

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN Y
ALIMENTOS**

TESIS PROFESIONAL

**APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS
ORGÁNICOS PARA LA
ALIMENTACIÓN DE TILAPIAS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN CIENCIA
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**

PRESENTAN

**DANIEL HERNÁNDEZ MARROQUÍN
ALONDRA VERÓNICA OZUNA GRACIÁN**

DIRECTOR DE TESIS

MC. GABRIELA NALLELY TREJO DÍAZ



DEDICATORIA

“A Dios por iluminar mis pasos cada día, a mi hermano por tu paciencia y apoyo que me brindo y aquellas personas que me ayudaron a realizar este trabajo. ”

“Por todo el apoyo, amor, entendimiento y sacrificio dedico este logro a mis padres (Francisco y Mercedes), a mi Universidad, Facultad y Profesores por su conocimiento y moral que ayudaron a que se diera este gran paso en mi vida. ”

“A todas las personas que amo, que hacen parte de mi vida y siempre los llevo en mi corazón”

Daniel Hernández Marroquín.

AGRADECIMIENTO

A Dios pues Él siempre estuvo ahí cuando mis fuerzas ya no eran suficientes, por suplir mis necesidades y estar ahí en los momentos mas oscuros de mi vida, gracias por todo.

A mis Padres por confiar en mí y por no dejarme rendir, porque en los momentos de desesperación siempre estuvieron ahí, Mamá, Papá ¡Lo logramos!
Los amo como no tienen idea.

A la familia Marín Ramos muchas gracias por su apoyo incondicional.

Alondra Verónica Ozuna Gracián muchas gracias por este tiempo que compartimos juntos, no lo dudo, fue una experiencia muy buena, te quiero, Dios te bendiga siempre.

A mi asesor de tesis M.C. Gabriela Nallely Trejo Diaz que, sin su apoyo y paciencia, en todo el tiempo de la realización del trabajo de investigación, no hubiera sido posible el éxito del mismo.

Abuelos, tíos, primos, amada iglesia 2da del nazareno en Tonalá, Chiapas, por sus oraciones, y a todas las personas que no han sido mencionadas pero que de alguna manera contribuyeron en gran parte de este éxito.

Daniel Hernández Marroquín

DEDICATORIA

A mis padres Fermín Antonio Ozuna Cantoral y Verónica Gracián Loranca por tomar mis estudios como un reto en la vida, por su apoyo moral en los momentos más difícil de este camino y más que nada por su amor y dedicación.

A la memoria de mi Hermana María Guadalupe Ozuna Gracián que donde quiera que este siempre está presente en mi mente y Corazón

Y principalmente *a Dios* que puso los medios para que lograra mis metas, porque gracias a el existo y en sus manos estoy.

Alondra Verónica Ozuna Gracián

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi más sincero agradecimiento en primer lugar a mis padres (Verónica Gracián Loranca y Fermín Antonio Ozuna Cantoral) personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro.

A Dios por permitirme lograr este objetivo en mi vida y espero me permita hacer realidad otros más.

A mi compañero de tesis Daniel Hernández Marroquín por ser el mejor amigo además de su gran apoyo y dedicación junto a mí.

A mí asesora de tesis la Mc. Gabriela Nallely Trejo Díaz por creer en mí para la realización de este trabajo, así como por todo su apoyo recibido por que sin él no hubiera sido posible el éxito del mismo.

A la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (en especial al Laboratorio de Tecnología de Alimentos y al Laboratorio de Análisis de alimentos 2) por darme las facilidades para desarrollar mi tesis.

A todos mis profesores por su gran apoyo y dedicación a lo largo de este camino.

A todas las personas que no han sido mencionadas pero que de alguna forma contribuyeron en gran parte en este excitó de mi vida, muchas gracias.

Alondra Verónica Ozuna Gracián

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
OBJETIVOS.....	4
OBJETIVO GENERAL	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
MARCO TEÓRICO.....	5
ENSILAJE	5
HISTORIA DEL ENSILAJE	6
ENSILADO DE PESCADO.....	7
TIPOS DE ENSILADO DE PESCADO	7
PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL ENSILADO	8
Ventajas y desventajas del ensilado	12
PDA'S (PÉRDIDAS DE DESPERDICIOS DE ALIMENTOS)	13
Tipos de pérdidas y desperdicios de alimentos	14
Alcance de las pérdidas y desperdicios	15
ALIMENTOS PARA PESCADOS.....	17
TILAPIA (<i>OREOCHROMIS NILOTICUS</i>).....	18
TAXONOMÍA DE LA TILAPIA	19
VARIEDADES DE LA TILAPIA.....	20
ANATOMÍA DE LA TILAPIA	21
NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE LA TILAPIA	22
Manejo de la alimentación de tilapia.....	24
Antecedentes de la alimentación y nutrición de la tilapia	26
HIPÓTESIS	30
METODOLOGÍA	31
DISEÑO DE ESTUDIO	31
POBLACIÓN	31

MUESTRA.....	31
VARIABLES	31
Dependientes.....	31
Independientes.....	31
% RO.....	31
Microorganismos fermentativos.....	31
Método de obtención: seco, húmedo	31
Ceniza	31
Grasas	31
Proteína	31
pH	31
Acidez.....	31
INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN.....	31
DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS A UTILIZAR.....	32
Identificación de RO.....	32
Cuantificación de RO (Anexo 1).....	32
LUGAR DE TRABAJO.....	32
DISEÑO EXPERIMENTAL	33
COLECTA Y MANEJO DE LOS SUBPRODUCTOS	33
ELABORACIÓN DEL ENSILADO BIOLÓGICO	34
Materia prima:	34
Procesamiento del ensilado:	34
ELABORACIÓN DE LOS ALIMENTOS (Anexo 15).....	35
TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS DE CALIDAD DEL ALIMENTO PARA TILAPIAS.....	36
Análisis químico proximal.....	36
Análisis microbiológico.....	38
DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	40
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	41
1. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS EN EL MERCADO DEL NORTE.....	41
2. FORMULACIONES DEL ENSILADO BIOLÓGICO DE PESCADO	45
3. PH.....	46
4. COMPOSICIÓN PROXIMAL.....	49

5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	51
CONCLUSIONES	53
RECOMENDACIONES	54
GLOSARIO	55
REFERENCIAS DOCUMENTALES.....	56
ANEXOS	60
ANEXO 1.....	61
ANEXO 2.....	65
ANEXO 3.....	67
ANEXO 4.....	68
ANEXO 5.....	70
ANEXO 6.....	74
ANEXO 7.....	76
ANEXO 8.....	81
ANEXO 9.....	85
ANEXO 10	90
ANEXO 11	93
ANEXO 12	95
ANEXO 13	96
ANEXO 14	97
ANEXO 15	99
ANEXO 16	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Perdidas y desperdicios de alimentos per-cápita en las fases de consumo y anteriores al consumo en diferentes regiones (FAO, 2014).....	16
Figura 2 Anatomía externa de la tilapia (SAGARPA, 2016).....	21
figura 3 Fotografía del sistema digestivo de una tilapia de 25 cm de largo. El tubo digestivo tenía un largo de aproximadamente 150 cm. (Pullin, y otros, 2015)	22
Figura 4 Tecnología para la elaboración del ensilado biológico. (FAO, 2009).....	35
Figura 5 Frecuencia de la pérdida o merma de los alimentos (Creación propia).....	41
Figura 6 Tipos de alimentos que se pierden con mayor frecuencia (Creación propia).....	42
Figura 7 Destino de las pérdidas de alimentos en los locales (Creación propia)	42
Figura 8 Cantidad de producto que se comercializa es desperdicio o merma (Creación propia)	43
Figura 9 Frecuencia que en la que se retiran las perdidas o mermas de los productos que se comercializa en los locales (Creación propia)	43
Figura 10 Frecuencia en la que se recibe el producto en contenedores (Rejas, costales, bolsas) en mal estado (Creación propia)	44
Figura 11 Volumen de compra acorde a las ventas (Creación propia)	44
Figura 12 Obtención de los alimentos que se comercializan en los locales (Creación propia) ..	45
Figura 13 nfluencia de los tratamientos (T1, T2, T3 y T4), del tiempo sobre el valor (creación propia).....	47
Figura 14 Influencia de los tratamientos (T5, T6, T7 y T8), del tiempo sobre el valor (creación propia).....	48
Figura 15 Factor de proteína	73
Figura 16 Identificación y cuantificación de los residuos orgánicos en el mercado del norte (creación propia)	95
figura 17 Recolección de residuos orgánicos (creación propia)	96
Figura 18 Limpieza de pescado (creación propia).....	97
Figura 19 Limpieza y lavado de los tubérculos (creación propia).....	97
Figura 20 Secado (creación propia)	98
Figura 21 Ensilado en almacenamiento monitoreando su temperatura y pH (creación propia)	98

