos vivos u otros productos especiales y/o cuando se requiera una mayor precisión en los resultados, es necesario incubar una serie de cinco tubos (ver Anexo 9).

Detrás se toman tres tubos de medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza y con el uso de una pipeta estéril, se transfiere a cada uno de estos tubos 10 ml de la suspensión inicial. Estas porciones de ensayo corresponden a 1 g de muestra por tubo.

Luego se toman tres tubos de medio de enriquecimiento selectivo de simple fuerza y con el uso de otra pipeta estéril, se transfiere a cada uno de estos tubos 1 ml de la suspensión inicial.

Estas porciones de ensayo corresponden a 0,1 g de muestra por tubo.

Para cada dilución adicional (igual a 0,01 g, 0,001 g, etc. de muestra por tubo), se procede como mismo en el medio selectivo de simple fuerza. Siempre se emplea una nueva pipeta para cada dilución, se mezcla el inóculo y el medio con suficiente cuidado.

Se incuban los tubos de medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza y los tubos de medio de enriquecimiento selectivo de simple fuerza inoculados en un principio y en cada dilución adicional, en la incubadora a 37°C durante 24h ± 2h. Si, durante este intervalo, no se observa producción de gas, ni opacidad, se incuba hasta 48h ± 2h.

Si, después de un periodo de 48h de incubación, se observa opacidad pero no producción de gas, se inocula el caldo EC con este caldo y se procede según el método que se describe a continuación.

### **Subcultivo e incubación del medio selectivo (caldo EC)**

Para cada tubo de ensayo con medio doble fuerza incubado que muestre opacidad, turbiedad o producción de gas, y para cada tubo con medio simple fuerza incubado con anterioridad que muestre producción de gas, se subcultiva a un tubo con caldo EC con un asa estéril.

Se incuban los tubos inoculados en un baño de agua o en una incubadora regulada a 44°C durante 24h ± 2h. Si, durante este tiempo, no se observa formación de gas en el caldo EC, se extiende el tiempo de incubación hasta un total de 48h ± 2h.

### **Inoculación e incubación del agua de peptona**

Para cada tubo incubado que muestre producción de gas, se inocula un tubo de agua de peptona precalentada a 44°C y se emplea un asa estéril. Se incuba durante 48h ± 2h a 44°C.

### **Prueba para la producción de Indol**

Se adiciona 0,5 ml del reactivo para indol a los tubos con agua de peptona y se incuba según la inoculación e incubación del agua de peptona.

Acto continuo se mezcla bien y examina luego de transcurrido 1 min. La aparición de un color rojo en la fase alcohólica indica la presencia de indol.

### **Interpretación**

Cada tubo de medio de enriquecimiento selectivo de doble fuerza o simple fuerza incubados según la inoculación e incubación en medio de enriquecimiento selectivo (caldo lauril sulfato) en los que se aprecie (después del subcultivo y la incubación acorde al caldo EC y el agua de peptona) formación de gas en el tubo de caldo EC y producción de indol en el tubo de agua de peptona se considera como positivo.

Para cada dilución, se cuenta el número de tubos que contienen los medios de doble y simple fuerza con resultados positivos.

### **Expresión de los resultados**

#### **Método de detección**

De acuerdo con la expresión de los resultados del método de detección, se reporta la presencia o ausencia de escherichia coli presuntiva en la porción de ensayo, y se especifica la masa en gramos, o el volumen en mililitros, de la muestra de ensayo.

**Método de enumeración**

Ver anexo 9 (Oficina Nacional de Normalización (NC) and ISO, 2011).

## **Anexo 6. Análisis sensorial**

### **Desarrollo de un esquema de calificación sensorial**

Para el desarrollo de un esquema QIM es necesario seleccionar un número de atributos de calidad característicos para las carpas chinas y adjudicar el resultado en dependencia del estado de frescura que presenta el mismo. Para esto se siguen tres principales pasos:

1-esquema preliminar: 2 ó 3 expertos en evaluación sensorial de pescado, observan todos los cambios en las características de los atributos de la calidad (apariencia/color, mucus y olor de la piel; rigidez/textura; forma y aspecto de los ojos; olor, color y presencia de adherencias en branquias) y realizan una lista de ellos en un esquema preliminar. Cada atributo es valorado de 0 a 3, con bajos valores como indicadores de la mejor calidad.

2-esquema final y entrenamiento: la mayoría de las sesiones sensoriales son desarrolladas con al menos seis panelistas que observan 3 o 4 grupos de peces almacenados en hielo por diferentes periodos de tiempo (este procedimiento también se lleva a cabo para peces no almacenados en hielo). En la primera sesión, el periodo de almacenamiento debe ser identificado a los panelistas, para que ellos puedan asociar los cambios con el tiempo correcto. Después de esto, la evaluación debe ocurrir sin el conocimiento del tiempo de almacenamiento. Los cambios necesarios son realizados en el esquema.

3-validacion del esquema QIM: 5 pescados de cada día de almacenamiento deben ser evaluados (para peces de pequeño tamaño, pueden ser incluidos más ejemplares) al menos cada tercer día durante la vida útil del pescado. El estudio de la vida útil debe ser repetido para observar si la misma pendiente fue encontrada entre el Índice de Calidad y el tiempo de almacenamiento en hielo. Durante el almacenamiento experimental, índices químicos y microbiológicos deben también ser medidos para seguir el patrón de deterioro y ser usados para su comparación (Bernardi et al., 2013b).

La puntuación adjudicada a cada criterio es tal que no permite que un criterio en particular pueda ser dominante y que la valuación del puntaje sea fácil para el jurado. La suma de todos los atributos es llamada puntaje de deméritos, o Puntaje del QIM con una puntuación máxima de 22. Este valor se incrementa con el tiempo de almacenamiento en hielo de la carpa (Bernardi et al., 2013b).

El anexo 1 presenta la descripción de cada parámetro y la puntuación asignada.

#### QIM: Análisis de datos

El análisis de datos es una parte importante en el desarrollo del QIM. Los resultados de los estudios sobre la vida útil tienen que ser ajustados dentro de una relación lineal y analizados para cotejar la linealidad del Índice de Calidad. Los cambios de todos los atributos durante el almacenamiento tienen que ser estudiados y el peso de las puntuaciones puede ser cambiada para obtener un QI con alta correlación con el tiempo de almacenamiento. Los datos obtenidos del esquema QIM, deben ser analizados por la Regresión Lineal que se adecue a la regresión tiempo-dependiente. Para determinar la precisión (Error estándar estimado) de la predicción por el esquema QIM, los QI resultantes deben ser sometidos a una Regresión Parcial de Cuadrados Mínimos (RCM). La evaluación de la importancia para cada parámetro sensorial es determinada por el Análisis de Componentes Principales (ACP) sobre una matriz con los objetos (muestras) y las variables (Bernardi et al., 2013b).

Antes del ACP, las variables son estandarizadas con Promedio de cero y Varianza de uno. El Análisis de Correlación de Pearson es usado para determinar la relación entre el tiempo de almacenamiento en hielo y el Índice de Calidad (QI) (Bernardi et al., 2013b).

## Anexo 7. Criterios Organolépticos para la inspección de pescados

Partes del pescado a inspeccionar (Índices fundamentales)	Calidad Muy Buena (corresponde a pescados recién desembarcados)	Calidad Buena (habitual en pescaderías)	Calidad Regular	Calidad Mala
Aspecto general y consistencia muscular	Con aspecto de recién capturada. De piel húmeda, brillante y lustrosa. De colores vivos y constantes. No se hunde a la presión digital suave. Muy elástico. Corte a cuchillo muy fácil.	De buen aspecto general. De piel húmeda y con brillo. De colores intensos, pero bien diferenciados en todas sus partes. Firme y sin rigidez. Se hunde a la presión digital suave, pero se recupera rápidamente. Elástico. Corte a cuchillo, fácil.	Piel ligeramente opaca y aspecto algo seco. De colores algo desvanecidos y más uniformes en todo su cuerpo. Poco firme. Se recupera lentamente a la presión digital suave. Corte a cuchillo, difícil. Piel elástica.	Pérdida de color y dibujos característicos de la especie. De piel seca y sin brillo. Blando o aplastado. Flácido y frágil. Se rompe y/o no se recupera de la presión digital suave. Piel muy elástica.
Branquias (color y olor)	De colores rojo-brillantes. Limpias, compactas y bien diferenciadas. Ausencia de limo bacteriano y de secreciones. Olor a algas marinas frescas (pescados de mar) o agradable a río (en acuidulces).	De colores rojo limpias y con ligera adherencia. Limo bacteriano escaso y transparente, con poca secreción. Se puede percibir algún olor a mariscos.	De color rosadas o descoloridas. Ligeramente sucias y con adherencia mayor. Limo bacteriano abundante, opaco o algo lechoso, con secreciones opacas y abundantes. Neutro, sin olor definido o muy ligero olor a humedad o rancidez.	De colores rosa claro, amarillentas o blanquecinas (dependiendo de la especie). Muy descoloridas. Sucias y muy adheridas. Con mucus bacteriano espeso y lechoso, y secreciones abundantes, muy densas y opacas. Olor desagradable, penetrante, agrio o rancio.
Músculo perivertebral a través de un corte en el músculo dorsal	Carnes blancas, perladas o tornasoladas, brillantes y con transparencia. Carnes firmemente adheridas a la columna vertebral y espinas. Se separan de ellas, luego de mucha tracción. Sin enrojecimiento a lo largo de la columna vertebral.	Carnes blanco-perladas, húmedas, de brillo menor y con ligera transparencia. Carnes muy adheridas a la columna y espinas, pero se separan con esfuerzo menor. Ligero enrojecimiento a lo largo de la columna vertebral.	Carnes amarillentas o rosadas, con aspecto de cera. Carnes débilmente fijadas a los huesos, y se separan de ellos con facilidad. Columna vertebral de colores rosados o castaños.	Carnes de colores rosa netos o amarillentas, y/o rojo contra los huesos. Carnes desprendidas de los huesos, o se separan con suma facilidad. Columna vertebral de colores pardo-terrosos o marrones claros.

<b>Partes del pescado a inspeccionar (Índices fundamentales)</b>	<b>Calidad Muy Buena (corresponde a pescados recién desembarcados)</b>	<b>Calidad Buena (habitual en pescaderías)</b>	<b>Calidad Regular</b>	<b>Calidad Mala</b>
Vísceras y peritoneo	Peritoneo de color negro o gris oscuro brillante. Peritoneo entero y bien adherido. El peritoneo no se desprende, por fricción intensa, se rompe. Vísceras bien adheridas, perladas o tornasoladas, coloreadas y bien diferenciadas	Peritoneo de color negro o gris oscuro y brillo menor. Peritoneo entero y adherido. Este se desprende y se rompe por fricción intensa. Vísceras firmes perladas, enteras y de brillo disminuido, con ligera secreción.	Peritoneo de color gris metálico y sin brillo. Peritoneo entero o roto y parcialmente desprendido. Este se desprende fácilmente por fricción. Vísceras decoloradas, secreción más abundante y opaca. Se pierde la diferenciación entre las mismas	Peritoneo de color gris claro. Peritoneo roto o muy frágil y desprendido y/o se lo desprende muy fácilmente por fricción. Puede llegar a estar ausente. Vísceras muy decoloradas, opacas, deshechas o maceradas, con secreción
Secreción externa, ojos y escamas	Secreción muy escasa y transparente, con escamas bien adheridas, brillantes e iridiscentes. Ojos limpios y convexos. Pupilas negras y brillantes. Córneas transparentes. Sus arteriolas se ven con claridad, como muy finos hilos de sangre.	Secreción transparente y ligera, de baja densidad y de escamas con brillo y adherencia menor. Ojos apenas sucios, convexos o planos, con o sin derrames. Pupilas negras y sin brillo. Córneas claras, transparencia menor, y sus arteriolas pueden no observarse. Sin derrames.	Secreción externa más abundante y densa, de aspecto sucio, opaca y con escamas poco adheridas o con descamación, escaso brillo. Ojos planos o hundidos y sucios, con derrames. Pupilas color gris. Córneas opalescentes, sus arteriolas se han derramado con regular intensidad	Secreción externa abundante y densa, opaca, lechosa o amarillenta. Gran descamación o se desprenden muy fácilmente. Sin brillo. Ojos hundidos y grandes derrames. Pupilas color gris lechoso.

## Anexo 8. Determinación del número más probable (NMP)

Tabla A. Índices de NMP y límites de confianza (95 %) cuando se usan porciones de ensayo tres de 1 g (ml), tres de 0,1 g (ml) y tres de 0,01 g (ml)

No. de resultados positivos			Índice de NMP <sup>a</sup>	Categoría <sup>b</sup>	Límites de confianza (95 %) <sup>a, c</sup>	
					Límite inferior	Límite superior
0	0	0	<0,30		0,00	0,94
0	0	1	0,30	3	0,01	0,95
0	1	0	0,30	2	0,01	1
0	1	1	0,61	0	0,12	1,7
0	2	0	0,62	3	0,12	1,7
0	3	0	0,94	0	0,35	3,5
1	0	0	0,36	1	0,02	1,7
1	0	1	0,72	2	0,12	1,7
1	0	2	1,1	0	0,4	3,5
1	1	0	0,74	1	0,13	2
1	1	1	1,1	3	0,4	3,5
1	2	0	1,1	2	0,4	3,5
1	2	1	1,5	3	0,5	3,8
1	3	0	1,6	3	0,5	3,8
2	0	0	0,92	1	0,15	3,5
2	0	1	1,4	2	0,4	3,5
2	0	2	2,0	0	0,5	3,8
2	1	0	1,5	1	0,4	3,8
2	1	1	2,0	2	0,5	3,8
2	1	2	2,7	0	0,9	9,4
2	2	0	2,1	1	0,5	4,0
2	2	1	2,8	3	0,9	9,4
2	2	2	3,5	0	0,9	9,4
2	3	0	2,9	3	0,9	9,4
2	3	1	3,6	0	0,9	9,4
3	0	0	2,3	1	0,5	9,4
3	0	1	3,8	1	0,9	10,4
3	0	2	6,4	3	1,6	18,1
3	1	0	4,3	1	0,9	18,1
3	1	1	7,5	1	1,7	19,9
3	1	2	12	3	3	36
3	1	3	16	0	3	38
3	2	0	9,3	1	1,8	36,0
3	2	1	15	1	3	38
3	2	2	21	2	3	40
3	2	3	29	3	9	99
3	3	0	24	1	4	99
3	3	1	46	1	9	198
3	3	2	110	1	20	400
3	3	3	> 110			

a- Fuente: DE MAN, J.C. MPN tables (corrected), *Eur. J. Appl. Biotechnol.* 1983, 17, pp. 301-5

b- Ver Tabla B.

c- Los límites de confianza dados en esta tabla solo intentan ofrecer una idea de la influencia de las variaciones estadísticas en los resultados. Incluso existen también otras fuentes de variación, las cuales pueden a veces ser siempre más importantes.

**Tabla B. Explicación de las categorías de resultados**

Categoría <sup>a</sup>	Definición
1	Cuando el número de bacterias en la muestra es igual al NMP hallado, el resultado es uno de los que tiene mayor probabilidad de obtenerse. A lo sumo existe solamente una oportunidad del 5% de obtener un resultado que es menos probable que el menos probable en esta categoría.
2	Cuando el número de bacterias en la muestra es igual al NMP hallado, el resultado es uno de los que tiene menos oportunidad de obtenerse que incluso el menos probable en la categoría 1, sin embargo hay a lo sumo solamente una oportunidad del 1% de obtener un resultado que es menos probable que el menos probable en esta categoría.
3	Cuando el número de bacterias en la muestra es igual al NMP hallado, el resultado es uno de los que tiene menos oportunidad de obtenerse que incluso el menos probable en la categoría 2, sin embargo hay a lo sumo solamente una oportunidad del 0,1% de obtener un resultado que es menos probable que el menos probable en esta categoría.
0	Cuando el número de bacterias en la muestra es igual al NMP hallado, el resultado es el que tiene menos probabilidad de obtenerse que incluso el menos probable en la categoría 3. Existe solamente una oportunidad del 0.1 % de obtener un resultado en esta categoría sin que haya ningún error.
<p><b>a-</b> Antes de comenzar el ensayo, deberá decidirse qué categoría será aceptable, es decir, solo la 1; la 1 y la 2 o incluso la 1, la 2 y la 3. Si la decisión a adoptar sobre la base de los resultados es muy importante, solo los resultados de la categoría 1 o a lo sumo los de las categorías 1 y 2 deberán aceptarse. Los resultados de la categoría 0 deben considerarse con extrema precaución.</p>	

**Tabla C. Valores de NMP por gramo de muestra y límites de confianza del 95% (cuando se usan cinco porciones de ensayo de 1 g, cinco de 0.1 g y cinco de 0.01 g)**

No. de tubos que dan reacción positiva			NMP (por gramo)	Límites de confianza (95 %) <sup>a, c</sup>	
5 de 1 g	5 de 0,1 g	5 de 0,01 g		Inferior	Superior
0	0	0	< 0,2	< 0,1	0,7
0	1	0	0,2	< 0,1	0,7
0	2	0	0,4	< 0,1	1,1
1	0	0	0,2	< 0,1	0,7
1	0	1	0,4	< 0,1	1,1
1	1	0	0,4	< 0,1	1,1
1	1	1	0,6	< 0,1	1,5
2	0	0	0,5	< 0,1	1,3
2	0	1	0,7	0,1	1,7
2	1	0	0,7	0,1	1,7
2	1	1	0,9	0,2	2,1
2	2	0	0,9	0,2	2,1
2	3	0	1,2	0,3	2,8
3	0	0	0,8	0,1	1,9
3	0	1	1,1	0,2	2,5
3	1	0	1,1	0,2	2,5
3	1	1	1,4	0,4	3,4
3	2	0	1,4	0,4	3,4
3	2	1	1,7	0,5	4,6
3	3	0	1,7	0,5	4,6
4	0	0	1,3	0,3	3,1
4	0	1	1,7	0,5	4,6
4	1	0	1,7	0,5	4,6
4	1	1	2,1	0,7	6,3
4	1	2	2,6	0,9	7,8
4	2	0	2,2	0,7	6,7
4	2	1	2,6	0,9	7,8
4	3	0	2,7	0,9	8
4	3	1	3,3	1,1	9,3
4	4	0	3,4	1,2	9,3
5	0	0	2,3	0,7	7
5	0	1	3,1	1,1	8,9
5	0	2	4,3	1,5	11
5	1	0	3,3	1,1	9,3
5	1	1	4,6	1,6	12
5	1	2	6,3	2,1	15
5	2	0	4,9	1,7	13
5	2	1	7	2,3	17
5	2	2	9,4	2,8	22
5	3	0	7,9	2,5	19
5	3	1	11	3,1	25
5	3	2	14	3,7	34
5	3	3	18	4,4	50
5	4	0	13	3,5	30
5	4	1	17	4,3	49
5	4	2	22	5,7	70
5	4	3	28	9	85
5	4	4	35	12	100
5	5	0	24	6,8	75
5	5	1	35	12	100
5	5	2	54	18	140
5	5	3	92	30	320
5	5	4	160	64	580
5	5	5	> 180		

a- Fuente: DE MAN, J.C, MPN tables (corrected), *Eur. J. Appl. Biotechnol.* 1983, 17, pp. 301-5

c- Los límites de confianza dados en esta tabla solamente intentan ofrecer una idea de la

influencia de las variaciones estadísticas en los resultados. Incluso existen también otras fuentes de variación, las cuales pueden a veces ser siempre más importantes.

## Anexo 9. Cálculos de NMP con el empleo de la serie de cinco tubos

Tabla A. NMP para 5 x 1 g (ml), 5 x 0,1 g (ml) y 5 x 0,01 g (ml)

Número de resultados positivos			Índice de NMP	Categoría <sup>a</sup> cuando el número de muestras (por lote) analizadas es					Límites de confianza			
				1	2	3	5	10	>95%	>95%	>99%	>99%
0	0	0	<0.18						0.00	0.65	0.00	0.93
0	0	1	0.18	2	2	2	1	1	0.00	0.65	0.00	0.93
0	1	0	0.18	2	2	2	1	1	0.01	0.65	0.00	0.93
0	1	1	0.36	3	3	3	2	2	0.07	0.99	0.02	1.40
0	2	0	0.37	3	2	2	2	1	0.07	0.99	0.02	1.40
0	2	1	0.55	0	0	0	3	3	0.17	1.40	0.09	2.10
0	3	0	0.56	0	3	3	3	3	0.17	1.40	0.09	2.10
1	0	0	0.20	1	1	1	1	1	0.02	0.99	0.01	1.40
1	0	1	0.40	2	1	1	1	1	0.07	1.00	0.02	1.40
1	0	2	0.60	0	0	3	3	3	0.17	1.40	0.09	2.10
1	1	0	0.40	1	1	1	1	1	0.07	1.10	0.03	1.40
1	1	1	0.61	3	2	2	2	1	0.17	1.40	0.09	2.10
1	1	2	0.81	0	0	0	0	3	0.33	2.20	0.20	2.80
1	2	0	0.61	2	1	1	1	1	0.18	1.40	0.09	2.10
1	2	1	0.82	3	3	3	3	2	0.33	2.20	0.20	2.80
1	3	0	0.83	3	3	3	3	2	0.33	2.20	0.20	2.80
1	3	1	1.0	0	0	0	0	3	0.3	2.2	0.2	2.8
1	4	0	1.1	0	0	0	0	3	0.3	2.2	0.2	2.8
2	0	0	0.45	1	1	1	1	1	0.08	1.4	0.04	2.10
2	0	1	0.68	2	1	1	1	1	0.18	1.50	0.09	2.10
2	0	2	0.91	0	3	3	3	3	0.33	2.20	0.20	2.80
2	1	0	0.68	1	1	1	1	1	0.19	1.70	0.10	2.30
2	1	1	0.92	2	2	1	1	1	0.33	2.20	0.20	2.80
2	1	2	1.2	0	0	3	3	3	0.4	2.5	0.2	3.4
2	2	0	0.93	1	1	1	1	1	0.34	2.20	0.20	2.80
2	2	1	1.2	3	3	2	2	2	0.4	2.5	0.2	3.4
2	2	2	1.4	0	0	0	0	3	0.6	3.4	0.4	4.4

Número de resultados positivos			Índice de NMP	Categoría* cuando el número de muestras (por lote) analizadas es					Límites de confianza			
				1	2	3	5	10	>95%	>95%	>99%	>99%
2	3	0	1.2	3	2	2	2	1	0.4	2.5	0.2	3.4
2	3	1	1.4	0	3	3	3	3	0.6	3.4	0.4	4.4
2	4	0	1.5	0	3	3	3	3	0.6	3.4	0.4	4.4
3	0	0	0.78	1	1	1	1	1	0.21	2.20	0.12	2.80
3	0	1	1.1	1	1	1	1	1	0.4	2.2	0.2	2.9
3	0	2	1.3	3	3	3	2	2	0.6	3.4	0.4	4.4
3	1	0	1.1	1	1	1	1	1	0.4	2.5	0.2	3.4
3	1	1	1.4	2	1	1	1	1	0.6	3.4	0.4	4.4
3	1	2	1.7	3	3	3	3	2	0.6	3.4	0.4	4.4
3	2	0	1.4	1	1	1	1	1	0.6	3.4	0.4	4.4
3	2	1	1.7	2	2	2	1	1	0.7	3.9	0.5	5.1
3	2	2	2.0	0	3	3	3	3	0.7	3.9	0.5	5.2
3	3	0	1.7	2	2	1	1	1	0.7	3.9	0.5	5.2
3	3	1	2.1	3	3	3	2	2	0.7	3.9	0.5	5.2
3	3	2	2.4	0	0	0	3	3	1.0	6.6	0.7	9.4
3	4	0	2.1	3	3	2	2	2	0.7	4.0	0.5	5.2
3	4	1	2.4	0	3	3	3	3	1.0	6.6	0.7	9.4
3	5	0	2.5	0	0	0	3	3	1.0	6.6	0.7	9.4
4	0	0	1.3	1	1	1	1	1	0.4	3.4	0.3	4.4
4	0	1	1.7	1	1	1	1	1	0.5	3.4	0.4	4.4
4	0	2	2.1	3	2	2	2	2	0.7	3.9	0.5	5.2
4	0	3	2.5	0	0	0	0	3	1.0	6.6	0.7	9.4
4	1	0	1.7	1	1	1	1	1	0.6	3.9	0.4	5.1
4	1	1	2.1	1	1	1	1	1	0.7	4.1	0.5	5.3
4	1	2	2.6	3	3	2	2	2	1.0	6.6	0.7	9.4
4	1	3	3.1	0	0	0	0	3	1.0	6.6	0.7	9.4
4	2	0	2.2	1	1	1	1	1	0.7	4.8	0.5	6.1
4	2	1	2.6	2	1	1	1	1	1.0	6.6	0.7	9.4
4	2	2	3.2	3	3	3	2	2	1.0	6.6	0.7	9.4
4	2	3	3.8	0	0	0	0	3	1.3	10.0	0.9	14.7
4	3	0	2.7	1	1	1	1	1	1.0	6.6	0.7	9.4
4	3	1	3.3	2	2	1	1	1	1.0	6.6	0.7	9.4
4	3	2	3.9	3	3	3	3	2	1.3	10.0	0.9	14.7
4	4	0	3.4	2	2	1	1	1	1.3	10.0	0.9	14.7
4	4	1	4.0	3	3	2	2	2	1.3	10.0	0.9	14.7
4	4	2	4.7	0	0	0	3	3	1.4	11.3	0.9	14.7
4	5	0	4.1	3	3	3	3	2	1.3	10.0	0.9	14.7
4	5	1	4.8	0	0	3	3	3	1.4	11.3	0.9	14.7
5	0	0	2.3	1	1	1	1	1	0.7	6.6	0.5	9.4
5	0	1	3.1	1	1	1	1	1	1.0	6.6	0.7	9.4
5	0	2	4.3	3	2	2	2	1	0.3	10.0	0.9	14.7
5	0	3	5.8	0	0	0	3	3	2.1	14.9	1.4	20.0
5	1	0	3.3	1	1	1	1	1	1.0	10.0	0.7	14.7
5	1	1	4.6	1	1	1	1	1	1.4	11.3	0.9	14.7

Número de resultados positivos			Índice de NMP	Categoría <sup>a</sup> cuando el número de muestras (por lote) analizadas es					Límites de confianza			
				1	2	3	5	10	>95%	>95%	>99%	>99%
5	1	2	6.3	2	2	1	1	1	2.1	14.9	1.4	20.0
5	1	3	8.4	3	3	3	3	2	3.4	11.0	2.1	27.0
5	2	0	4.9	1	1	1	1	1	1.5	14.9	0.9	20.0
5	2	1	7.6	1	1	1	1	1	2.2	16.8	1.4	23.0
5	2	2	9.4	2	2	1	1	1	3.4	22.0	2.1	28.0
5	2	3	12	3	3	2	2	2	3	24	2	32
5	2	4	15	0	0	0	0	3	6	35	4	45
5	3	0	7.9	1	1	1	1	1	2.3	22.0	1.5	27.0
5	3	1	11	1	1	1	1	1	3	24	2	32
5	3	2	14	1	1	1	1	1	5	35	3	45
5	3	3	17	3	2	2	2	1	7	39	4	51
5	3	4	21	3	3	3	3	2	7	39	4	51
5	4	0	13	1	1	1	1	1	3	35	3	45
5	4	1	17	1	1	1	1	1	6	39	4	51
5	4	2	22	1	1	1	1	1	7	44	4	57
5	4	3	28	2	1	1	1	1	10	70	6	92
5	4	4	35	2	2	2	1	1	10	70	6	92
5	4	5	43	0	0	3	3	3	15	106	9	150
5	5	0	24	1	1	1	1	1	7	70	4	92
5	5	1	35	1	1	1	1	1	10	106	6	150
5	5	2	54	1	1	1	1	1	15	166	10	223
5	5	3	92	1	1	1	1	1	23	253	15	338
5	5	4	160	1	1	1	1	1	40	460	20	620
5	5	5	>160									

Nota Estos resultados se basan en la Referencia [2].

<sup>a</sup> Para una explicación de las categorías, ver ISO 7218.

## Anexo 10. Método de expertos propuesto por Hurtado de Mendoza

- listado inicial de las personas que cumplen con los requisitos para ser expertos;

Código del experto	Ocupación
1	Director Logístico
2	Técnico de Gestión de la Calidad Establecimiento Pesquero Acuícola
3	Especialista UNISS
4	Especialista Principal de Gestión de la Calidad
5	Patrones de Embarcaciones
6	Jefe de Zona de Pesca
7	Pescador Fluvial
8	Buzo C
9	Especialista de Acuicultura
10	Especialista en Acuicultura
11	Técnico de Gestión de la Calidad Industria Pesquero Acuícola
12	Técnico de Gestión de la Calidad en la Industria Pesquera Acuícola
13	Jefe de Brigadas
14	Especialista UNISS

- encuesta inicial para calcular el coeficiente de conocimiento; y

Expertos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1							X			
2								X		
3		X								
4									X	
5						X				
6								X		
7					X					
8			X							
9										X
10					X					
11							X			
12								X		
13				X						
14									X	

$$K_{c1} = 7(0,1) = 0.7 \quad K_{c2} = 8(0,1) = 0.8 \quad K_{c3} = 2(0,1) = 0.2 \quad K_{c4} = 9(0,1) = 0.9$$

$$K_{c5} = 6(0,1) = 0.6 \quad K_{c6} = 8(0,1) = 0.8 \quad K_{c7} = 5(0,1) = 0.5 \quad K_{c8} = 3(0,1) = 0.3$$

$$K_{c9} = 10(0,1) = 1 \quad K_{c10} = 5(0,1) = 0.1 \quad K_{c11} = 7(0,1) = 0.7 \quad K_{c12} = 8(0,1) = 0.8$$

$$K_{c13} = 4(0,1) = 0.4 \quad K_{c14} = 9(0,1) = 0.9$$

- pregunta que permite valorar aspectos que influyen sobre el nivel de argumentación:

Experto 1

Fuentes de argumentación	Alto	Medio	Bajo
Estudios teóricos realizados		X	
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas			X
Cursos de actualización		X	

Experto 2

Fuentes de argumentación	Alto	Medio	Bajo
Estudios teóricos realizados		X	
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero	X		
Consultas bibliográficas	X		
Cursos de actualización	X		

Experto 3

Fuentes de argumentación	Alto	Medio	Bajo
Estudios teóricos realizados			X
Experiencia obtenida		X	
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero			X
Consultas bibliográficas			X
Cursos de actualización			X

Experto 4

Fuentes de argumentación	Alto	Medio	Bajo
Estudios teóricos realizados		X	
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	

Consultas bibliográficas	X		
Cursos de actualización	X		

#### Experto 5

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados		X	
Experiencia obtenida		X	
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas		X	
Cursos de actualización		X	

#### Experto 6

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados	X		
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas		X	
Cursos de actualización			X

#### Experto 7

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados			X
Experiencia obtenida		X	
Conocimientos de trabajos en Cuba		X	
Conocimientos de trabajo en el extranjero			X
Consultas bibliográficas		X	
Cursos de actualización		X	

#### Experto 8

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados			X
Experiencia obtenida		X	
Conocimientos de trabajos en Cuba			X
Conocimientos de trabajo en el extranjero			X
Consultas bibliográficas			X
Cursos de actualización			X

#### Experto 9

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados	X		
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba	X		

Conocimientos de trabajo en el extranjero	X		
Consultas bibliográficas	X		
Cursos de actualización	X		

#### Experto 10

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados		X	
Experiencia obtenida			X
Conocimientos de trabajos en Cuba			X
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas		X	
Cursos de actualización		X	

#### Experto 11

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados		X	
Experiencia obtenida			X
Conocimientos de trabajos en Cuba			X
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas			X
Cursos de actualización			X

#### Experto 12

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados	X		
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba	X		
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas	X		
Cursos de actualización	X		

#### Experto 13

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados			X
Experiencia obtenida	X		
Conocimientos de trabajos en Cuba			X
Conocimientos de trabajo en el extranjero			X
Consultas bibliográficas			X
Cursos de actualización			X

#### Experto 14

<b>Fuentes de argumentación</b>	<b>Alto</b>	<b>Medio</b>	<b>Bajo</b>
Estudios teóricos realizados	X		
Experiencia obtenida	X		

Conocimientos de trabajos en Cuba	X		
Conocimientos de trabajo en el extranjero		X	
Consultas bibliográficas	X		
Cursos de actualización	X		

- Cálculo del coeficiente de argumentación (Ka)

$$Ka_1 = 0.21 + 0.24 + 0.10 + 0.06 + 0.05 + 0.14 = 0.8$$

$$Ka_2 = 0.21 + 0.24 + 0.10 + 0.08 + 0.09 + 0.18 = 0.9$$

$$Ka_3 = 0.13 + 0.22 + 0.10 + 0.04 + 0.05 + 0.10 = 0.64$$

$$Ka_4 = 0.21 + 0.24 + 0.10 + 0.06 + 0.09 + 0.18 = 0.88$$

$$Ka_5 = 0.21 + 0.22 + 0.10 + 0.06 + 0.07 + 0.14 = 0.8$$

$$Ka_6 = 0.27 + 0.24 + 0.10 + 0.06 + 0.07 + 0.10 = 0.84$$

$$Ka_7 = 0.13 + 0.22 + 0.10 + 0.04 + 0.07 + 0.14 = 0.7$$

$$Ka_8 = 0.13 + 0.22 + 0.06 + 0.04 + 0.05 + 0.10 = 0.6$$

$$Ka_9 = 0.27 + 0.24 + 0.14 + 0.08 + 0.09 + 0.18 = 1$$

$$Ka_{10} = 0.21 + 0.12 + 0.06 + 0.06 + 0.07 + 0.14 = 0.66$$

$$Ka_{11} = 0.21 + 0.12 + 0.06 + 0.06 + 0.05 + 0.10 = 0.6$$

$$Ka_{12} = 0.27 + 0.24 + 0.14 + 0.06 + 0.09 + 0.18 = 0.98$$

$$Ka_{13} = 0.13 + 0.24 + 0.06 + 0.04 + 0.05 + 0.10 = 0.62$$

$$Ka_{14} = 0.27 + 0.24 + 0.14 + 0.06 + 0.09 + 0.18 = 0.98$$

- Cálculo del coeficiente de competencia (K)

$$K_1 = 0.5 \cdot (0.7 + 0.8) = 0.75$$

$$K_2 = 0.5 \cdot (0.8 + 0.9) = 0.85$$

$$K_3 = 0.5 \cdot (0.2 + 0.64) = 0.42$$

$$K_4 = 0.5 \cdot (0.9 + 0.88) = 0.89$$

$$K_5 = 0.5 \cdot (0.6 + 0.8) = 0.7$$

$$K_6 = 0.5 \cdot (0.8 + 0.84) = 0.82$$

$$K_7 = 0.5 \cdot (0.5 + 0.7) = 0.6$$

$$K_8 = 0.5 * (0.3 + 0.6) = 0.45$$

$$K_9 = 0.5 * (1 + 1) = 1$$

$$K_{10} = 0.5 * (0.5 + 0.66) = 0.58$$

$$K_{11} = 0.5 * (0.7 + 0.6) = 0.65$$

$$K_{12} = 0.5 * (0.8 + 0.98) = 0.89$$

$$K_{13} = 0.5 * (0.4 + 0.62) = 0.51$$

$$K_{14} = 0.5 * (0.9 + 0.98) = 0.94$$

**Anexo 11. Cuestionarios para obtener criterios sobre el procedimiento para determinar los factores pre cosecha y post cosecha que afectan a los productos pesqueros de la empresa pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR”**

Estimado compañero(a):

En la Empresa Pesquera de Sancti Spíritus “PESCASPIR” se ha desarrollado un procedimiento para el control de los factores pre cosecha y post cosecha que mayor afecta los productos pesqueros y así reducir las pérdidas post cosecha, lo que contribuye a mejorar la calidad de los procesos existentes en la entidad. En este momento se pretende recoger opiniones acerca de su factibilidad. Se pensó en usted por el dominio que tiene sobre el tema, se sugiere que al revisar el procedimiento fije su atención en el orden de las etapas propuestas, en correspondencia con el objetivo que se persigue, en su contribución al mejoramiento de la calidad, así como la pertinencia de la propuesta. Se agradece de antemano la colaboración, se garantiza el anonimato y se pide que sea sincero en la respuesta, por la importancia de los criterios para perfeccionar este trabajo.

1 - La valoración se realiza sobre la base de los siguientes requerimientos.

Según considere, usted, marque con una (X) en la tabla siguiente los rangos o parámetros para valorar los indicadores que permitan validar el procedimiento.

Observe la significación de cada rango:

- Muy adecuado (MA).
- Bastante adecuado (BA).
- Adecuado (A).
- Poco adecuado (PA).
- Inadecuado (I).

2- Si lo considera necesario puede ofrecer otros argumentos que amplíen la valoración de los diferentes aspectos y dar recomendaciones para perfeccionar el procedimiento.