Figura 22 Determinación de ceniza (creación propia).....	99
Figura 23 Determinación de grasa (creación propia).....	99
Figura 24 Determinación de proteína (creación propia).....	100
Figura 25 determinacion de fibra (creación propia).....	100
Figura 26 Molienda del ensilado (Creación propia).....	101
Figura 27 Secado del alimento (Creación propia).....	101
Figura 28 Alimento para tilapia (Creación propia).....	102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Microorganismos usados como probióticos.....	12
Tabla 2 Algunos ingredientes incorporados comúnmente en la formulación de dietas para peces y camarones.....	24
Tabla 3 Formulaciones para la elaboración un ensilado a base de residuos.....	46
Tabla 4 Lecturas de pH T1, T2, T3 Y T4.....	48
Tabla 5 Lecturas de pH T5, T6, T7 Y T8.....	49
Tabla 6 Composición proximal del alimentó para tilapia a base de dos BAL de los 8 tratamientos.	50
Tabla 7 Análisis microbiológicos (base seca) en los alimentos para tilapia a base de orgánicos.	52

INTRODUCCIÓN

México tiene un alto crecimiento en su población; aproximadamente el 3.5% anual. Su alimentación desde el punto de vista nutritivo, no es de las más completas debido principalmente a su bajo consumo de proteínas de origen animal, como la carne de bovino, la cual no se encuentra disponible para toda la población. Para compensar falta de carne, la solución puede ser el sector acuícola. (Avila, y otros, 2015)

Actualmente en México los peces proporcionan cerca del 20% de las proteínas de origen animal que se consumen en el país. La tilapia o mojarra es uno de los alimentos provenientes del mar y la acuicultura de mayor consumo en el país, por lo que su aumento de producción en el 2016 fue de 15.6%, en comparación con el año previo. (Sanchez, 2014). La tilapia principalmente en la de postura y de engorda, crecen con más rapidez que otras especies debido a sus características biológicas.

La industria acuícola ha inducido el cultivo de aditivos desconocidos. Además, constantemente se está investigando nuevas tecnologías para mejorar la dieta tradicional de las tilapias en su tiempo de engorda.

Muchas veces las pérdidas totales de la captura de pescado ascienden al 10% y se producen por descarte de las faunas acompañantes. Además, existen otras pérdidas por la manipulación, almacenamiento, distribución, procesamiento y comercialización (Mariño, y otros, 2013). Por estas razones, es necesario el aprovechamiento de la proteína animal utilizando tecnologías simples y de baja inversión para obtener productos, que, a su vez, minimizan los efectos de la contaminación ambiental (Avila, y otros, 2015). Por esta razón se utilizarán PDA'S de peces en la elaboración de un pienso para tilapias.

En el presente documento se plasman los conocimientos para el aprovechamiento de los residuos orgánicos obtenidos en el mercado del norte de la capital del estado de Chiapas, para la elaboración de un alimento para tilapias (*Oreochromis sp*), empleando la técnica en húmedo y seco, con dos tipos de bacterias para llevar a cabo la fermentación, cada uno de estos serán evaluados análisis microbiológicos y proximales.

JUSTIFICACIÓN

En la nutrición animal, la suplementación proteica es especialmente crítica en los animales no rumiantes, como son el pescado. La forma intensiva de cómo se explotan a los peces debido a su gran demanda ha creado la necesidad de proporcionar alimentos que ayuden en su rápido crecimiento y máxima producción. La alimentación de tilapias está formada principalmente por granos suplementados o complementados con fuentes proteicas de origen animal, marino y vegetal.

México incrementó 30 % el consumo per cápita de mariscos y pescado en los últimos cinco años, al pasar de 8.9 en 2014 a 12.6 kilogramos actualmente. En el país se produce mayormente la tilapia mojarra, debido a las cualidades que presenta este organismo, su carne es de excelente sabor, tiene un crecimiento rápido, gran resistencia física, alta capacidad reproductora y adaptación para vivir en condiciones de cautiverio (SAGARPA, 2017).

En el estado de Chiapas, se cuenta con 5 centros piscícolas, el centro piscícola del soconusco que cuenta con estanques rústicos y artesanales, el centro norte cuenta con 24 estanques, el centro piscícola de malpaso, cultivos con jaulas artesanales flotantes, el centro la selva cuenta con 30 estanques, en Catazajá se cuenta con 4 estanques (Acuacultura, 2017)

En el mundo, cada año se producen casi 70 millones de toneladas de pescado procesado, las cuales generan desechos que ascienden a 65% de la materia original y que son factibles de transformarse en subproductos. Un volumen importante de residuos es obtenido de la acuicultura, la pesca y la elaboración de productos a base de pescado, que pueden llegar a constituir un 70% del peso inicial, además de descartes de la fauna acompañante y otras pérdidas ocasionadas. El desperdicio de residuos orgánicos (RO) en volúmenes de miles de toneladas de la industria pesquera y agroindustrial, son un campo con gran potencial para ser aprovechados, procesados de tal manera que mantengan sus propiedades nutritivas (FAO, 2016).

Sin embargo, existen toneladas de pérdidas y residuos ocasionados por la pesca, los cuales pueden ser aprovechados por el mismo sector pesquero, elaborando un alimento mediante un ensilado biológico de pescado, en el cual se obtiene por un proceso de fermentación controlada con bacterias ácido lácticas y carbohidratos, con buenas cualidades nutritivas y antimicrobianas, por lo que puede ser de gran utilidad en la alimentación para tilapias.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La generación de residuos orgánicos (RO) o pérdidas y desperdicios alimentarios (PDAS) se ha convertido en una problemática mundial que afecta la biodiversidad, la economía y la seguridad alimentaria de los países. Las causas pueden ser diversas, sin embargo, se relacionan con el incontrolado consumo de alimentos y mal uso de los mismos; estos residuos de alimentos conocidos como “mermas”, pueden reconocerse como pérdidas, desperdicio y, dependiendo del lugar y momento donde se generan; algunas pérdidas pueden deberse a las ineficiencias en la cadena de suministro, mientras que los desperdicios son salidas deliberadas de productos comestibles y el despilfarro son todos los alimentos, que se pierden por descomposición o desaprovechamiento (Ramírez y otros, 2015).

En México anualmente se pescan aproximadamente 10 millones de toneladas de pescados, dentro de las cuales generan desechos que ascienden a 65% de la materia original, esto es decir 6.5 millones de toneladas son desperdiciados, algunos de estos desperdicios son regresados al mar provocando una contaminación a los peces y a la comunidad (SAGARPA, 2016). En el caso de Chiapas la población pesquera asciende a 13 mil 658 toneladas de producción, con cuatro embarcaciones mayores nativas ubicadas en Tapachula y Tonalá, 15 plantas pesqueras y 117 unidades de producción acuícola (Zambrano, 2015).