Factores pre cosecha a controlar	Escala valorativa				
	MA	BA	A	PA	I
1. Especie					
2. Edad					
3. Peso					
4. Condiciones de producción					
5. Temperatura del agua					
6. Salinidad					
7. Contaminación química					
8. Contaminación microbiana					
9. Composición de la comida					
10. Frecuencia de alimentación					
11. Inanición					

Factores post cosecha a controlar	Escala valorativa				
	MA	BA	A	PA	I
12. Malas prácticas de manipulación y transportación					
13. Fase tiempo-temperatura					
14. Incumplimiento de las normas sanitarias					
15. Conservación de la cadena de frío					

## Anexo 12. Resultados del método Delphi para validar el procedimiento

Factores	Datos introducidos por los expertos						
	1	2	4	6	9	12	14
1	1	1	1	1	2	1	1
2	2	1	1	2	1	1	1
3	1	2	2	2	1	1	1
4	1	1	1	1	1	1	1
5	1	2	1	1	1	1	1
6	5	4	4	4	4	4	4
7	1	1	2	1	1	2	1
8	1	1	1	1	1	1	1
9	4	4	4	4	4	4	4
10	4	4	4	5	4	4	4
11	4	4	4	4	4	4	4
12	1	2	1	1	2	2	1
13	1	1	1	1	1	1	2
14	1	2	2	1	2	2	2
15	1	1	2	1	1	1	1

Frecuencias absolutas de categorías por factores						
Factores	Escala valorativa					Total
	MA	BA	A	PA	I	
1	6	1	0	0	0	7
2	5	2	0	0	0	7
3	4	3	0	0	0	7
4	7	0	0	0	0	7
5	6	1	0	0	0	7
6	0	0	0	6	1	7
7	5	2	0	0	0	7
8	7	0	0	0	0	7
9	0	0	0	7	0	7
10	0	0	0	6	1	7
11	0	0	0	7	0	7
12	4	3	0	0	0	7
13	6	1	0	0	0	7
14	2	5	0	0	0	7
15	6	1	0	0	0	7
<b>Frecuencias acumuladas absolutas de categorías por factores</b>						

Factores	Escala valorativa				
	MA	BA	A	PA	I
1	6	7	7	7	7
2	5	7	7	7	7
3	4	7	7	7	7
4	7	7	7	7	7
5	6	7	7	7	7
6	0	0	0	6	7
7	5	7	7	7	7
8	7	7	7	7	7
9	0	0	0	7	7
10	0	0	0	6	7
11	0	0	0	7	7
12	4	7	7	7	7
13	6	7	7	7	7
14	2	7	7	7	7
15	6	7	7	7	7

<b>Frecuencias acumuladas relativas de categorías por factores</b>					
<b>Factores</b>	<b>Escala valorativa</b>				
	<b>MA</b>	<b>BA</b>	<b>A</b>	<b>PA</b>	<b>I</b>
<b>1</b>	0.85714	1	1	1	1
<b>2</b>	0.71429	1	1	1	1
<b>3</b>	0.57143	1	1	1	1
<b>4</b>	1	1	1	1	1
<b>5</b>	0.85714	1	1	1	1
<b>6</b>	0	0	0	0.85714	1
<b>7</b>	0.71429	1	1	1	1
<b>8</b>	1	1	1	1	1
<b>9</b>	0	0	0	1	1
<b>10</b>	0	0	0	0.85714	1
<b>11</b>	0	0	0	1	1
<b>12</b>	0.57143	1	1	1	1
<b>13</b>	0.85714	1	1	1	1
<b>14</b>	0.28571	1	1	1	1
<b>15</b>	0.85714	1	1	1	1

Puntos de corte y escala								
Factores	Categorías					Suma	Promedio	N - P
	MA	BA	A	PA	I			
1	1.07	3.49	3.49	3.49	3.49	15.03	3.006	-1.047
2	0.57	3.49	3.49	3.49	3.49	14.53	2.906	-0.947
3	0.18	3.49	3.49	3.49	3.49	14.14	2.828	-0.869
4	3.49	3.49	3.49	3.49	3.49	17.45	3.49	-1.531
5	1.07	3.49	3.49	3.49	3.49	15.03	3.486	-1.047
6	-3.49	-3.49	-3.49	1.07	3.49	-5.91	-1.182	3.141
7	0.57	3.49	3.49	3.49	3.49	14.53	2.906	-0.947
8	3.49	3.49	3.49	3.49	3.49	17.45	3.49	-1.531
9	-3.49	-3.49	-3.49	3.49	3.49	-3.49	-0.698	2.657
10	-3.49	-3.49	-3.49	1.07	3.49	-5.91	-1.182	3.141
11	-3.49	-3.49	-3.49	3.49	3.49	-3.49	-0.698	2.657
12	0.18	3.49	3.49	3.49	3.49	14.14	2.828	-0.869
13	1.07	3.49	3.49	3.49	3.49	15.03	3.486	-1.047
14	-0.57	3.49	3.49	3.49	3.49	13.39	2.678	-0.719
15	1.07	3.49	3.49	3.49	3.49	15.03	3.486	-1.047
<b>Suma</b>	-1.77	24.43	24.43	47.51	52.35	<b>146.95</b>		
<b>Puntos de corte</b>	<b>-0.118</b>	<b>1.629</b>	<b>1.629</b>	<b>3.167</b>	<b>3.490</b>	<b>N=1.959</b>		

Si  $N-P < \text{Punto de corte}$ , la opinión de los expertos es válida, en caso de cumplirse la condición para varios puntos de corte se elige el de menor valor.

Como  $-1.047 < -0.118$  se considera válida la opinión de los expertos

<b>Matriz de relación indicadores-categorías</b>					
<b>Factores</b>	<b>Categorías</b>				
	<b>MA</b>	<b>BA</b>	<b>A</b>	<b>PA</b>	<b>I</b>
<b>1</b>	X				
<b>2</b>	X				
<b>3</b>	X				
<b>4</b>	X				
<b>5</b>	X				
<b>6</b>					X
<b>7</b>	X				
<b>8</b>	X				
<b>9</b>					X
<b>10</b>					X
<b>11</b>					X
<b>12</b>	X				
<b>13</b>	X				
<b>14</b>	X				
<b>15</b>	X				

**Anexo 13. Método de expertos basado en el cálculo del coeficiente de Kendall**

Expertos	Factores											
	1	2	3	4	5	7	8	12	13	14	15	
1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
2	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	1	
4	1	1	2	1	1	2	1	1	1	2	2	
6	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	
9	2	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	
12	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	1	
14	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	
$\sum R_j$	8	9	10	7	8	9	7	10	8	12	8	$\sum = 96$
$T=1/2*(K+1)*M$	42											
$\Delta=\sum R_j-T$	-34	-33	-32	-35	-34	-33	-35	-32	-34	-30	-34	
$\Delta^2$	1156	1089	1024	1225	1156	1089	1225	1024	1156	900	1156	$S=\sum \Delta^2=12200$
$W=12*\sum \Delta^2/M^2*(K^3-K)=12*12200/7^2*(11^3-11)=146400/64680=2.26345$												

K: 11 factores

M: 7 expertos

Como  $K > 7$  la región crítica es:  $x^2 > x^2_{\alpha, k-1}$

$x^2$  calculado=  $M * W (K-1)=158.442$

$158.442 > 23.209$  con un nivel de confianza del 99%

Al cumplirse esto se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto existe concordancia en el juicio de los expertos.

### Anexo 14. Resultados del laboratorio para el análisis sensorial

Tabla A. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad apariencia/color de la piel de la carpa

Piel									
Apariencia/color									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
2	0	0	0	0	0	1	1	2	
3	0	0	0	1	1	1	2		
4	0	0	0	1	1	2			
5	0	0	0	0	0	1	1	2	
6	0	0	0	0	1	1	2		
7	0	0	0	1	1	1	2		
8	0	0	1	1	1	2			

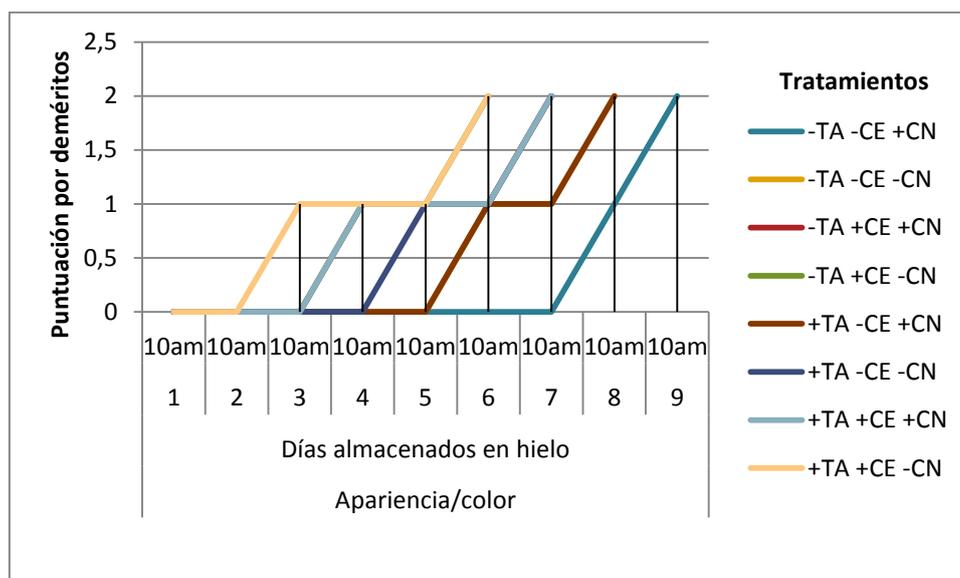
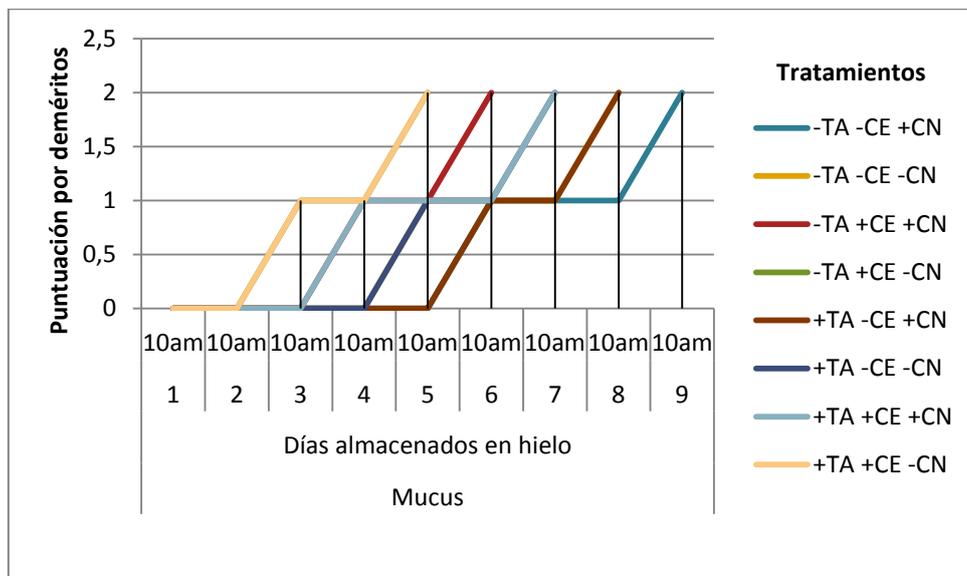


Figura A. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con la apariencia/color de la piel de acuerdo a la puntuación por deméritos

**Tabla B. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad mucus de la piel de la carpa**

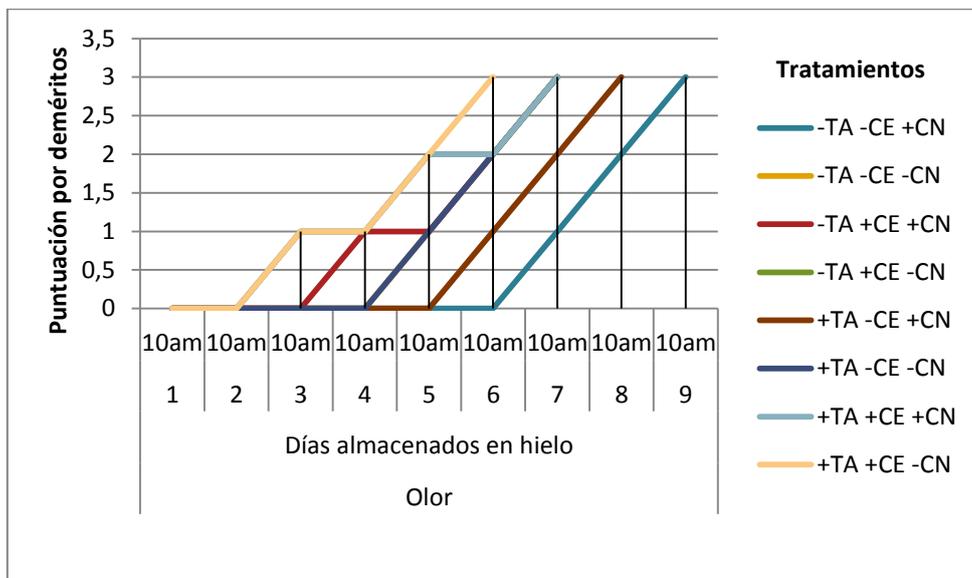
Piel									
Mucus									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	1	1	1	2
2	0	0	0	0	1	1	1	2	
3	0	0	0	1	1	2			
4	0	0	1	1	2				
5	0	0	0	0	0	1	1	2	
6	0	0	0	0	1	1	2		
7	0	0	0	1	1	1	2		
8	0	0	1	1	2				



**Figura B. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con el mucus de la piel de acuerdo a la puntuación por deméritos**

**Tabla C. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad olor de la piel de la carpa**

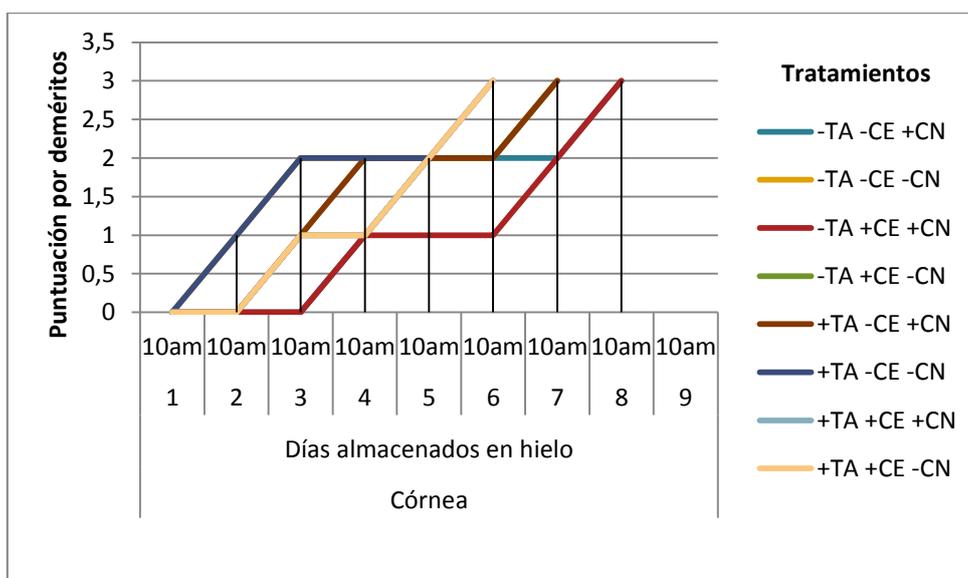
Piel									
Olor									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	1	2	3
2	0	0	0	0	1	2	3		
3	0	0	0	1	1	2	3		
4	0	0	1	1	2	2	3		
5	0	0	0	0	0	1	2	3	
6	0	0	0	0	1	2	3		
7	0	0	1	1	2	2	3		
8	0	0	1	1	2	3			



**Figura C. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con el olor de la piel de acuerdo a la puntuación por deméritos**

**Tabla D. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad córnea de los ojos de la carpa**

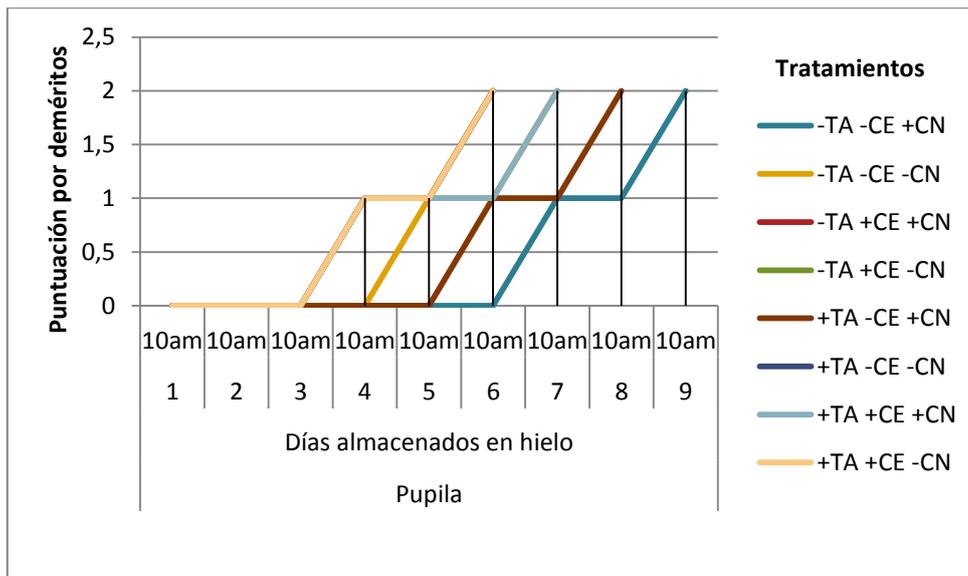
Ojos								
Córnea								
Días almacenados en hielo								
	1	2	3	4	5	6	7	8
	10am							
1	0	0	0	1	2	2	2	3
2	0	1	2	2	2	2	3	
3	0	0	0	1	1	1	2	3
4	0	0	1	1	2	2	3	
5	0	0	1	2	2	2	3	
6	0	1	2	2	2	3		
7	0	0	1	1	2	3		
8	0	0	1	1	2	3		



**Figura D. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con la córnea de los ojos de acuerdo a la puntuación por deméritos**

**Tabla E. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad pupila de los ojos de la carpa**

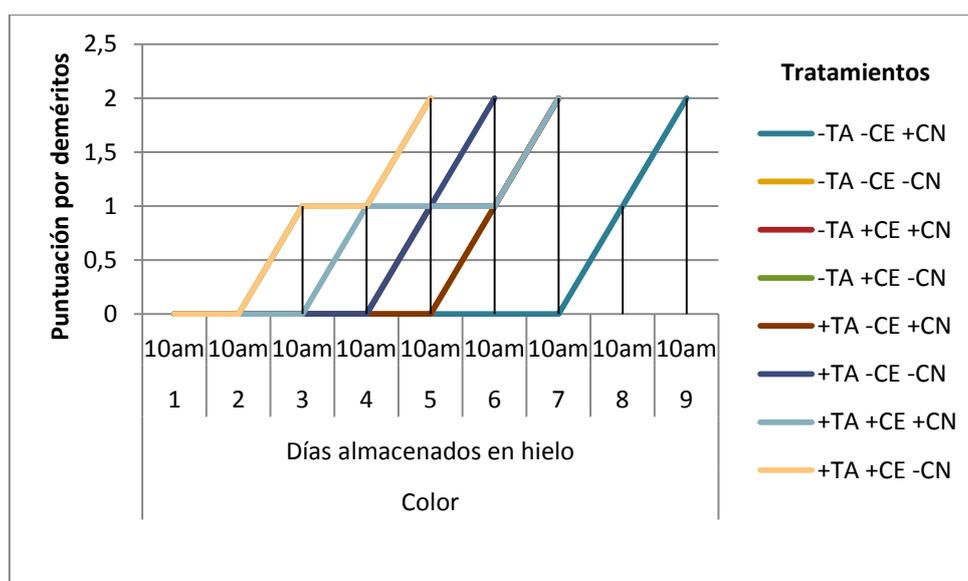
Ojos									
Pupila									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	1	1	2
2	0	0	0	0	1	1	2		
3	0	0	0	1	1	2			
4	0	0	0	1	1	2			
5	0	0	0	0	0	1	1	2	
6	0	0	0	1	1	2			
7	0	0	0	1	1	1	2		
8	0	0	0	1	1	2			



**Figura E. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con la pupila de los ojos de acuerdo a la puntuación por deméritos**

**Tabla F. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad color de las branquias de la carpa**

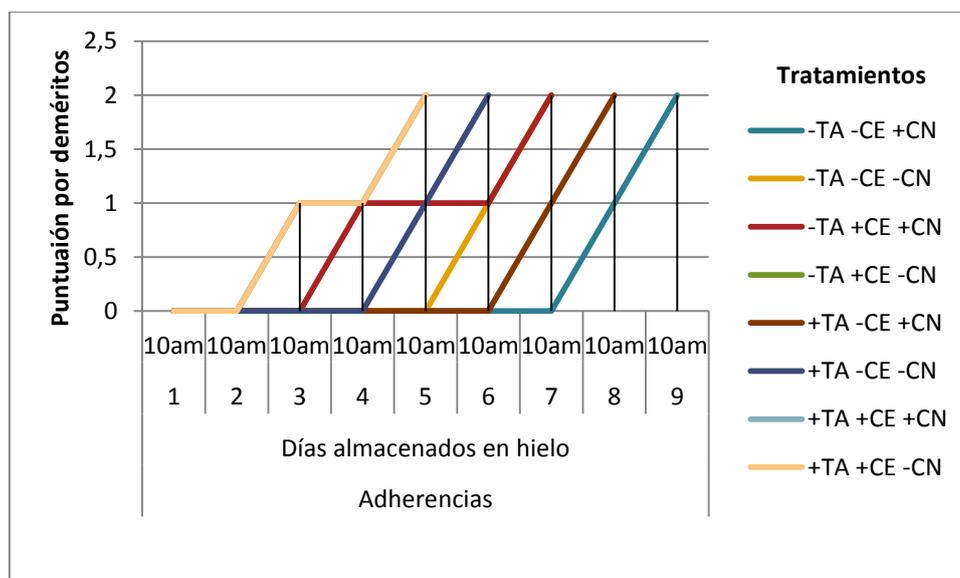
Branquias									
Color									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
2	0	0	0	0	0	1	2		
3	0	0	0	0	1	1	2		
4	0	0	1	1	2				
5	0	0	0	0	0	1	2		
6	0	0	0	0	1	2			
7	0	0	0	1	1	1	2		
8	0	0	1	1	2				