En los mercados se pierde o desperdicia el 55% de las frutas y hortalizas; el 40% de las raíces y tubérculos; el 25% de los cereales; el 20% de oleaginosas y legumbres; el 20% de la carne; el 20% de productos lácteos y el 35% de pescados y mariscos. (FAO, 2016)

Por ello, se plantea la utilización de PDA'S de pescado para la elaboración de un ensilado que junto con otras materias primas ayudaran en la alimentación de tilapias, reduciendo el impacto ambiental y contrarrestando los costos de producción.

El mercado del norte de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, es el único mercado que cuenta con una nave especial de pescados y mariscos para su comercialización y distribución de estos. Donde estos integrantes dependen directamente de esta actividad económica para el sostén de sus familias. En la actualidad, existen toneladas de pérdidas y desperdicios ocasionados por la pesca los cuales pueden ser aprovechados por el mismo sector acuícola, elaborando un alimento para tilapias.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Aprovechar los residuos orgánicos (RO) para la elaboración de un alimento para tilapias (*Oreochromis niloticus*)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar y cuantificar los residuos orgánicos del mercado del norte en locales de frutas, verduras, pescados y mariscos.

Elaborar un alimento para tilapias a partir de los residuos orgánicos obtenidos del mercado del norte

Caracterizar fisicoquímicamente y microbiológicamente el alimento para tilapia a base de los residuos orgánicos obtenidos del mercado del norte

MARCO TEÓRICO

ENSILAJE

Es el proceso mediante el cual se almacena y conserva, en depósitos llamados silos, forraje verde picado, utilizando la fermentación anaerobia. (Cabos, 2011)

En otras palabras, el proceso de ensilaje es una fermentación en ausencia de oxígeno con actividad de bacterias lácticas (*Streptococos* y *Lactobacilos*, especialmente), que actúan sobre los carbohidratos del forraje. Durante el proceso se produce una insuficiencia del ácido láctico que previene el deterioro del forraje y conserva su valor nutritivo.

El ensilado es un proceso de conservación de los forrajes, en estado húmedo y seco, mediante acidificación (descenso del PH), que impide que la planta se pudra y, elimina las bacterias peligrosas de los forrajes, en estado natural. La bajada del pH de forraje, surge a raíz de una serie de fermentaciones. El ensilado es en general, preferible al henificado, ya que permite una mayor independencia de las condiciones meteorológicas adversas, si bien, es más difícil obtener un buen ensilado que un buen heno. En el caso del maíz, solo sirve el método de ensilado. Después de segar la hierba, las células de las plantas, permanecen vivas, durante unos días, consumiendo el oxígeno del aire para su respiración. Si se impide la entrada de aire, el oxígeno se acaba, muriendo las células en tan poco tiempo. (Peñagaricano, y otros, 2013)

Adheridos al forraje, existen una serie de forrajes de microbios, que producen fermentaciones sobre los vegetales. Ante la eliminación del oxígeno sobrevivirán sobre las bacterias que crecen sin la presencia de este (anaerobias), las cuales bajan el pH, desapareciendo la mayor parte de las bacterias perjudiciales (aerobias: necesitan oxígeno y poca acidez).

Las bacterias anaerobias distribuyen parte de la proteína (putrefacción) originando un olor muy desagradable en el forraje a ensilar y disminución del valor nutritivo del forraje. Existen forrajes, según la especie vegetal, tipo de corte, manejo, etc. Así, se distinguirá forrajes de insolubilidad alta, media y baja. A menor grado de insolubilidad, más necesidad de aditivos. (Cabos, 2011)

HISTORIA DEL ENSILAJE

Este proceso tiene sus orígenes en la antigüedad. En el antiguo testamento (Isaías, 30:24) se menciona este sistema de conservación de forraje con el cual los pueblos conservaban forraje y granos en pozos. En los años 1500, Colón descubrió que los indios almacenaban sus granos en hoyos o fosos. (Macias, 2015)

Varios siglos más tarde, en el viejo mundo los silos se emplearon también como medio de conservación de cereales y forraje verde. Sin embargo, la primera referencia de conservación de forraje verde mediante ensilaje fue del profesor John Symonds, de la Universidad de Cambridge, en 1786. Un siglo más tarde en 1876, fue construido el primer silo de torre en Maryland por F. Morris. (Arruda, 2016)

En la era moderna, el ensilado ocupa puestos sin precedentes en la ganadería debido a las ventajas y beneficios que este aporta. Así lo demuestra el hecho de que se conservan en silos más de 100 millones de toneladas, actualmente hay en uso más de un millón de silos como mínimo (Arruda, 2016)

El uso del ensilaje en el trópico interesa por diversas razones; a medida que los países progresan, los agricultores presentan nuevas aspiraciones y el productor ya no acepta que la cosecha diaria de forraje, aún en mal tiempo, sea la única opción para alimentar a sus animales. Muchos buscan alternativas que les permitan disponer de alimentos baratos, que puedan ser almacenados y utilizados con facilidad y la práctica del ensilaje les ofrece tal oportunidad. (herrera, 2016)

El ensilaje permite conservar forraje en un estado físico parecido al que tenía en el momento de la recolección. Su composición química está modificada por las fermentaciones que sufre. Este proceso se logra al conseguir un ambiente anaeróbico donde exista alguna actividad de microorganismos que conduzca a la degradación o pérdida del forraje almacenado (Macias, 2015)

La esterilización se consigue mediante la formación natural de suficiente ácido láctico que lleve el pH entre 3.5 y 4.0. El sistema anaerobio se logra compactando el material para eliminar el oxígeno del ambiente interno del silo y efectuando un buen sellado al final. Una vez se consiga lo anterior y se mantenga cerrado el silo, el material puede mantenerse conservado por mucho tiempo (hasta 5 años). (Bidwell, 2014)

ENSILADO DE PESCADO

El ensilado de pescado es un producto semilíquido o pastoso, que aprovecha los desechos de la industria pesquera, que posee gran digestibilidad, calidad que proporciona un gran beneficio en valor elevado biológico. (Balsinde., y otros, 2015)

El ensilado de pescado es un método de conservación basado en dos fenómenos que se complementan; una corresponde a la acidificación misma que conlleva a la otra, la hidrólisis o licuefacción. La acidificación depende del ácido empleado, el cual puede ser añadido (ensilado químico) o producto *in situ* por bacterias (ensilado biológico o microbiano). La hidrólisis de las proteínas se alcanza por enzimas proteolíticas presentes naturalmente (provenientes del pescado y de las bacterias presentes) o en conjunto con las añadidas (ensilados enzimáticos o hidrolizados). Estas enzimas presentan su mayor actividad cuando el pH se reduce a valores próximos a 4. También a ese pH se inhibe el crecimiento de organismos putrefactivos y patógenos. (Beverage y Macandrew, 2013)

La calidad del ensilado (digestibilidad de la proteína, contenido de vitaminas y ácidos grasos) está directamente relacionada a la calidad y frescura de la materia prima, la cual debe procesarse lo antes posible. Las enzimas y bacterias endógenas pueden degradar rápidamente el material crudo, impactado significativamente en la calidad del producto final. Es importante recordar que, productos de buena calidad no pueden ser elaborados utilizando materias primas de mala calidad. (FAO, 2016)

TIPOS DE ENSILADO DE PESCADO

Ensilado químico de pescado

- El ensilado de pescado puede definirse como un producto líquido pastoso, hecho a partir de melaza, pescado entero, partes o residuos en medio ácido, como alternativa de procesamiento de los desperdicios de plantas pesqueras con ácidos orgánicos (Láctico, fórmico, cítrico, úrico, málico) y/o minerales (sulfúrico, clorhídrico y fosfórico) que puede ser componente de raciones alimenticias para animales. (Poulter, 2014) los ácidos orgánicos aseguran la conservación del producto sin provocar un descenso excesivo del pH, mientras que cuando se utilizan solamente ácidos minerales, el pH llega a valores de 2.0 y por tanto, es necesario neutralizarlos antes de ser incorporados a una ración (A., 2015)

A su vez los ácidos inorgánicos requieren de una cuidadosa manipulación y la utilización de

equipos de protección por parte de los operarios. Estos ácidos tienen un bajo poder bactericida por lo que se requiere de la utilización en mayor proporción que los orgánicos. Los ácidos orgánicos son menos peligrosos para su manipulación que los anteriores, tienen un alto poder bactericida y antifúngico pero su costo es más elevado que los inorgánicos.