**Figura F. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con el color de las branquias de acuerdo a la puntuación por deméritos**

**Tabla G. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad adherencias de las branquias de la carpa**

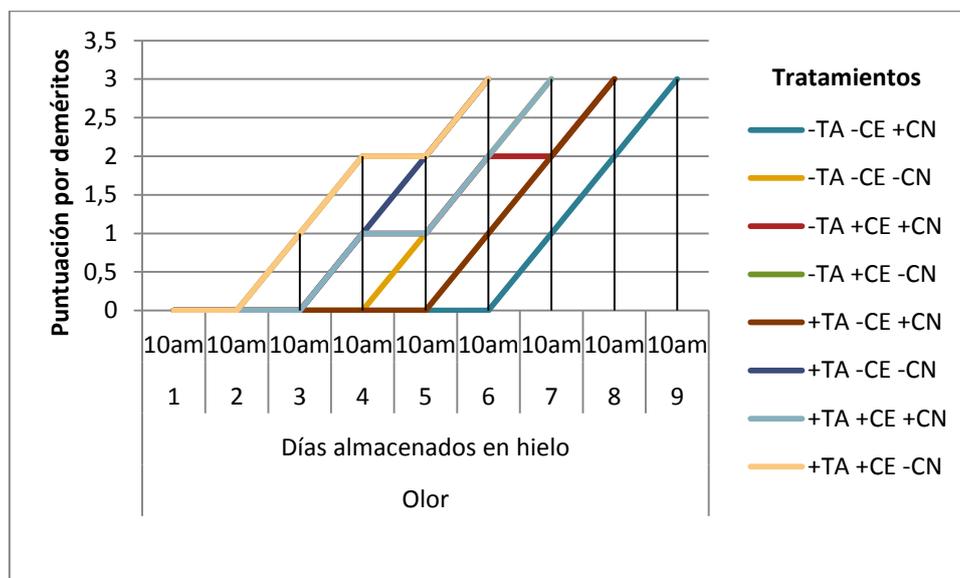
Branquias									
Adherencias									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	0	1	2
2	0	0	0	0	0	1	2		
3	0	0	0	1	1	1	2		
4	0	0	1	1	2				
5	0	0	0	0	0	0	1	2	
6	0	0	0	0	1	2			
7	0	0	1	1	2				
8	0	0	1	1	2				



**Figura G. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con la adherencia de las branquias de acuerdo a la puntuación por deméritos**

**Tabla H. Valores por deméritos del análisis sensorial al parámetro de calidad olor de las branquias de la carpa**

Branquias									
Olor									
Días almacenados en hielo									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	10am								
1	0	0	0	0	0	0	1	2	3
2	0	0	0	0	1	2	3		
3	0	0	0	1	1	2	2	3	
4	0	0	1	2	2	3			
5	0	0	0	0	0	1	2	3	
6	0	0	0	1	2	3			
7	0	0	0	1	1	2	3		
8	0	0	1	2	2	3			



**Figura H. Análisis sensorial de vida útil de la carpa en relación con el olor de las branquias de acuerdo a la puntuación por deméritos**

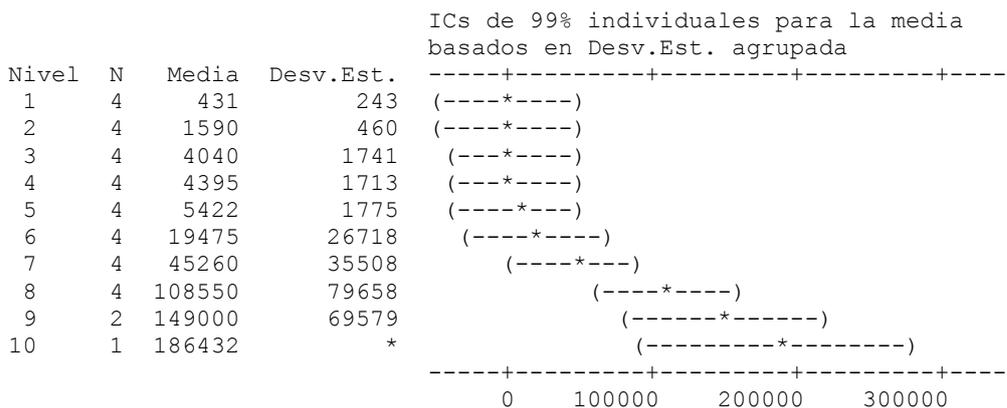
## Anexo 15. Resultados ANOVA para el análisis microbiológico

### Microorganismos a 30°C

#### ANOVA unidireccional: Microorganismos a 30°C vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	9	92265264891	10251696099	8.59	0.000
Error	25	29829890842	1193195634		
Total	34	1.22095E+11			

S = 34543 R-cuad. = 75.57% R-cuad. (ajustado) = 66.77%

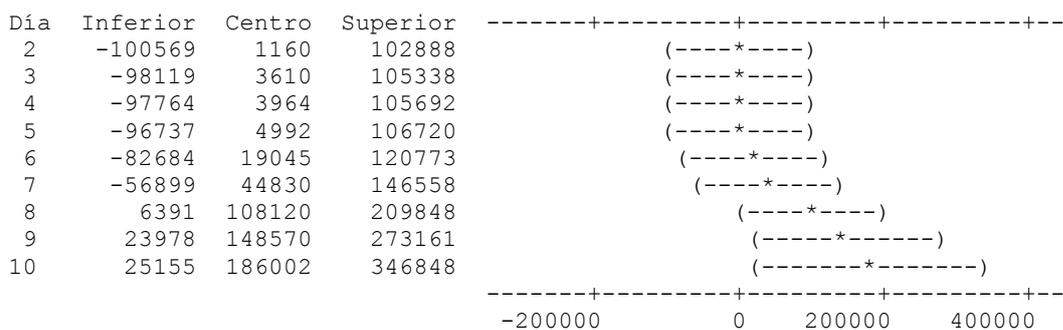


Desv.Est. agrupada = 34543

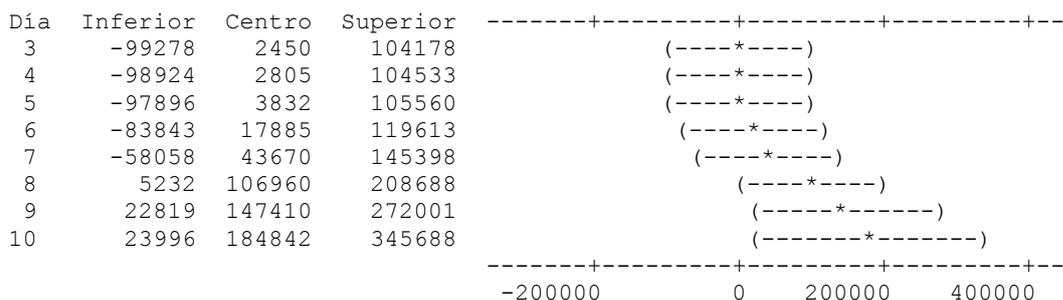
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.97%

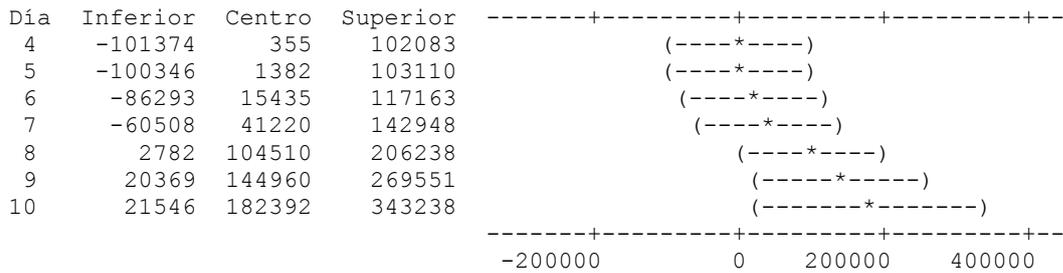
Día = 1 restado de:



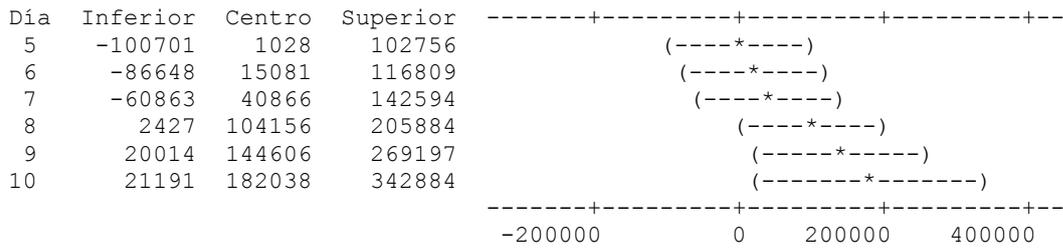
Día = 2 restado de:



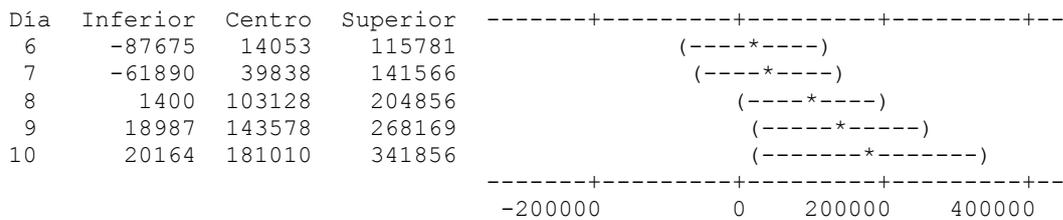
Día = 3 restado de:



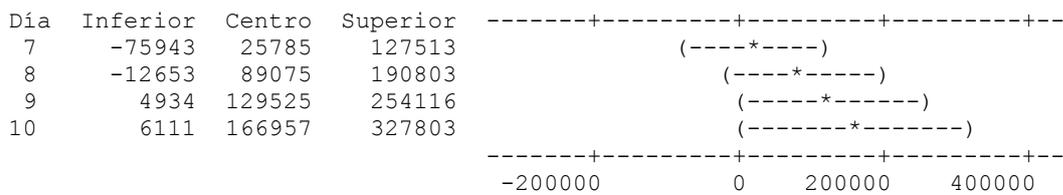
Día = 4 restado de:



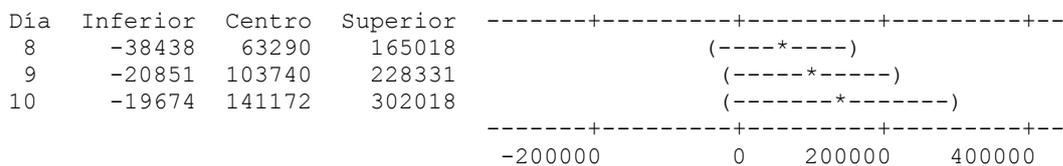
Día = 5 restado de:



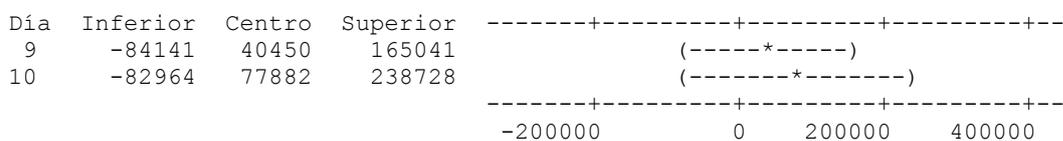
Día = 6 restado de:



Día = 7 restado de:



Día = 8 restado de:



Día = 9 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
10	-138766	37432	213630

(-----\*-----)

-200000                      0                      200000                      400000

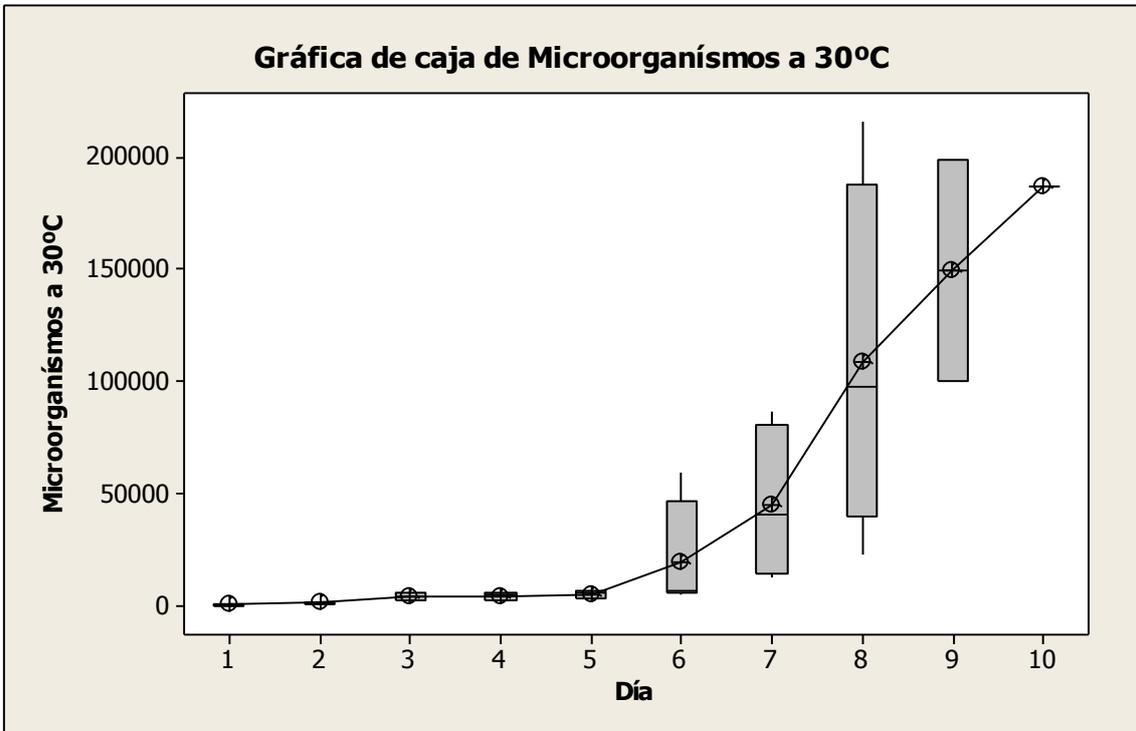


Figura A. Gráfico de cajas de microorganismos a 30°C

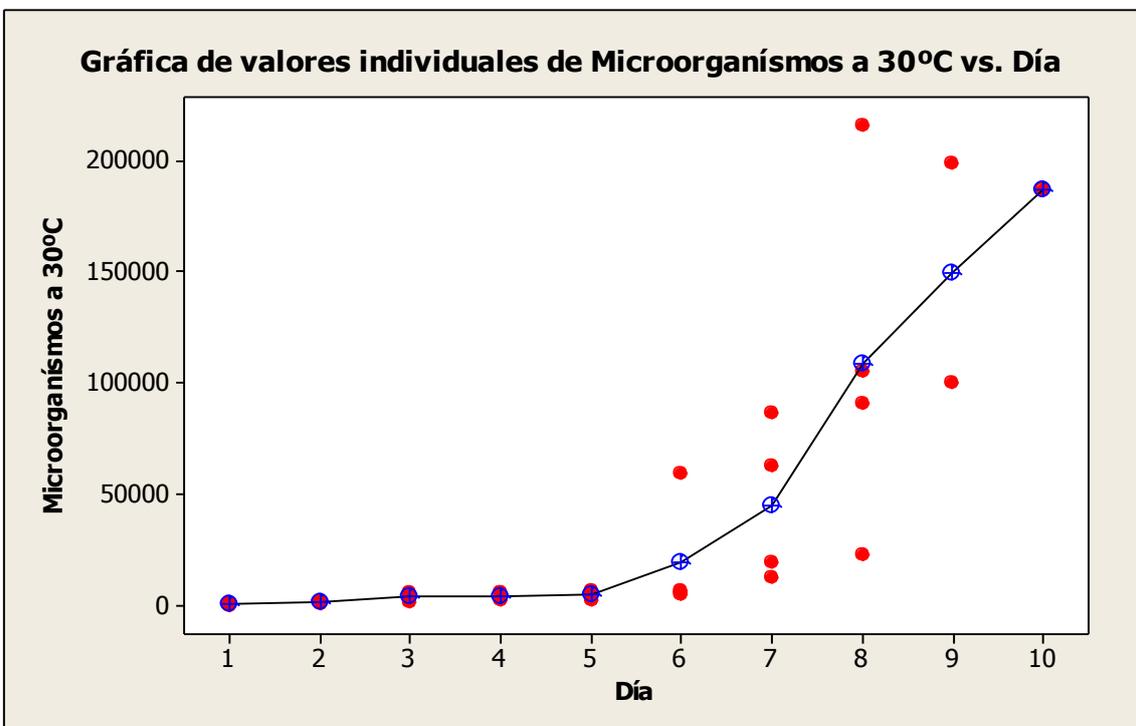


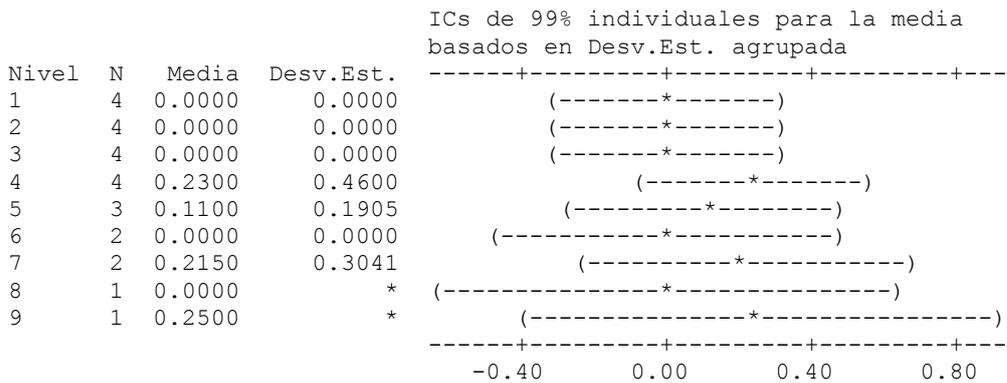
Figura B. Gráfico de valores individuales de microorganismos a 30°C vs. Días

## Coliformes a 45°C

### ANOVA unidireccional: Coliformes a 45°C vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	0.2539	0.0317	0.63	0.738
Error	16	0.7999	0.0500		
Total	24	1.0537			