Según la FAO para la obtención de ensilado de pescado pueden utilizarse todos los tipos de pescado y desperdicios de este, el principio es que el ácido disminuya el pH y evite la putrefacción bacteriológica del mismo, mientras las enzimas presentes empezaran a licuarlo. También aclara que la adición de ácido, baja el pH para mantener el producto estable química y microbiológicamente; pudiéndose almacenar a temperatura ambiente por un largo periodo de dos años sin putrefacción.

Ensilado biológico de pescado

La obtención de este ensilado se realiza mediante la reducción del pH en el desecho de pescado (previamente molido), mediante el agregado de microorganismos productores de ácido láctico, impidiendo el desarrollo de bacterias putrefactivas y proporcionando un medio adecuado para la actividad de las enzimas proteolíticas del propio pescado (presentes principalmente en las vísceras) que degradan las proteínas a péptidos y aminoácidos libres.

Entre los microorganismos utilizados encontramos una variedad de bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus spp*, *Candida lipilytica*, etc.) y, como fuentes de carbohidratos se utilizan azúcar, melaza, miel, harinas de maíz, arroz, avena, o cualquier vegetal que sirva de sustrato para el desarrollo de fermento que, al incorporarse a los residuos favorecen la actividad enzimática. (Cabos, 2011)

PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DEL ENSILADO

El ensilado de pescado a partir de bioconversión de desperdicios ha sido estudiado extensivamente para incrementar la productividad en la industria alimenticia. El ensilaje a partir de residuos se ha llevado a cabo como una ruta que ofrece numerosas ventajas como un método de preservación, permitiendo la recuperación del valor agregado de subproductos tales como, quitina, proteínas y pigmentos los cuales tienen un extenso mercado. (Al., 2014)

El éxito en el proceso fermentativo que ocurre en el ensilaje depende, principalmente de una calidad suficiente de bacterias ácido lácticas y de una concentración adecuada de carbohidratos solubles, que pueden ser aprovechados para generar ácido láctico. Durante el ensilaje se lleva a cabo un proceso de autólisis y el pescado se licua gradualmente, de igual forma la matriz proteica soluble se hidroliza

principalmente. La actividad autolítica ocurre durante el ensilaje de pescado llevando a un incremento en la concentración de amino, aminos, aminoácidos y peptídicos. (Botello, 2015)

La presencia de ácidos contribuye a la prevención de la oxidación lipídica por la actividad antioxidante de vitaminas y de otros nutrientes presentes en este tipo de ensilaje. Según la FAO un ensilado es un producto elaborado de manera artesanal el cual presenta elevados valores de aminoácidos esenciales para peces tales como la lisina (5.54 g/Kg), histidina (5.33 g/Kg), y ácido glutámico (6.04 g/Kg), siendo una excelente alternativa para agregar valor a estos residuos sólidos de pescado.

Más del 90% de nitrógeno orgánico llega a solubilizarse en ácidos conservando el ensilaje de pescado. En el caso de los ensilados biológicos del pescado, estos llegan a valores de solubilización de alrededor del 60 y 70%. el resultado del ensilado líquido puede ser secado y mezclado con cereales u otras fuentes de carbohidratos. La mezcla seca es fácil de manejar en la preparación de dietas para la alimentación animal. Aunque el carácter ácido garantiza la estabilidad del producto; el pH y la temperatura de almacenamiento afecta las proteínas y los lípidos (STERLING., y otros, 2017)

A pesar de las ventajas de la utilización de ensilaje, aún no se ha definido un patrón de los ingredientes que componen un ensilado biológico de residuos de peces, en razón de la diversificación en la composición de los residuos. Otros aspectos que interfieren en la calidad del ensilaje es la adición o no de aditivos con la finalidad de aumentar el contenido de materia seca y favorecer la fermentación. (Matas, 2015)

➤ Fuentes energéticas

Con el objetivo de proveer una fuente de sustrato para los microorganismos responsables de la fermentación se hace necesaria la adición de una fuente energética. Dentro de los diferentes tipos de carbohidratos que pueden utilizarse para el ensilado, se encuentran mieles de caña, glucosa, sacarosa, subproductos de cereales, yuca, salvado de arroz, ahechaduras de trigo, patatas, harina de maíz, entre otros. (FAO, 2016)

El proceso de fermentación del ensilaje biológico dirigido hacia la producción de concentrado para la alimentación animal, puede ser llevado a cabo por dos métodos dependiendo de la fuente energética a emplear. El primero de ellos se realiza mediante la fermentación de la matriz obteniendo un ensilado biológico líquido, al cual es necesario adicionarle en la etapa final ingredientes que favorezcan la cohesión, y expansión del pallet. O bien un ensilaje sólido

adicionando este ingrediente desde el inicio del proceso fermentativo junto con la matriz. Uno de los materiales que favorecen estas propiedades en el pallet es el almidón, siendo más eficiente aquellas materias primas ricas en amilasa como los tubérculos. (Arruda, 2016)

En Colombia dentro de las fuentes energéticas que presentan una buena disponibilidad se encuentra la melaza, la panela y subproductos de la yuca.

Inoculo o fermento

Se entiende un inóculo como una preparación microbiana de un número de células de por lo menos un microorganismo para ser adicionadas a un material crudo y producir consecuentemente un alimento fermentado mediante condiciones controlada. (Al., 2014)

En las fermentaciones lácticas, los cultivos de bacterias ácido lácticas son comúnmente usados en las industrias como inoculantes para la producción de gran variedad de alimentos fermentados ocupando un rol central en este proceso, con una larga y segura historia de aplicación y consumo de la producción de alimentos y bebidas fermentadas.

Es así como la inoculación de bacterias ácido lácticas provocan la rápida acidificación del material crudo a través de la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico. También es de gran importancia la producción de ácido acético, etanol, compuestos aromáticos, bacteriocinas, exopolisacáridos, y una gran variedad de enzimas. De esta manera las bacterias ácido lácticas alargan la vida útil, mejorando la textura, y contribuyendo al perfil sensorial agradable de un producto terminado. (Mathews, 2017)

En el proceso del ensilado biológico es común utilizar inóculos de bacterias productoras de ácido láctico tipo homofermentativos pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* o *Pediococcus*. Específicamente dentro de los inoculantes homofermentadores se encuentran especies de *Lactobacillus* como *Lactobacillus plantarum*, y especies de *Pediococcus spp*, *Enterococcus spp* Cabe destacar que estos microorganismos productores de ácido, pueden estar presentes en la materia prima o en otros casos se requiere de cultivos iniciadores puros, manteniendo temperaturas comprendidas entre 20 y 30°C rango en el cual se observa un crecimiento acelerado de las bacterias ácido lácticas e inhibición de la flora competitiva de la materia prima en el proceso de fermentación.

También existen otro tipo de inóculos alternativos como el yogurt el cual puede utilizarse para iniciar un proceso de fermentación láctica. (Malajovich, 2014)

Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas (BAL), forman un grupo de bacterias Gram. Positivas, no esporuladas, catalasa negativa, estos microorganismos no contienen citocromo oxidasa, son anaerobios o microaerófilos, ácido tolerantes y estrictamente fermentativos; el ácido láctico es el principal producto final de la fermentación de azúcares. Sin embargo, en la descripción general ocurren algunas excepciones, ya que algunas especies pueden formar catalasa o citocromo oxidasa en medios que contienen hematina o compuestos relacionados. (Ramirez, y otros, 2015)

Las BAL generalmente son asociadas en ambiente rico en nutrientes, semejante a varios productos alimenticios (leche, carne, bebidas y vegetales), y algunos son miembros de la flora natural de los mamíferos: boca, intestino y órganos reproductores.

La fermentación de los azúcares por las BAL, en condiciones normales de su metabolismo, pueden utilizar dos rutas o vías de fermentación: Glucólisis produciendo exclusivamente ácido láctico, a este proceso se le denomina fermentación homoláctica, en la ruta 6-glucosa fosfato o fosfoetolasa, entre los productos finales de esta fermentación se encuentra: etanol, acetato y CO₂, además de ácido láctico y este metabolismo es llamado fermentación heteroláctica. Las condiciones de crecimiento de algunas BAL pueden alterar significativamente la formación del producto final. Estos cambios pueden ser atributos al metabolismo del piruvato, alterado el uso de receptores de electrones externos como oxígeno o algunos compuestos orgánicos. (Ramirez, y otros, 2015)

Aplicación de las BAL en el ensilado de pescado

El ensilaje de pescado es un proceso de conservación que se puede realizar por adición directa o indirecta de ácidos inorgánicos, orgánicos o mezclas de ambos al pescado o desechos de pescado (ensilado químico), o por fermentación (ensilaje biológico), con bacterias lácticas que utilizan una fuente de carbohidratos altamente solubles como la melaza; entre otras, para producir ácido láctico *in situ* (Balsinde., y otros, 2015)

El ensilaje de pescado obtenido por cualquiera de los dos métodos ya antes mencionados presenta un alto valor biológico. Sin embargo, cuando es producido por fermentación con bacterias lácticas ofrecen las ventajas siguientes:

- a) Se evita la compra de ácidos, los cuales son de alto costo, además muchos de ellos son corrosivos, requiriendo ser neutralizado el producto antes de ser consumido por los animales,

Es fácil el mantenimiento y reproducción del cultivo indicador de bacterias lácticas utilizado: además, es fácil el secado ya que el ensilado de pescado por fermentación presenta mayor contenido de sólidos que el ensilaje químico (A., Gilbert. 2015). Desde el punto de vista nutricional, la digestibilidad de las proteínas del ensilaje de pescado obtenido por fermentación láctica es mayor que por adición de ácidos; además, la fermentación ayuda a estabilizar el aceite evitando así la rancidez del producto; por lo tanto, resulta más atractivo para los animales (Macias, 2015). El ensilado de pescado presenta un contenido de aminoácidos esenciales satisfactorio, con una alta digestibilidad de la proteína, como también es una excelente fuente de lípidos y minerales para diversas especies de animales (Iglesias, y otros, 2016)

En la siguiente tabla se presentan algunos de los microorganismos usados como probióticos para la fermentación del ensilaje de pescado.

Tabla 1 Microorganismos usados como probióticos

<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Lactobacillus casei</i> spp. <i>Rhamosus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> spp. <i>Bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Lactobacillus lactis</i> spp. <i>Lactis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus lactis</i> spp. <i>Cremoris</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> spp. <i>thermophilus</i>

Fuente: (Iglesias, y otros, 2016)

Ventajas y desventajas del ensilado

El ensilaje permite tener alimento disponible todo el año, particularmente, en zonas donde el forraje escasea en ciertas temporadas. Esta técnica como cualquier otra, presenta ventajas y desventajas, las cuales deben ser evaluadas por el productor para determinar su conveniencia (Arruda, 2016)

➤ Ventajas

- Permite cosechar y conservar forraje cuando presenta mayor valor nutritivo sin muchos cambios en su calidad.
- Aprovecha excedentes y evita desperdicios de forraje durante la época de lluvias.

- Permite mantener niveles constantes de producción a lo largo del año.
- Asegura la disponibilidad de forraje de calidad durante la época de seca o inundación.
- Evita la degradación de praderas por sobrepastoreo.
- Permite producir más carne o leche en menor superficie de terreno.
- Evita la cosecha diaria de forraje en sistemas de corte y acarreo.
- Desventajas
 - El costo de los materiales para la construcción o el tapado del silo puede ser elevado.
 - Es una técnica que requiere de experiencia y mano de obra.
 - Requiere de maquinaria y equipo para ciertos tipos de silo.
 - Requiere de una inversión inicial considerable para establecimiento del cultivo, producción y ensilaje.
 - Hay pérdidas de forraje durante el proceso.
 - Requiere de condiciones de terreno específicas.

PDA'S (PÉRDIDAS DE DESPERDICIOS DE ALIMENTOS)

Se define como “pérdidas de alimentos” a la disminución de la masa de alimentos comestibles en la parte de la cadena de suministro que conduce específicamente a los productos alimenticios para el consumo humano. Las pérdidas de alimentos tienen lugar en las etapas de producción, postcosecha y procesamiento de la cadena de suministro de alimentos. Las pérdidas de alimentos que ocurren al final de la cadena alimentaria (venta minorista y consumo final) se conoce como “desperdicio de alimentos”, más relacionado con el comportamiento de los vendedores minoristas y los consumidores. (FAO, 2014)

Las pérdidas o el desperdicio alimentario se miden únicamente para los productos destinados al consumo humano, por lo que quedan excluidos el pienso y los productos que no son comestibles. Por definición, las pérdidas de alimentos o el desperdicio son masas de alimentos que se tiran o desperdician en la parte de las cadenas alimentarias que conducen a productos comestibles destinados al consumo humano. (FAO, 2014) Por ello, los alimentos que están destinados en un principio al consumo humano pero que el azar ha sacado de la cadena alimentaria humana se consideran pérdidas o desperdicios de alimentos, incluso cuando posteriormente son utilizados para un uso no alimentario (pienso, bioenergía, etc.).

Tipos de pérdidas y desperdicios de alimentos

Se distingue cinco fronteras del sistema en las cadenas del suministro de alimentos (CSA) de los productos básicos y vegetales. (Arruda, 2016) Se estima que las pérdidas y desperdicios de alimentos para cada uno de los segmentos de las CSA y para los cuales se consideran los siguientes aspectos:

- PDA'S de vegetales: básicos y no básicos.
 - Producción agrícola: pérdidas debidas a daños mecánicos y/o derrames durante la cosecha (p. ej., trilla o recolección de la fruta), la separación de cultivos en la postcosecha, etc.
 - Manejo postcosecha y almacenamiento: perdidas debidas a derrames y al deterioro de los productos durante el manejo, almacenamiento y transporte entre la finca de explotación y la distribución.
 - Procesamiento: perdidas debidas a derrames y al deterioro de los productos durante el procesamiento industrial o doméstico. Las perdidas pueden ocurrir cuando se separan los cultivos que nos son apropiados para el procesamiento o durante las etapas de lavado, pelado, troceado y cocción, o al interrumpir procesos y en los derrames accidentales.
 - Distribución: perdidas y desperdicios en el sistema de mercado.
 - Consumo: perdida y desperdicios durante el consumo en el hogar.
- PDA'S de animales: básicos y no básicos.
 - Productos agrícolas: las pérdidas de carne de bovino, de cerdo y de ave se deben a las muertes de animales que se producen durante la cría; las pérdidas de pescado tienen su origen en los peces que se desechan en este; las pérdidas de pescado tienen su origen en los peces que se desechan durante la pesca: las pérdidas de leche, por su parte, se deben a la disminución de la producción de leche ocasionada por la mastitis en vacas lecheras.
 - Manejo postcosecha y almacenamiento: las pérdidas de carne de bovino, de cerdo y de ave se deben a las muertes que se producen durante el transporte al matadero y a los animales que se desechan en este; las pérdidas de pescado tienen su origen en los derrames y el deterioro que se producen durante el enhielado, envasado, almacenamiento y transporte tras la descarga; las pérdidas de leche, por su parte, se deben a los derrames y al deterioro durante el transporte entre la granja y la distribución. (FAO, 2014)
 - Procesamiento: las pérdidas de carne de bovino, de cerdo y de ave se deben a los derrames en el desbarbado durante la matanza y el procesamiento industrial adicional. Las pérdidas de pescado tienen su origen en los procesos industriales como el enlatado o el ahumado; las

pérdidas de leche, por su parte, se deben a los derrames que tienen lugar durante el tratamiento industrial y la transformación de la leche.

- Distribución: pérdidas y desperdicio en el sistema de mercado.
- Consumo: pérdidas y desperdicios durante el consumo en el hogar.

Alcance de las pérdidas y desperdicios

Aproximadamente un tercio de las partes comestibles de los alimentos producidos para el consumo humano se pierde o desperdicia, lo que representa alrededor de 1 300 millones de toneladas al año. Los alimentos se desperdician a lo largo de la cadena de suministro de alimentos, desde la producción agrícola inicial hasta el consumo final en el hogar. En los países de ingresos altos y medianos, los alimentos se desperdician en gran medida, lo que significa que se tiran incluso si todavía son adecuados para el consumo humano; no obstante, los alimentos también se pierden y desperdician al principio de la cadena de suministro de alimentos. En los países de ingresos bajos, los alimentos se pierden principalmente durante las primeras etapas y etapas intermedias de la cadena de suministro de alimentos y se desperdician muchos menos alimentos en el consumo. (FAO, 2014)

En México se desperdicia 800,000 toneladas de pan, 1,000 millones de litros de leche y 250,000 toneladas de jitomate. Mas del 37% de lo que se produce cada año en el país se pierde o se despilfarra, según estadísticas de la FAO

Las pérdidas per cápita de alimentos en Europa y América del Norte son de 280 a 300 kg/año, mientras que en el África subsahariana y Asia meridional y sudoriental son de 120 a 170 kg/año. La producción per cápita total de partes comestibles de alimentos para el consumo humano es, en Europa y América del Norte, de aproximadamente 900 kg/año, mientras en el África subsahariana y Asia meridional y sudoriental es de 460 kg/año. (FAO, 2014)

La cantidad de alimentos per cápita desperdiciada por los consumidores es de 95 a 115 kg/año en Europa y América del Norte, mientras que esta cifra alcanza solo de 6 a 11 kg/año en el África subsahariana y Asia meridional y sudoriental. (figura 1) (FAO, 2014)

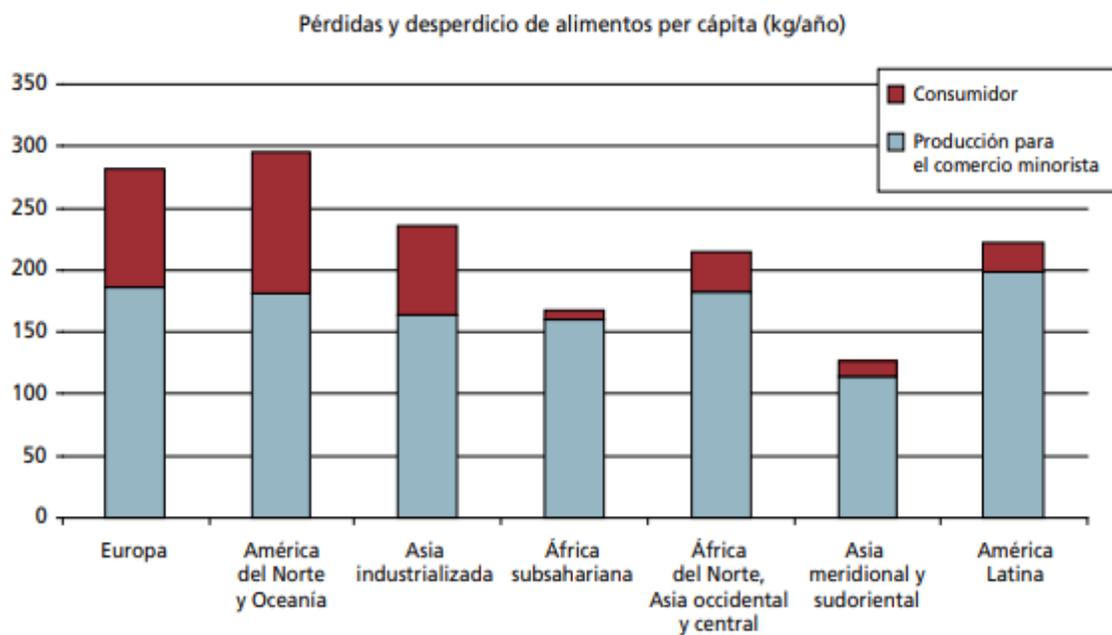


Figura 1 Pérdidas y desperdicios de alimentos per-cápita en las fases de consumo y anteriores al consumo en diferentes regiones (FAO, 2014)

Las pérdidas de alimentos en los países industrializados son tan altas como en los países en desarrollo, pero hay que tener en cuenta que en los países en desarrollo más del 40 % de las pérdidas de alimentos se produce en las etapas de postcosecha y procesamiento, mientras que en los países industrializados más del 40 % de las pérdidas de alimentos se produce en la venta minorista y el consumo. Los consumidores de los países industrializados desperdician casi la misma cantidad de alimentos (222 millones de toneladas) que la producción de alimentos neta total del África subsahariana (230 millones de toneladas). (FAO, 2014)

En las regiones en desarrollo, las pérdidas en la producción agrícola dominan el total de pérdidas de la CSA. Las pérdidas en las fases de postcosecha y distribución también son graves; esto se debe tanto al deterioro de los cultivos percederos en los climas calientes y húmedos de muchos países en desarrollo, como al carácter estacional que conlleva un excedente imposible de vender.

En el caso de la carne y los productos cárnicos, las pérdidas y el desperdicio en las regiones industrializadas son más graves al final de la CSA debido a un alto consumo de carne per cápita, especialmente en Europa y los Estados Unidos de América. El desperdicio en la fase de consumo supone aproximadamente la mitad de las pérdidas y desperdicio totales. Los niveles relativamente

bajos de desperdicio en la producción agrícola y el manejo postcosecha y almacenamiento se deben a las pérdidas relativamente bajas en la mortalidad animal durante la cría y el transporte al matadero.

Las pérdidas en todos los países en desarrollo se distribuyen de manera bastante equitativa a lo largo de la CSA, pero cabe destacar las pérdidas relativamente altas en la producción agrícola en el África subsahariana. Esto se debe a la alta mortalidad de animales causada por las frecuentes enfermedades en la cría de ganado.