S = 0.2236 R-cuad. = 24.09% R-cuad.(ajustado) = 0.00%

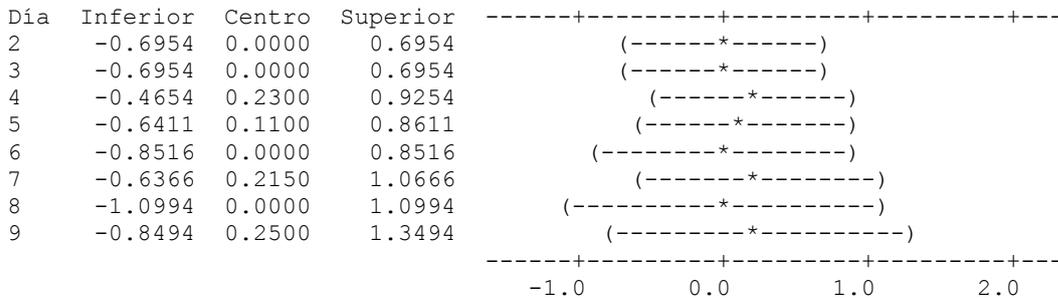


Desv.Est. agrupada = 0.2236

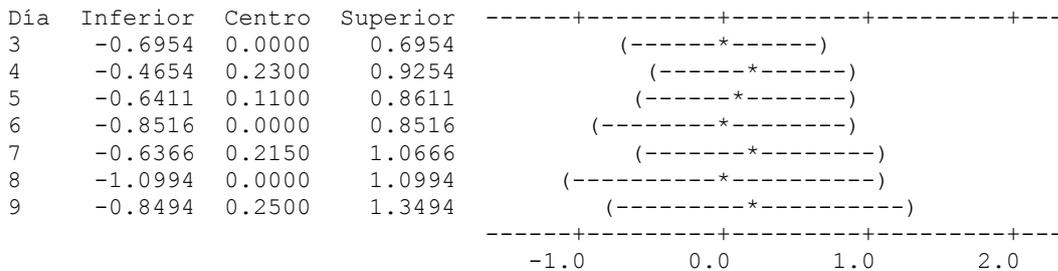
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

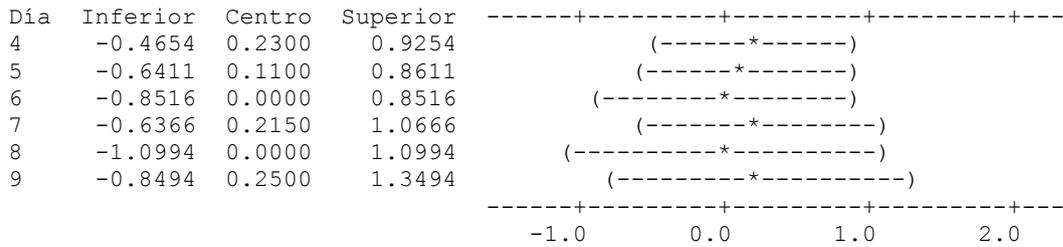
Día = 1 restado de:



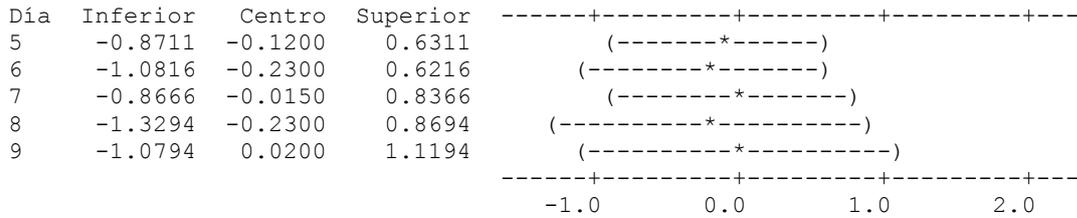
Día = 2 restado de:



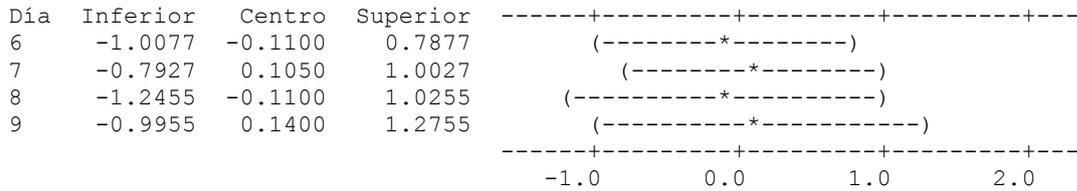
Día = 3 restado de:



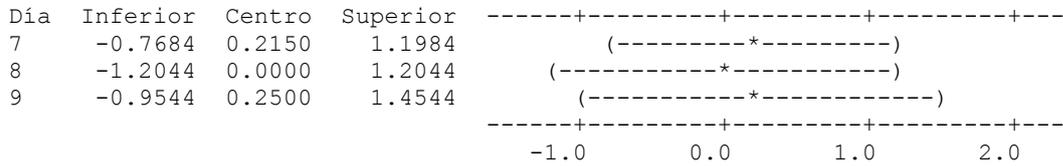
Día = 4 restado de:



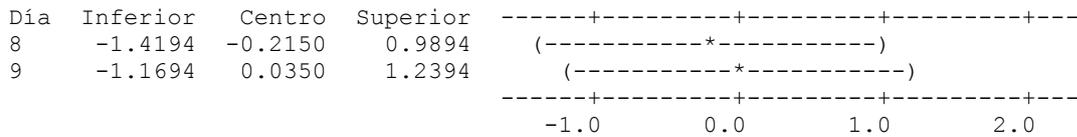
Día = 5 restado de:



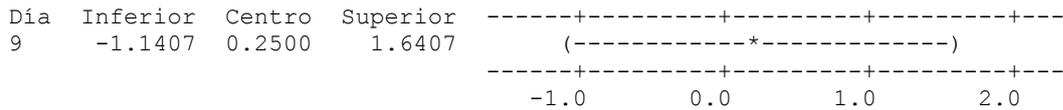
Día = 6 restado de:



Día = 7 restado de:



Día = 8 restado de:



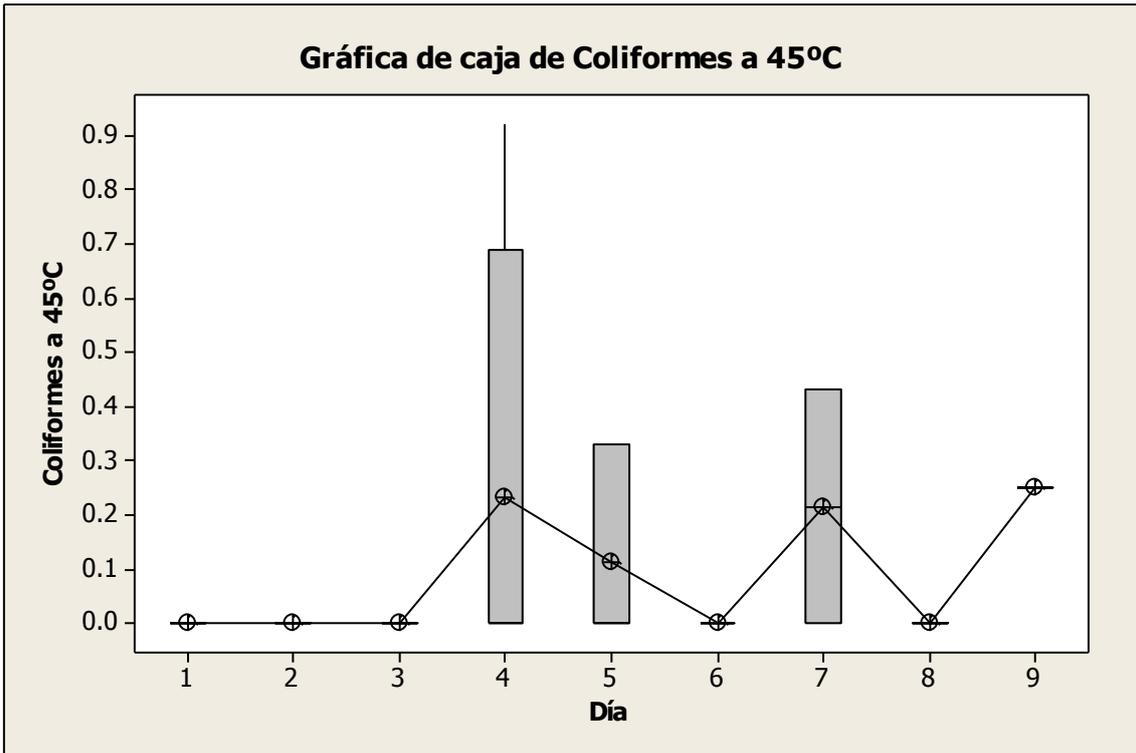


Figura C. Gráfico de caja de Coliformes a 45°C

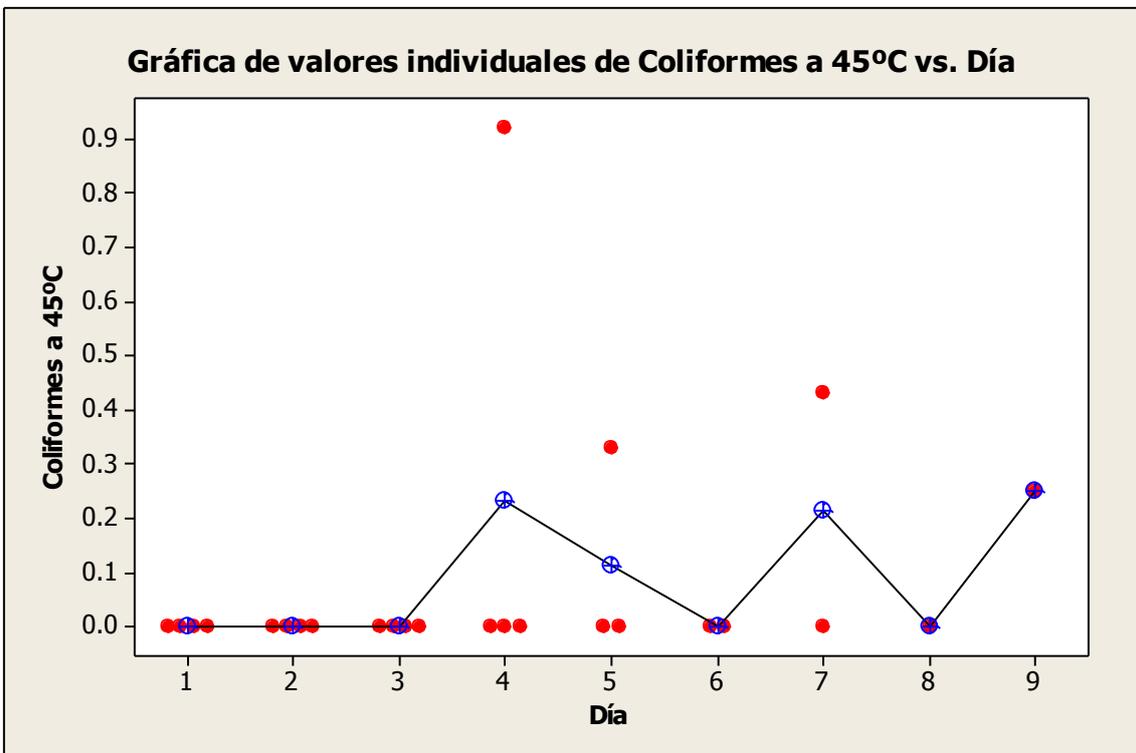


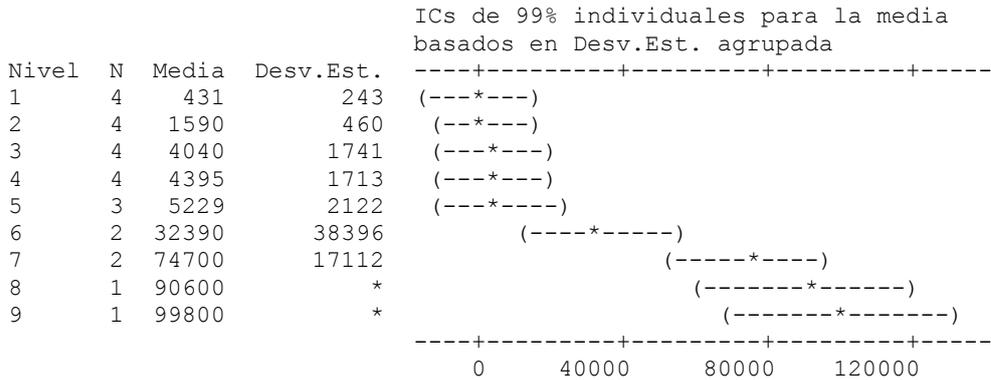
Figura D. Gráfica de valores individuales de Coliformes a 45°C vs. Días

## Análisis microbiológico general

### ANOVA unidireccional: Análisis Microbiológico vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	23121215834	2890151979	25.76	0.000
Error	16	1794788097	112174256		
Total	24	24916003930			

S = 10591 R-cuad. = 92.80% R-cuad.(ajustado) = 89.19%

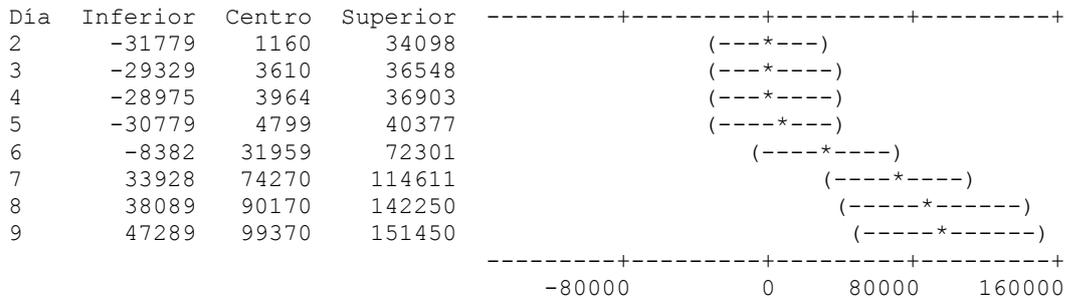


Desv.Est. agrupada = 10591

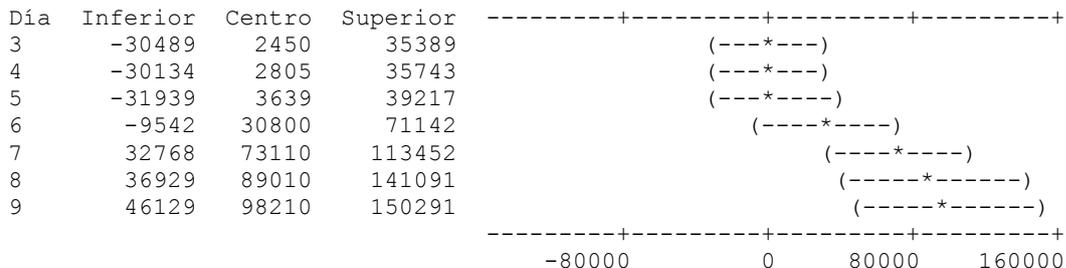
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

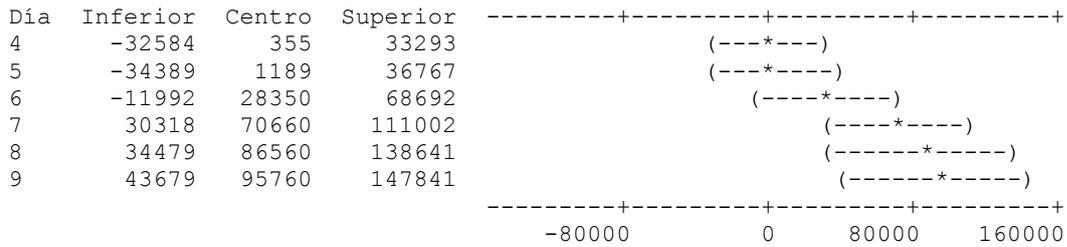
Día = 1 restado de:



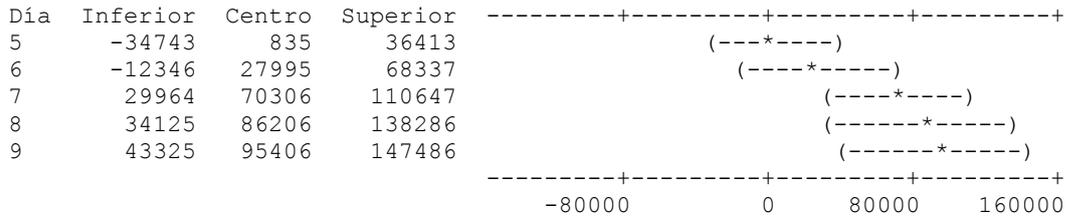
Día = 2 restado de:



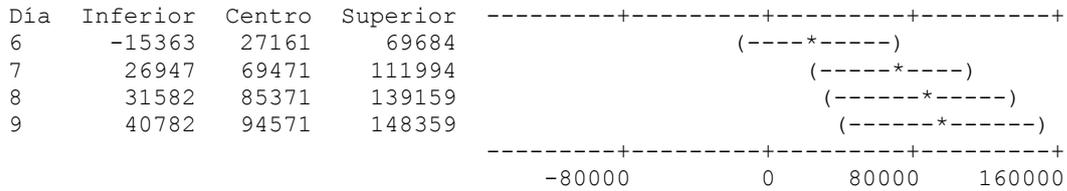
Día = 3 restado de:



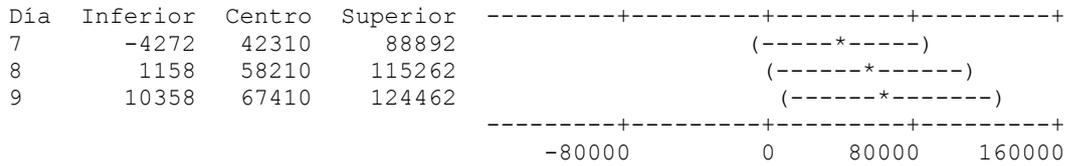
Día = 4 restado de:



Día = 5 restado de:



Día = 6 restado de:



Día = 7 restado de:



Día = 8 restado de:



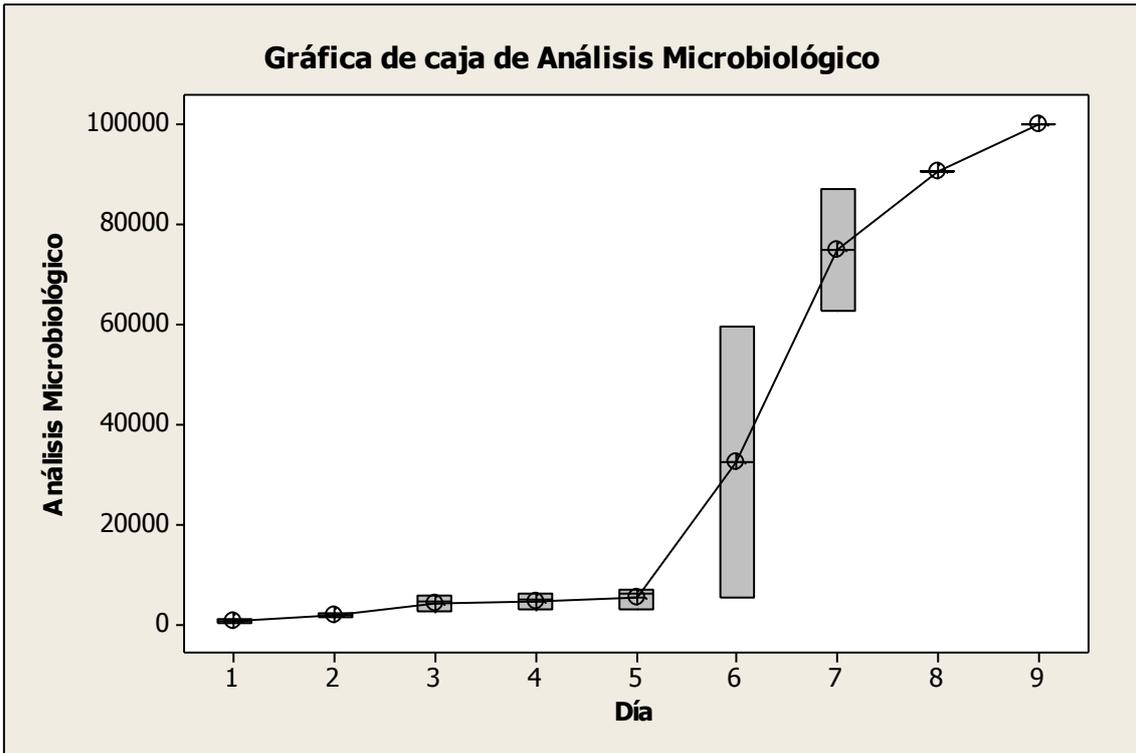


Figura E. Gráfico de caja para el análisis microbiológico

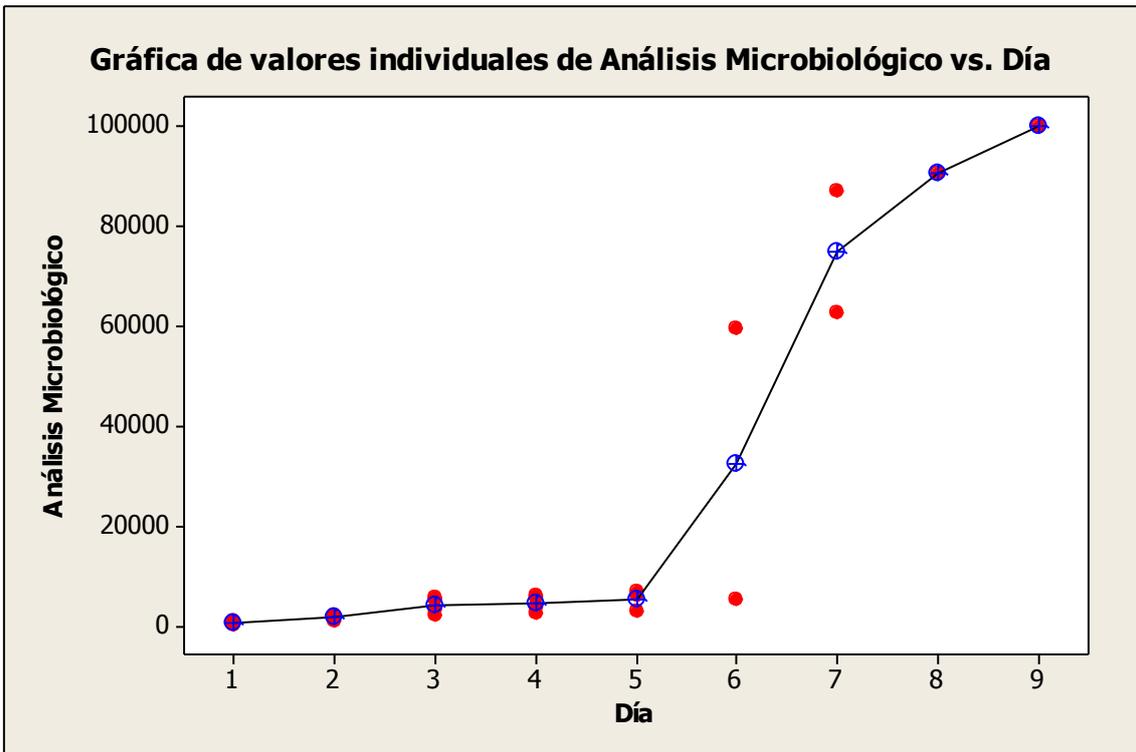


Figura F. Gráfico de valores individuales del análisis microbiológico vs. Días

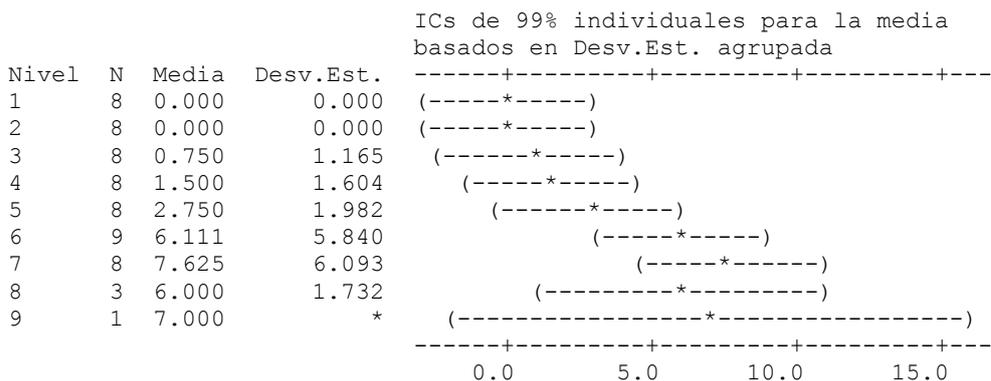
## Anexo 16. Resultados ANOVA para el análisis sensorial

### Piel

#### ANOVA unidireccional: Piel vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	504.2	63.0	5.52	0.000
Error	52	593.8	11.4		
Total	60	1097.9			

S = 3.379 R-cuad. = 45.92% R-cuad. (ajustado) = 37.60%

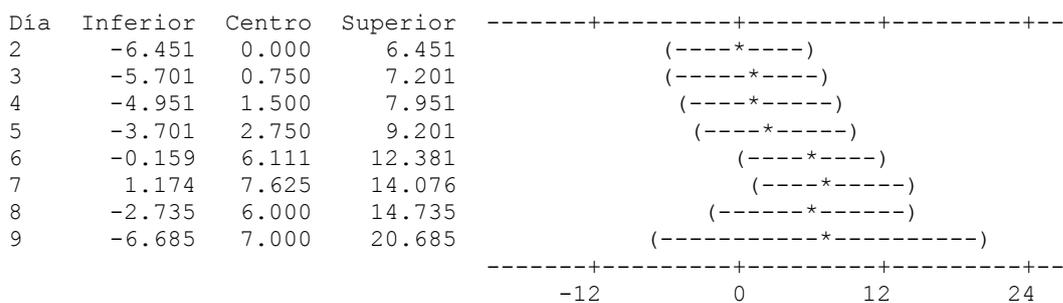


Desv.Est. agrupada = 3.379

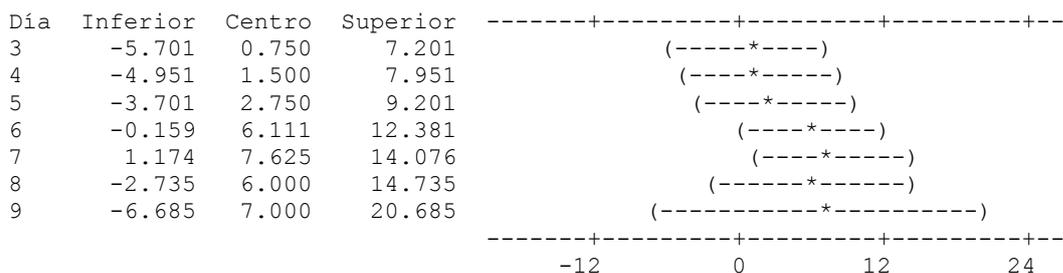
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

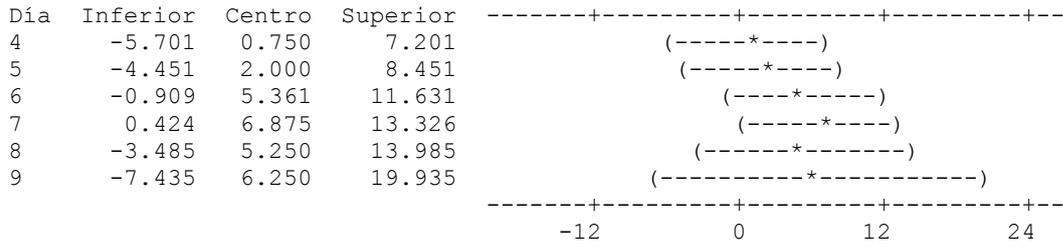
Día = 1 restado de:



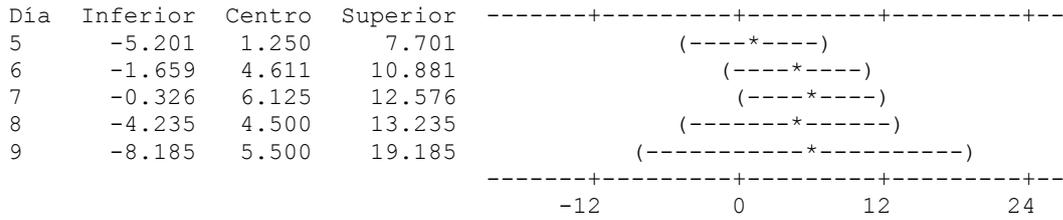
Día = 2 restado de:



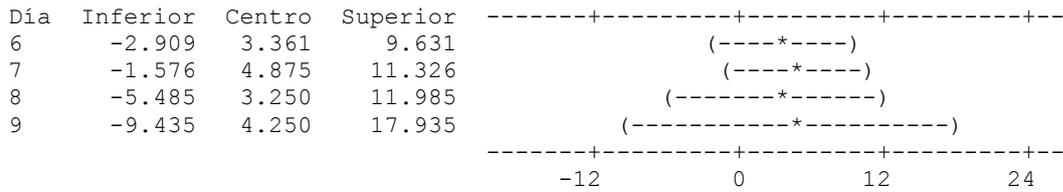
Día = 3 restado de:



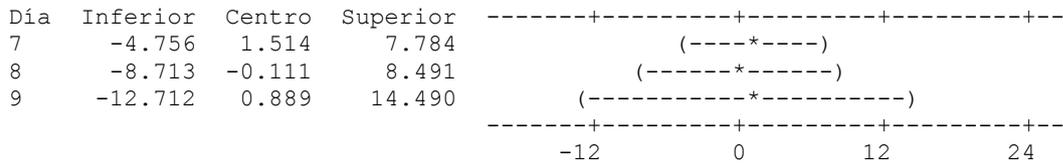
Día = 4 restado de:



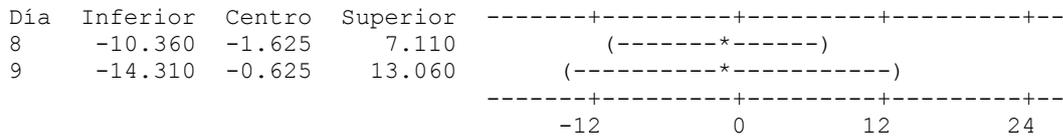
Día = 5 restado de:



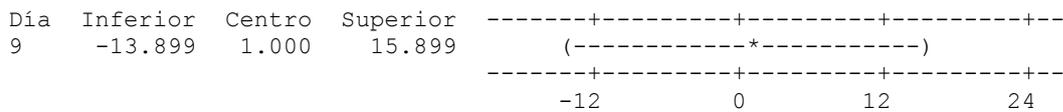
Día = 6 restado de:



Día = 7 restado de:



Día = 8 restado de:



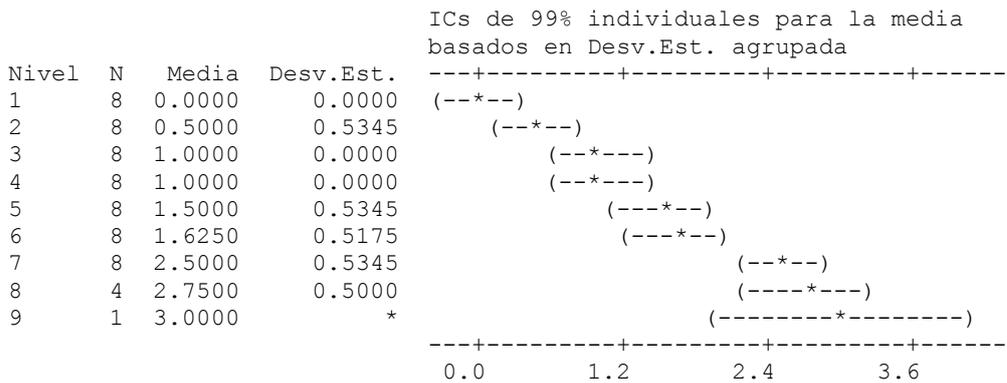


## Rigidez/textura

### ANOVA unidireccional: Rigidez/ textura vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	44.064	5.508	33.21	0.000
Error	52	8.625	0.166		
Total	60	52.689			

S = 0.4073 R-cuad. = 83.63% R-cuad.(ajustado) = 81.11%

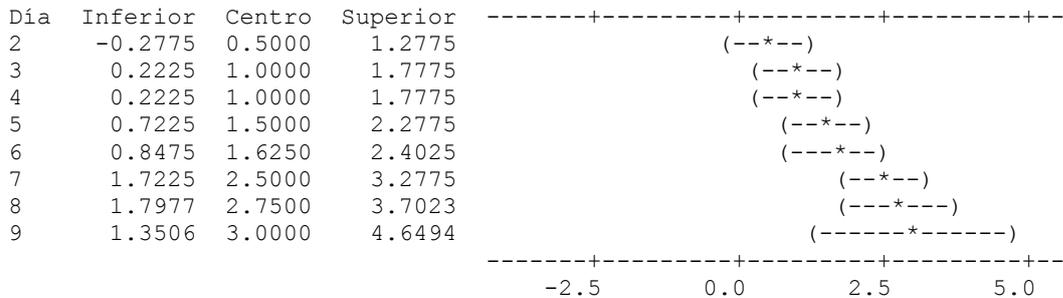


Desv.Est. agrupada = 0.4073

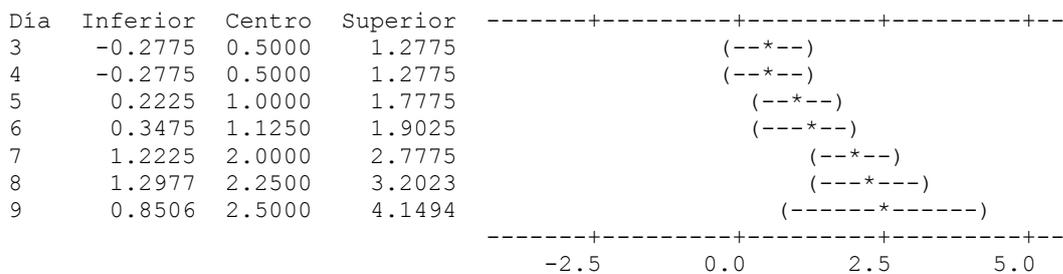
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

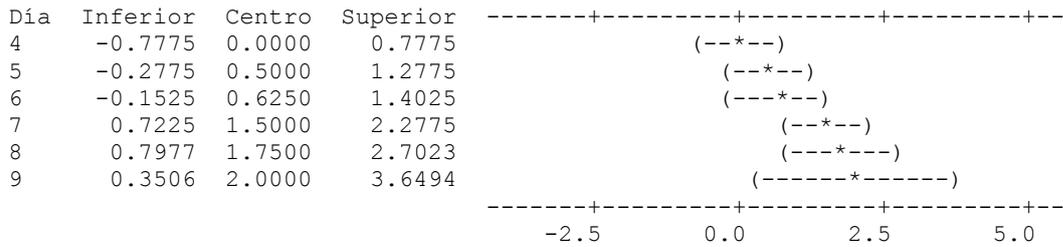
Día = 1 restado de:



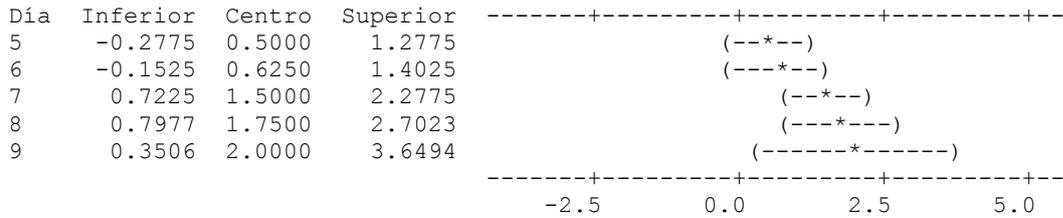
Día = 2 restado de:



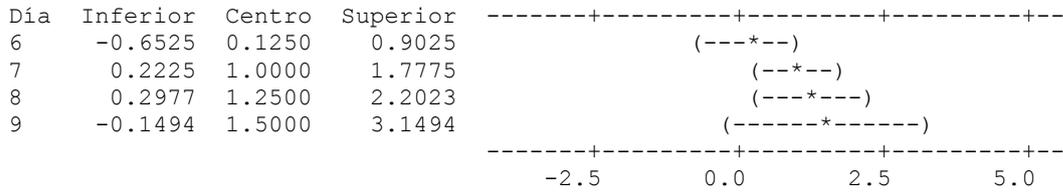
Día = 3 restado de:



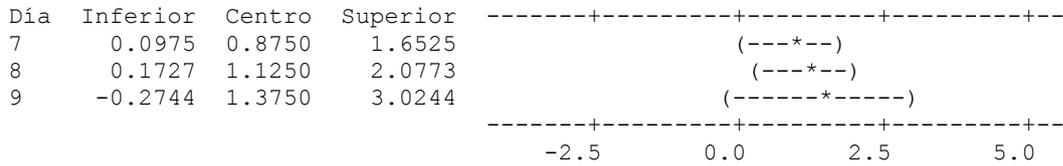
Día = 4 restado de:



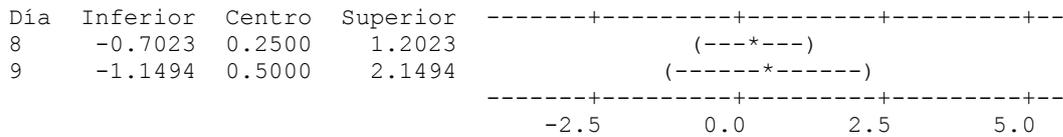
Día = 5 restado de:



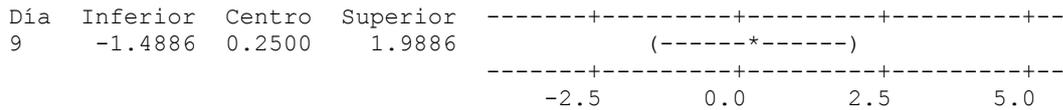
Día = 6 restado de:



Día = 7 restado de:



Día = 8 restado de:



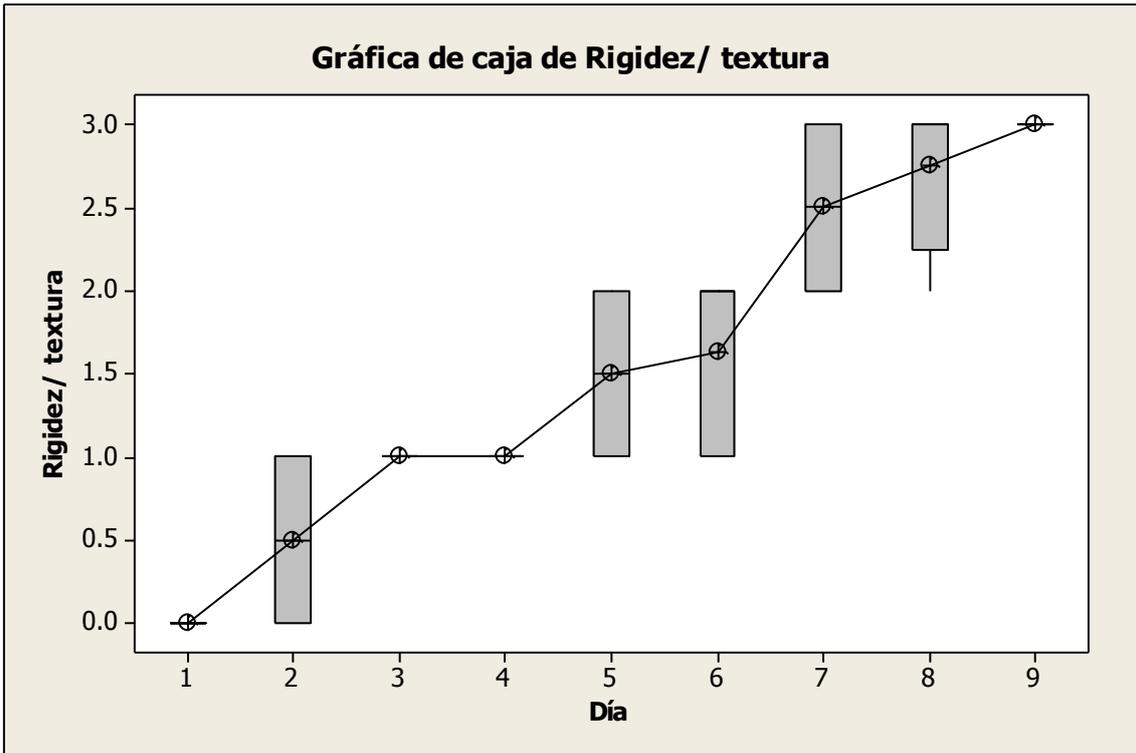


Figura C. Gráfico de caja para la rigidez/textura de la carpa

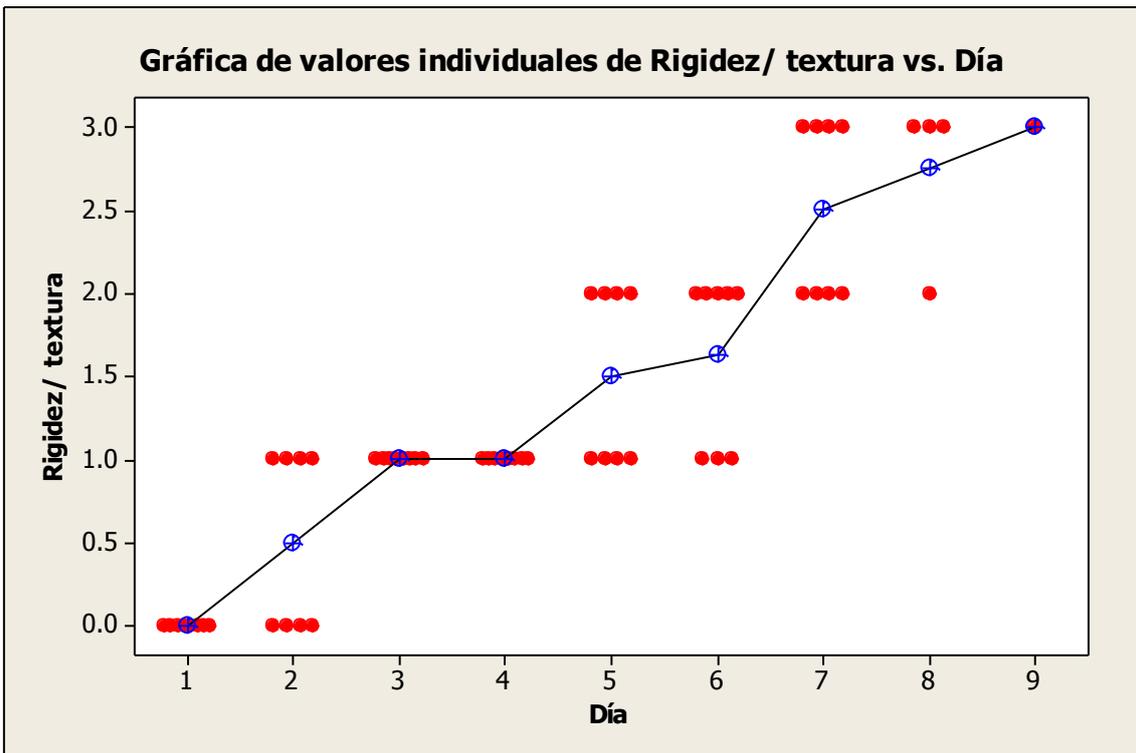


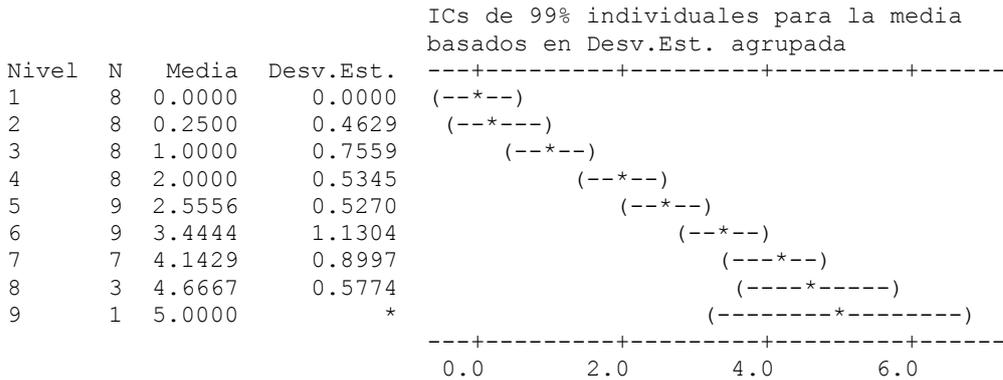
Figura D. Gráfico de valores individuales de la rigidez/textura vs. Días

# Ojos

## ANOVA unidireccional: Ojos vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	147.942	18.493	37.76	0.000
Error	52	25.468	0.490		
Total	60	173.410			

S = 0.6998    R-cuad. = 85.31%    R-cuad.(ajustado) = 83.05%

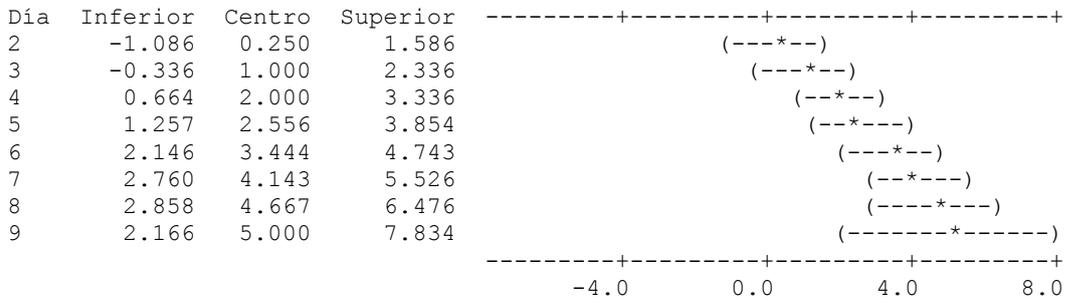


Desv.Est. agrupada = 0.6998

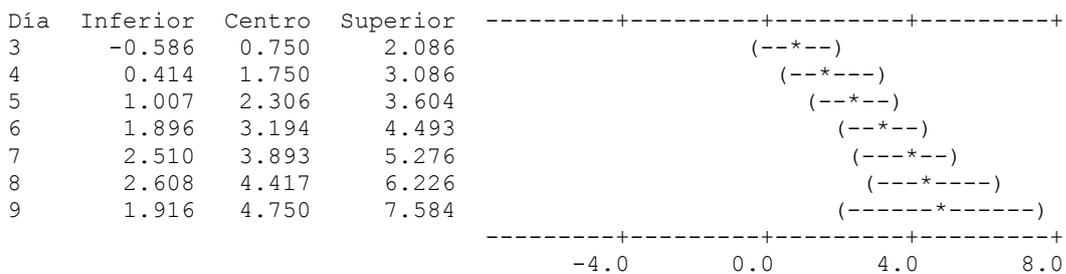
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

Día = 1 restado de:



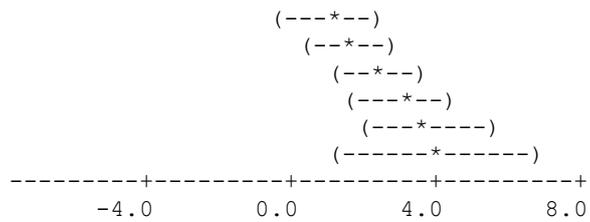
Día = 2 restado de:



Día = 3 restado de:

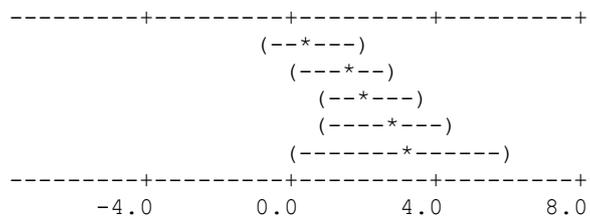


4	-0.336	1.000	2.336
5	0.257	1.556	2.854
6	1.146	2.444	3.743
7	1.760	3.143	4.526
8	1.858	3.667	5.476
9	1.166	4.000	6.834



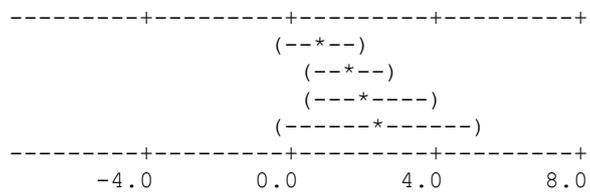
Día = 4 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
5	-0.743	0.556	1.854
6	0.146	1.444	2.743
7	0.760	2.143	3.526
8	0.858	2.667	4.476
9	0.166	3.000	5.834



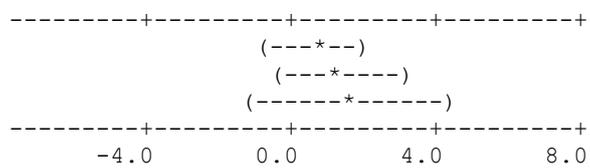
Día = 5 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
6	-0.371	0.889	2.149
7	0.241	1.587	2.934
8	0.330	2.111	3.893
9	-0.372	2.444	5.261



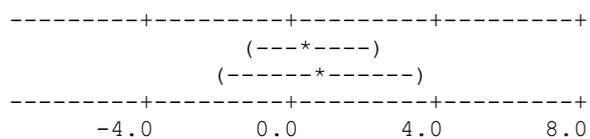
Día = 6 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
7	-0.648	0.698	2.045
8	-0.559	1.222	3.004
9	-1.261	1.556	4.372



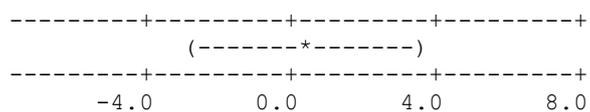
Día = 7 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
8	-1.320	0.524	2.368
9	-2.000	0.857	3.714



Día = 8 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
9	-2.752	0.333	3.419



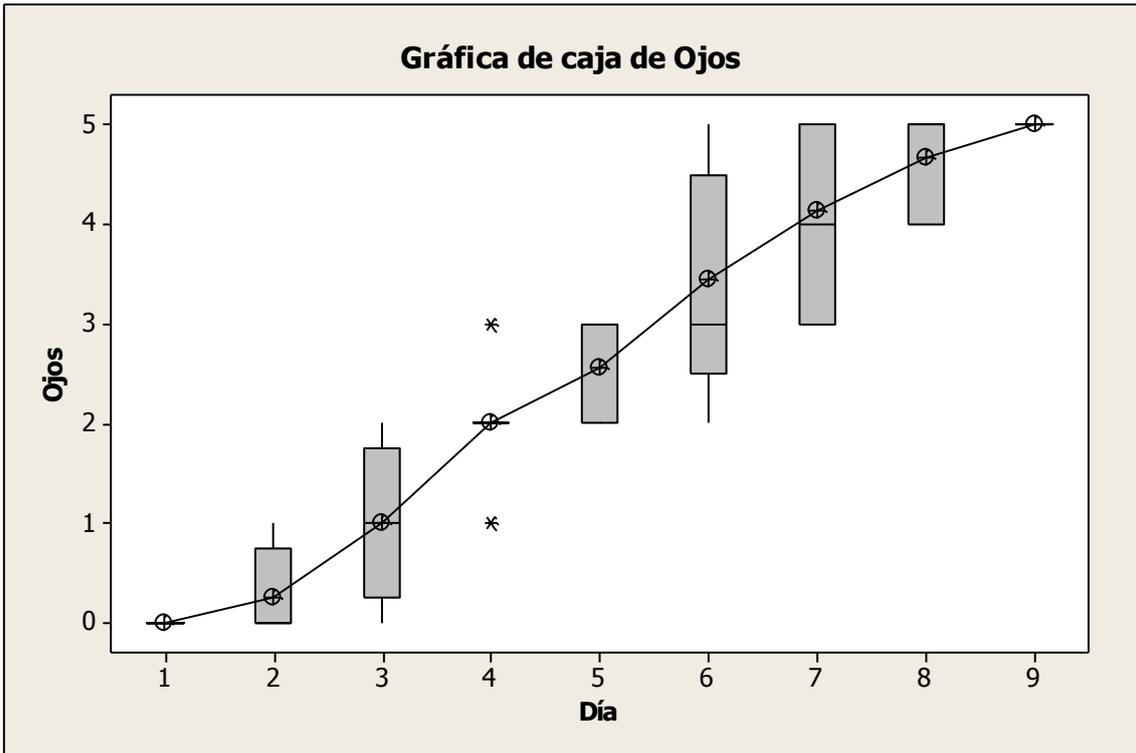


Figura E. Gráfico de caja de los ojos de la carpa

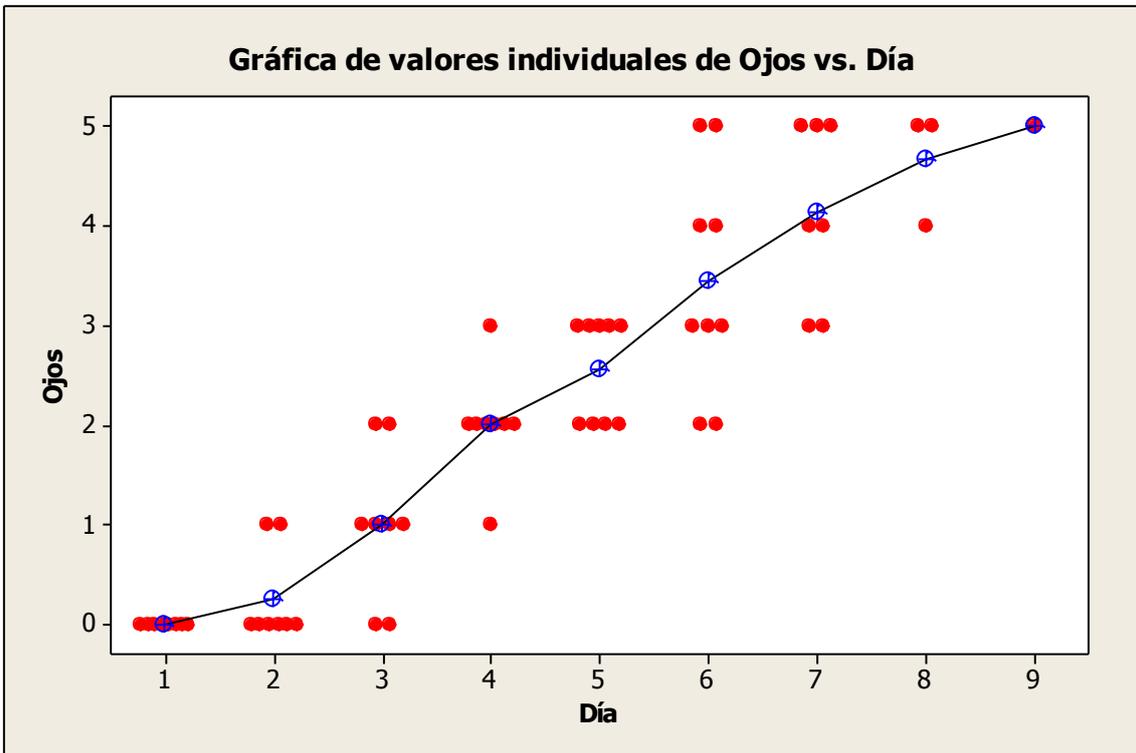


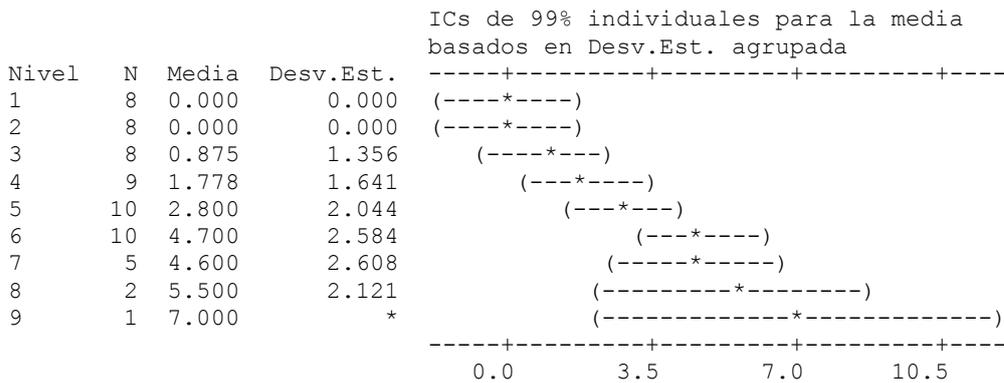
Figura F. Gráfico de valores individuales de los ojos vs. Días

## Branquias

### ANOVA unidireccional: Branquias vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	232.43	29.05	9.22	0.000
Error	52	163.83	3.15		
Total	60	396.26			

S = 1.775 R-cuad. = 58.66% R-cuad.(ajustado) = 52.30%

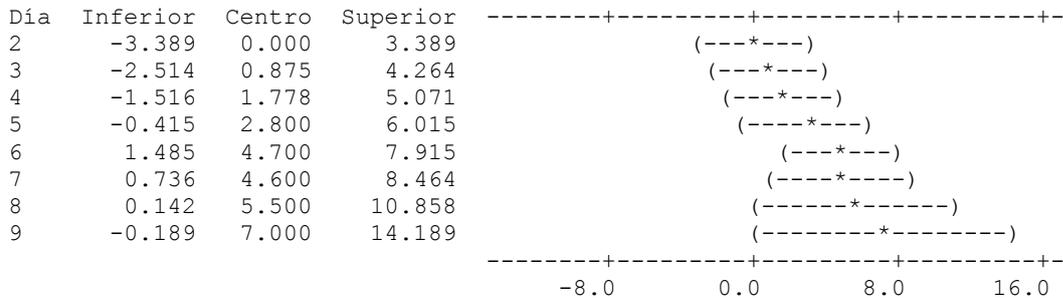


Desv.Est. agrupada = 1.775

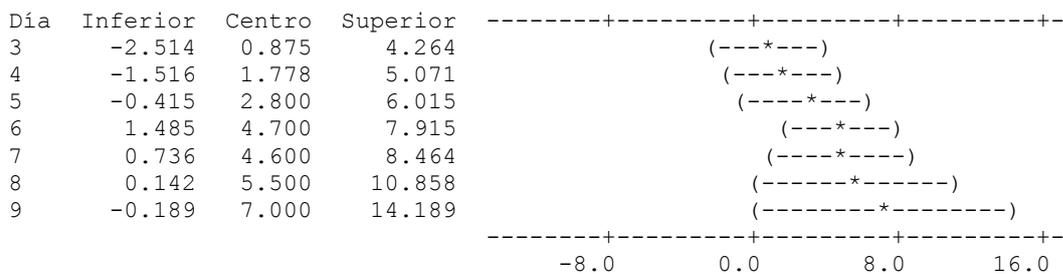
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

Día = 1 restado de:



Día = 2 restado de:



Día = 3 restado de:





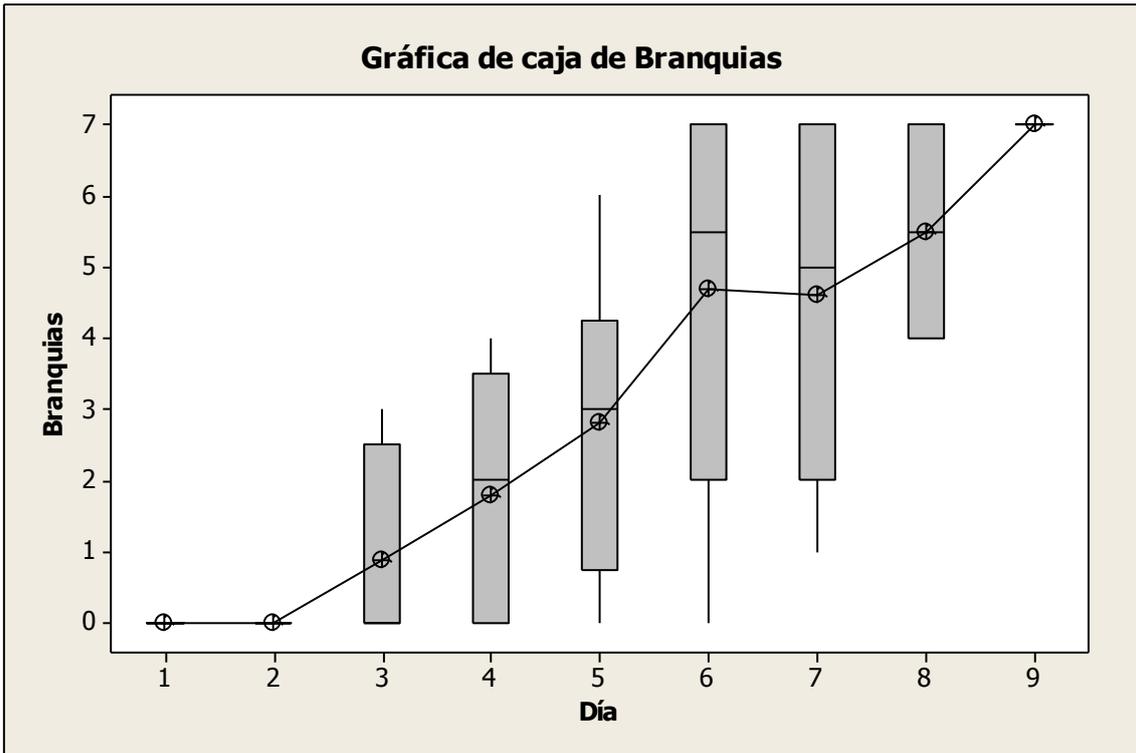


Figura G. Gráfico de cajas para las branquias de la carpa

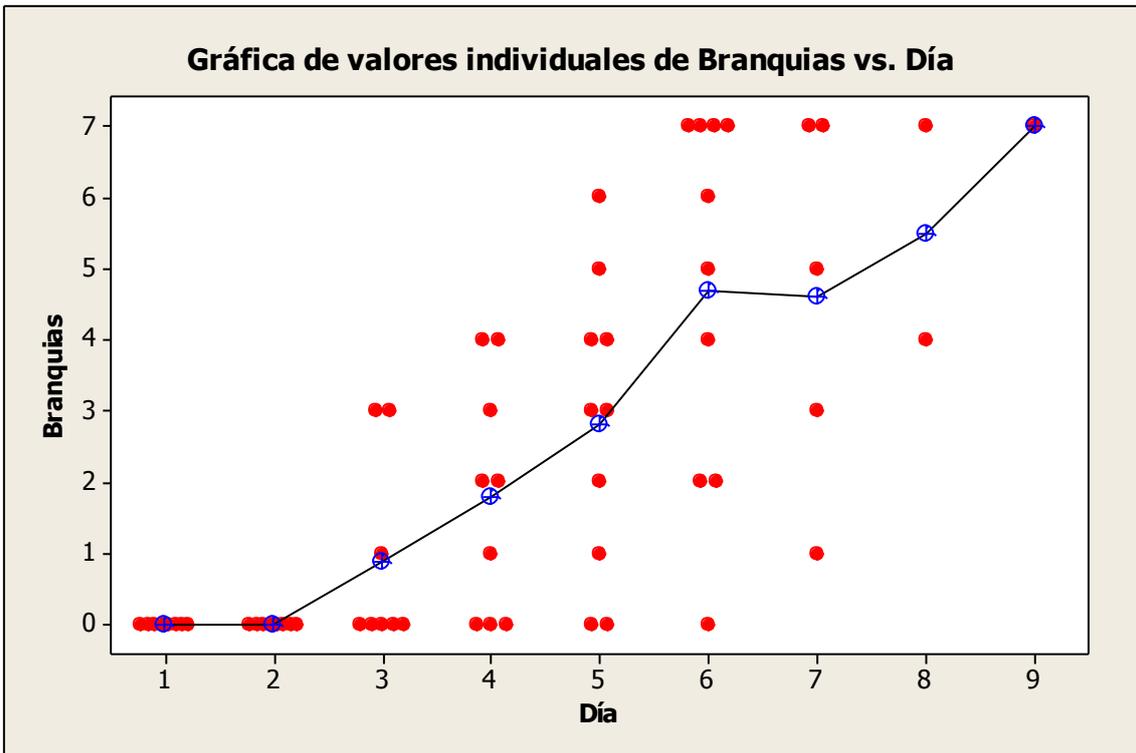


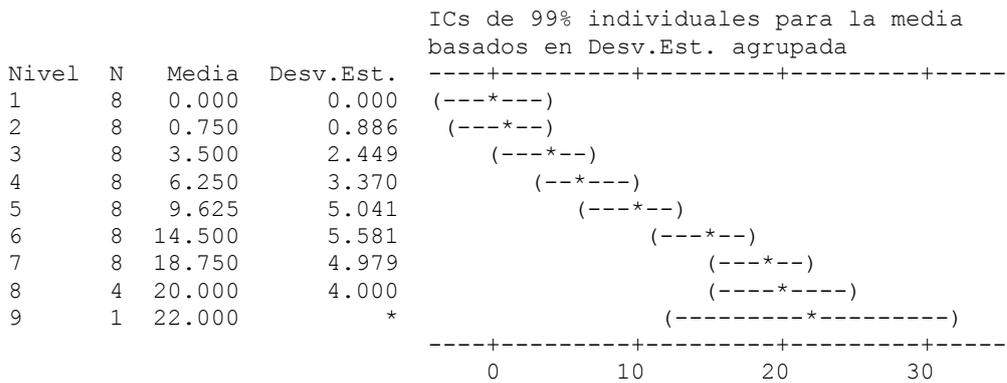
Figura H. Gráfico de valores individuales de las branquias vs. Días

## Análisis sensorial

### ANOVA unidireccional: Análisis Sensorial vs. Días

Fuente	GL	SC	MC	F	P
Día	8	3147.1	393.4	27.48	0.000
Error	52	744.4	14.3		
Total	60	3891.4			

S = 3.784 R-cuad. = 80.87% R-cuad.(ajustado) = 77.93%

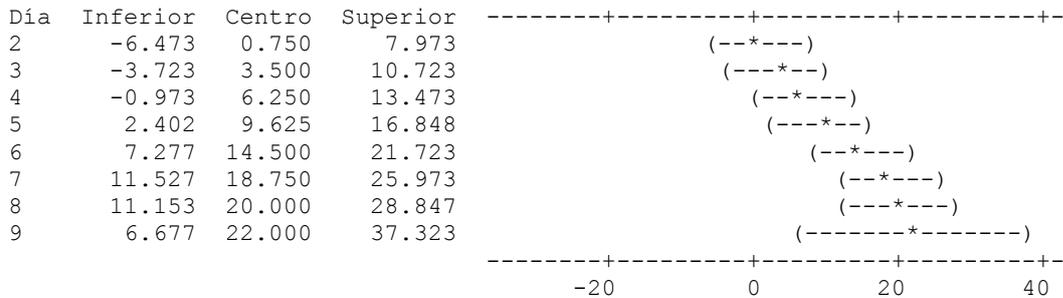


Desv.Est. agrupada = 3.784

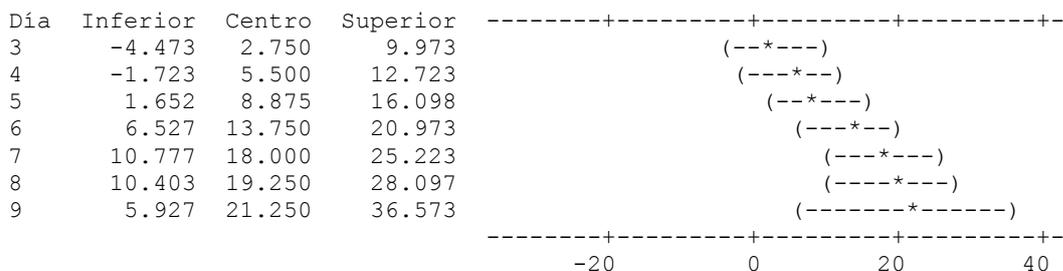
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 99%  
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Día

Nivel de confianza individual = 99.96%

Día = 1 restado de:



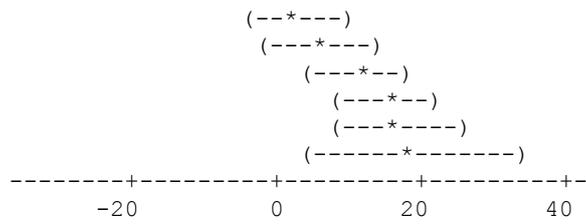
Día = 2 restado de:



Día = 3 restado de:

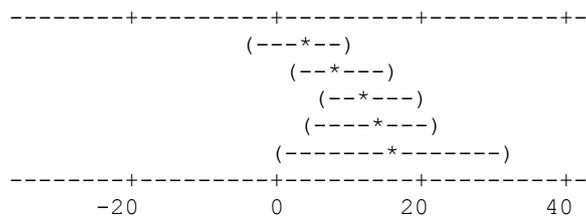


4	-4.473	2.750	9.973
5	-1.098	6.125	13.348
6	3.777	11.000	18.223
7	8.027	15.250	22.473
8	7.653	16.500	25.347
9	3.177	18.500	33.823



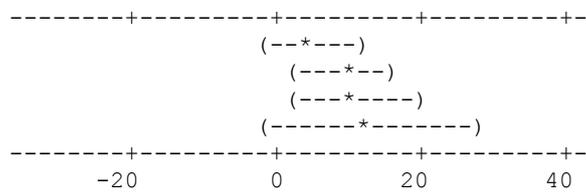
Día = 4 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
5	-3.848	3.375	10.598
6	1.027	8.250	15.473
7	5.277	12.500	19.723
8	4.903	13.750	22.597
9	0.427	15.750	31.073



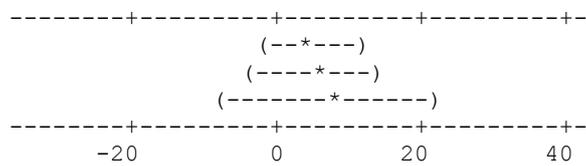
Día = 5 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
6	-2.348	4.875	12.098
7	1.902	9.125	16.348
8	1.528	10.375	19.222
9	-2.948	12.375	27.698



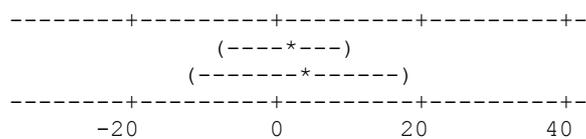
Día = 6 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
7	-2.973	4.250	11.473
8	-3.347	5.500	14.347
9	-7.823	7.500	22.823



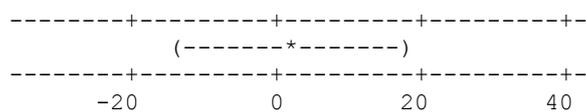
Día = 7 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
8	-7.597	1.250	10.097
9	-12.073	3.250	18.573



Día = 8 restado de:

Día	Inferior	Centro	Superior
9	-14.152	2.000	18.152



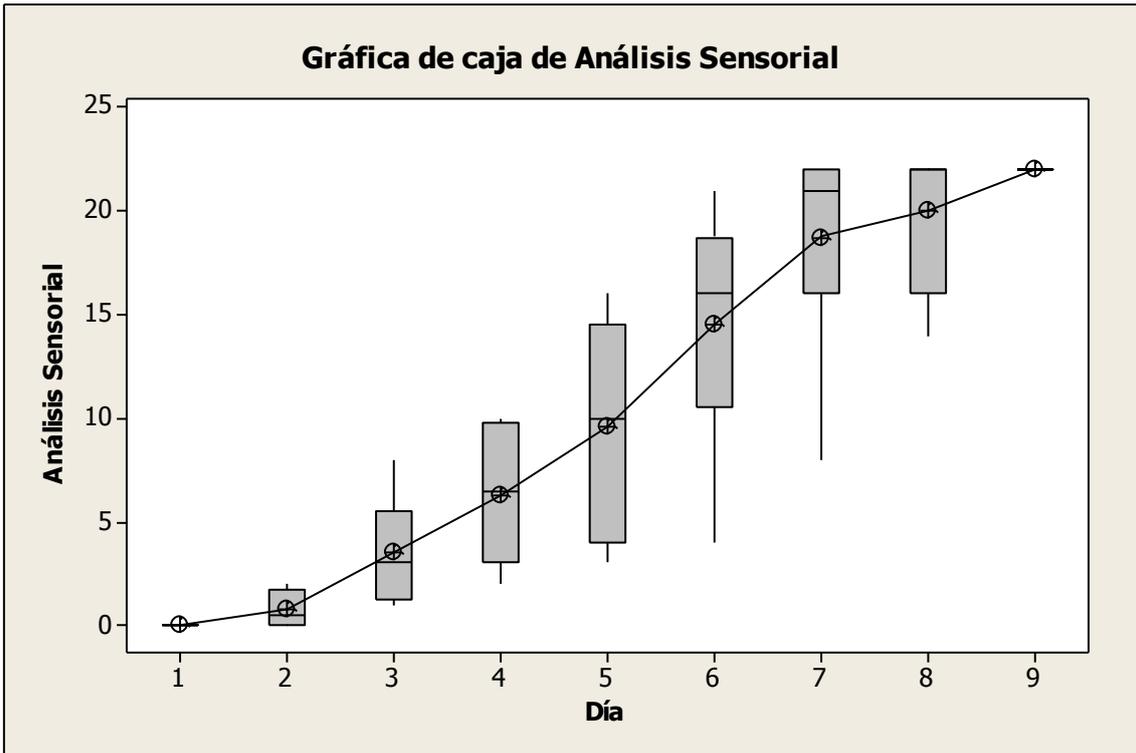


Figura I. Gráfico de cajas para el análisis sensorial

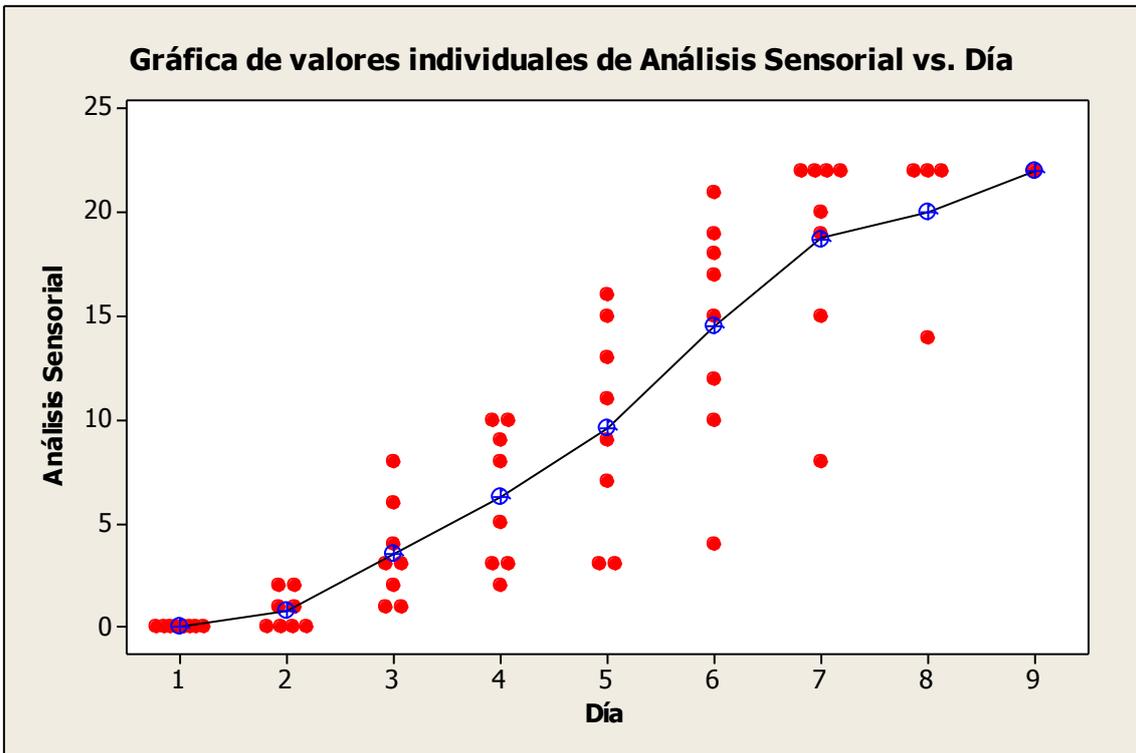


Figura J. Gráfico de valores individuales del análisis sensorial vs. Días

**Anexo 17. Tablas para documentar el sistema de trazabilidad**

**Tabla A. Esquema de codificación para la identificación de la materia prima en función de la procedencia**

Procedencia	Punto de Pesca	Brigada de Pesca	Código (MP)
Presa X	$X_1, X_2, \dots, X_n$	Brigada Y	$\underbrace{01}_X \underbrace{01}_{X_1} \underbrace{01}_Y$
Presa X	$X_1, X_2, \dots, X_n$	Brigada Z	$\underbrace{01}_X \underbrace{02}_{X_2} \underbrace{02}_Z$
Presa A	$A_1, A_2, \dots, A_n$	Brigada Y	$\underbrace{01}_A \underbrace{01}_{A_1} \underbrace{01}_Y$
Presa A	$A_1, A_2, \dots, A_n$	Brigada Z	$\underbrace{01}_A \underbrace{01}_{A_1} \underbrace{02}_Z$

**Tabla B. Etiqueta para la identificación de los lotes de pescado**

Logotipo de la Empresa				
Especie	Tenca	Carpa	Tilapia	Claria
Hora de Captura				
Hora de Recepción Punto Acopio				
Hora de Recepción Industria				
# de Lote	L- <input type="text"/> : _____			

**Tabla C. Parámetros a registrar en la identificación del pescado**

Parámetro	Utilidad
Nombre del pescado	Identificación de la especie
Procedencia	Identificación del embalse donde se capturó (origen del pescado)
Lote	Identificación de la brigada de pesca que realizó la captura. Delimitación de responsabilidades
Método de captura	Arte de pesca usado (métodos y estilos de trabajo)
Tiempo de exposición	Conocer el tiempo exacto que transcurrió desde la captura hasta la recepción en el punto de acopio en el establecimiento pesquero acuícola y luego hasta la recepción en la industria pesquera acuícola
Características del pescado	Enunciar las características que afectan la calidad e inocuidad del pescado. Determinar el nivel de deterioro de la materia prima

**Tabla D. Modelo de control para la Identificación del pescado**

Modelo de control para la identificación del pescado				Mes: _____		
Procedencia:		BP <sub>n</sub> :		Método de captura:		
Fecha	Especie	Hora de captura	Hora llegada punto de acopio	Hora llegada a Industria	Puntuación QIM punto acopio	# de Lote