En los países en desarrollo, las pérdidas en la producción primaria dependen sobre todo de índices de descarte de entre un 6 y un 8 % de las capturas marinas. El hecho de que se produzcan pérdidas más altas en la fase de distribución se debe a los altos niveles de deterioro que se dan durante la distribución de pescado y mariscos frescos. (Benitez, 2016)

En el caso de la leche, el desperdicio en la etapa de consumo comprende aproximadamente de un 40 a un 65 % del total del desperdicio de alimentos en las tres regiones industrializadas. Las pérdidas en la producción agrícola son significativas ya que las enfermedades que afectan a las vacas lecheras (mastitis, principalmente) causan aproximadamente una reducción de un 3 a un 4 % del rendimiento en leche. (Benitez, 2016)

ALIMENTOS PARA PESCADOS

Se sabe que las plantas pueden, mediante fotosíntesis, utilizar la luz del sol y nutrientes sencillos para producir nuevo material orgánico. Los animales en cambio, comprendidos los peces, no pueden hacerlo. Por esta razón, los peces para sobrevivir necesitan consumir materia orgánica como plantas, otros animales o alimentos ya preparados que contengan materia animal y/o vegetal. Por lo tanto, es muy importante asegurar a los peces de la granja los alimentos necesarios, tanto en términos de calidad como de cantidad. (FAO, 2014)

Existen tres tipos de alimentos utilizados en estanques de peces:

- Alimentos naturales;
- Alimentos complementarios;
- Alimentos completos.

Los alimentos naturales son aquellos naturalmente presentes en los estanques. Pueden ser detrito, bacterias, plancton, gusanos, insectos, caracoles, plantas acuáticas y peces. Su abundancia depende

en gran medida de la calidad del agua. La aplicación de cal, la fertilización y en particular la fertilización orgánica, pueden ayudar a proporcionar a los peces un buen suministro de alimentos naturales. (FAO, 2014)

Los alimentos complementarios son alimentos que se suministran regularmente a los peces en los estanques. Normalmente consisten en materiales económicos y disponibles localmente, por ejemplo, plantas terrestres, desperdicios de comida o productos derivados de la agricultura.

Los alimentos completos también se suministran en forma regular. Consisten en una mezcla de ingredientes cuidadosamente seleccionados para proporcionar todos los elementos nutritivos necesarios para que los peces crezcan bien. Deben estar hechos de forma que sea fácil ingerirlos y digerirlos. Estos alimentos son muy difíciles de preparar en la granja y normalmente son bastantes caros. (FAO, 2014)

TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

La tilapia es un término genérico utilizado para designar un grupo de especies de valor comercial pertenecientes a la familia *Cichlidae*; la expresión se deriva de la palabra nativa de *Bechuana* (África) "*thlape*" que significa pez, generalmente se encuentra restringida a aguas relativamente someras y los adultos tienen una migración vertical hacia aguas profundas; habitan en agua dulce, estuarina y tolera amplios intervalos de salinidad. Este tipo de especies es omnívoro, ingiere una amplia variedad de organismos incluyendo plancton, invertebrados, larvas de peces, detritos y materia orgánica en descomposición. La tilapia posee una gran capacidad de adaptación a diferentes temperaturas, rápido crecimiento, alta eficiencia en la conversión de alimentos, mayor tolerancia a baja calidad del agua; es además resistente a parásitos y enfermedades, tales características permiten cultivar y manejar con relativa facilidad. (Sastoque, y otros, 2013)

En las Américas, la tilapia existe en cada país del continente, desde Canadá hasta Argentina. La tilapia ha escapado de muchas fincas en muchos de estos países, y ya forma parte de la ictiofauna de las aguas naturales de la región. Por ejemplo, en Centroamérica, hay pesca artesanal de tilapias en varios ríos y lagos de Honduras, EL Salvador y Nicaragua. Además, se encuentran tilapias en los esteros adyacentes y en el Golfo de Fonseca. (Pullin, y otros, 2015)

El cultivo moderno de la tilapia comenzó después de la Segunda Guerra Mundial en diferentes partes de África. Los primeros intentos para lograr su cultivo fueron en países tropicales y los

trabajos fueron organizados y dirigidos por los colonos europeos.

Además, durante la guerra, miembros del ejército japonés encontraron ejemplares de la tilapia (*Tilapia mossambica* = *Oreochromis mossambicus*) en un canal de riego durante la ocupación de la isla de Java, Indonesia. Luego el pez fue introducido a muchas islas del Pacífico para proveer proteína animal a las tropas y habitantes locales. Esta especie todavía lleva el nombre común de la "tilapia de Java." La tilapia es cultivada comercialmente, y a nivel subsistencia, en gran parte del mundo tropical. Su cultivo es un proceso que puede ser descrito por una secuencia de actividades y productos. Para poder comercializar, el proceso requiere algunos materiales e instalaciones especializados, y es necesario tomar decisiones sobre el uso de varios insumos en el sistema. El flujo de información es en dirección contraria al proceso de producción. (W. Popma, y otros)

El verdadero éxito del cultivo de la tilapia ha sido durante los últimos 20 años con el desarrollo de estrategias de manejo intensivo y comercial. Existen varias empresas en Centroamérica que suplén filetes frescos a los mercados en Norteamérica y en otros lugares. Para su cultivo comercial exitoso los peces son sembrados a elevadas densidades, se emplean grandes cantidades de los alimentos concentrados especializados para lograr su engorde rápido y eficiente, y se usan grandes cambios continuos del agua para mantener condiciones adecuadas para los peces.

TAXONOMÍA DE LA TILAPIA

La producción mundial reportada por la FAO en 2015, se acerca a un 1 000 000 de toneladas anuales y son las especies de agua dulce de mayor crecimiento relativo en el tonelaje producido de los últimos 10 años.

Estos peces presentan la incubación bucal materna de los embriones y de los peces-Larvas recién nacidos. A continuación, se detallan algunas de las características importantes de las tilapias con relación a su biología y cultivo.

La clasificación de la tilapia es:

- **Filo Chordata:** (animales con notocorda, cordón nervioso dorsal y hueco, y hendiduras branquiales)
- **Subfilo Vertebrata:** (animales cordados con columna vertebral)
- **Clase Osteichthyes:** (peces modernos u óseos con esqueleto de huesos)
- **Orden Perciformes** (vertebrados marinos y constituyen el grupo predominante en muchas zonas de aguas dulces tropicales y subtropicales)
- **Familia Cichlidae:** (son cíclidos; peces caracterizados por tener su línea lateral

separada en dos partes; son peces distribuidos principalmente en África y en el Medio Oriente).

Los peces miembros de la Familia Cichlidae, o los cíclidos, nativos a Centro América son el guapote, la mojarra y el Congo. Las "tilapias" fueron introducidas en toda la región Latinoamericana durante el periodo 1950 a 1970.

Actualmente su cultivo comercial es importante en Costa Rica, Honduras, Ecuador, México, EL Salvador, México, Colombia, Brasil, EL Salvador, Belice y Nicaragua. (Beverage y Macandrew, 2013)

La tilapia es resistente a enfermedades y parásitos se distingue por tener una carne blanca y sólida, con buen sabor y textura. El rendimiento en filete (sin piel) de tilapia es de 33-36% del peso vivo. En general estos peces presentan una buena tolerancia para adaptarse al agua salina y salobre (eurihalinos). Se ha logrado adaptar a la tilapia a condiciones de agua de mar (36,000 ppm de salinidad) para su cultivo. En general estos peces se reproducen en la finca sin ningún arreglo o condición especial, sino en forma espontánea. Esta facilidad de reproducirse es una ventaja para su cultivo, pero se vuelve como problema en el manejo del engorde del pez. (PULLIN & R.H., 2015)

VARIEDADES DE LA TILAPIA

En general estos peces se reproducen sin ningún arreglo o condición especial, sino en forma espontánea. Esta facilidad de reproducirse es una ventaja para su cultivo, pero se vuelve como problema en el manejo del engorde del pez. **(Pullin, y otros, 2015)** *Oreochromis niloticus*: La tilapia del Nilo es un pez tropical de crecimiento rápido, fuerte y robusto, de color azul-grisáceo. Este pez fue distribuido o introducido en muchas partes del mundo, debido a su fácil adaptación a una gran variedad de condiciones.

- ✓ *O. aureus*: La tilapia azul, es un pez de crecimiento rápido, con buena tolerancia a temperaturas bajas y es de color azul-grisáceo.
- ✓ *O. mossambicus*: La tilapia de Java es la especie de tilapia utilizada en los primeros cultivos en varias partes de Asia y África. Presenta una fuerte pigmentación negruzca. El cuerpo de la tilapia de Java es largo y delgado. La tilapia de Java alcanza su madurez sexual precozmente a un tamaño muy pequeño (10cm). Por su coloración oscura, resulta muy fácil separar los sexos de esta especie de tilapia. Es una especie muy tolerante al agua salada.
- ✓ Tilapia roja floridiana: Es un pez de coloración rojiza, rosácea o amarillenta, de rápido

crecimiento. Por su color llamativo, tiene buena aceptación en muchos mercados. Son peces muy visibles en el agua para los depredadores, especialmente las garzas y otras aves. La tilapia roja es un híbrido con parentesco mal entendido. Los híbridos de tilapia son por 10 general, peces nerviosos y más difíciles de manejar que los de líneas puras.

ANATOMÍA DE LA TILAPIA

La tilapia es un pez que nada bien en el agua con su cuerpo aplanado hidrodinámico. Usa sus aletas pareadas para girarse y estabilizarse en el agua (Figura 2). Su mayor impulso del pez en la natación proviene de los movimientos laterales de su aleta caudal (cola). (SAGARPA, 2016)

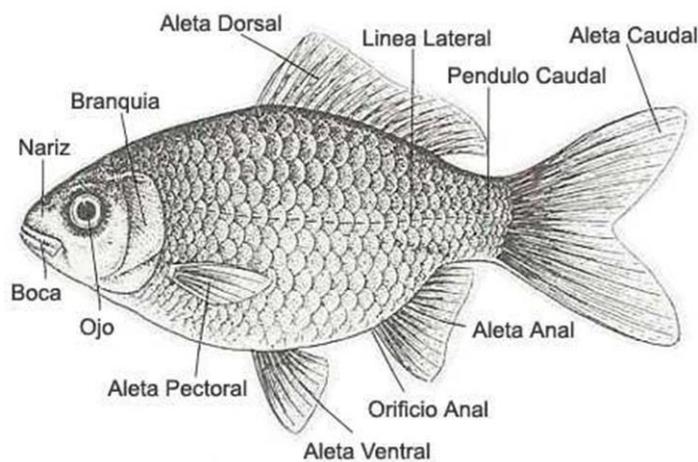


Figura 2 Anatomía externa de la tilapia (SAGARPA, 2016)

La anatomía externa de una tilapia. En el exterior de la boca del pez hay dos pre-maxilas, una superior y otra inferior. Los dientes de las pre-maxilas sirven para raspar algas y otros microorganismos de las superficies de rocas y de otros objetos en el agua. La parte anterior de las aletas dorsal y anal cuenta con espinas rígidas y peligrosas al momento de manipular los peces en la mano.

Con ejemplares mayores de unos 15 cm de largo y 50 g de peso se puede diferenciar los sexos de la tilapia comparando la morfología de sus orificios genitales (véase en la figura 2). Los machos de tilapia crecen más rápidamente que las hembras. (SAGARPA, 2016)

Sistema digestivo

La tilapia es clasificada como un pez herbívoro que consume el fitoplancton en medios acuáticos. Estos peces presentan un conjunto de adaptaciones para alimentarse en base de algas y otros alimentos naturales. Además, ellos aceptan comer una gran variedad de alimentos artificiales, como

los granos básicos.

La tilapia presenta una dentadura especializada y branquiespinas para obtener su alimento.

Las branquiespinas son pequeñas protuberancias presentes en el arco de cartílago que da sostén físico a cada branquia. El conjunto de branquiespinas de cada branquia actúa como un filtro de partículas en el agua.

El material acumulado en las espinas es atrapado en moco y transferido a la faringe. Luego es triturado por acción de sus dientes faríngeos y tragado.

Similar a muchas especies de animales herbívoros, la tilapia presenta un sistema digestivo largo, aproximadamente 6 veces más largo que el pez. El estómago de la tilapia, aunque no está bien definido anatómicamente, secreta ácido clorhídrico. Los alimentos ingeridos son desdoblados en un medio de acidez. La acidez ayuda en desdoblar la estructura de las paredes celulares de las algas y bacterias ingeridas y la proteína contenida en los alimentos. (SAGARPA, 2016)

La tilapia es un animal diurno y se alimenta de forma continua durante prácticamente todas las horas de luz de cada día. Se ha estimado el tiempo de evaluación del sistema digestivo de la tilapia en menos de 12 horas. Bajo las condiciones de los cultivos la tilapia acepta el alimento ofrecido durante las horas de la noche. (figura 3)



Figura 3 Fotografía del sistema digestivo de una tilapia de 25 cm de largo. El tubo digestivo tenía un largo de aproximadamente 150 cm. (Pullin, y otros, 2015)

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN DE LA TILAPIA

En su ambiente natural, los alevines y juveniles de tilapia se alimentan de pequeños invertebrados, especialmente crustáceos del zooplancton. Los adultos de tilapia son más dependientes de las algas verde-azules (cianobacterias), diatomeas, y varios tipos de macrocitos y detritus orgánico.

Las tilapias son peces provistos de bronquio-espinas (las cuales son protuberancias en el arco del

cartílago formando la unidad de sostén de cada branquia) con los cuales los peces pueden filtrar el agua para obtener su alimentación consistiendo en algas y otros organismos acuáticos microscópicos.

Los alimentos ingeridos pasan a la faringe donde son mecánicamente desintegrados por los dientes faríngeos. Ellos son utilizados en triturar el alimento en pequeñas partículas. Esto ayuda en el proceso de absorción en el intestino, el cual mide de 6 a 8 veces más que la longitud del cuerpo de pez. Se ha detectado en tilapias un estómago o sección del intestino con pH reducido.

➤ Proteína dietética

El nivel recomendado de proteína en dietas balanceadas para tilapia cultivada en ausencia de los alimentos naturales son:

- 40 a 50% de proteína cruda para alevines (menores de 30g)
- 35 a 40% de PC para peces de 30 a 100 g
- 25 a 35% para peces con pesos mayores de 100 g

Las dietas prácticas usadas en el cultivo de tilapia en estanques varían entre 25 y 35% proteína para animales arriba de los 35 g. La cantidad de proteína varía de acuerdo al tamaño del pez, cantidad de alimento natural en el estanque, el sistema de cultivo y características de la dieta, tales como calidad de la proteína y niveles de energía. (SAGARPA, 2016)

La caseína es una excelente fuente de proteína para tilapia, seguida en calidad por la harina de pescado, harina de soya, torta de maní y las levaduras. La suplementación de aminoácidos limitantes esenciales no es requerida cuando la proteína de la soya es combinada con la harina de pescado en las raciones para la tilapia.

➤ Energía

La relación entre la energía digestible y proteína a (ED/F') en dietas para la tilapia disminuye mientras los peces incrementan de tamaño. En 1980 se reportó que ejemplares de la tilapia del Nilo con pesos individuales entre 1.7 a 7.0 g, presentaron su máximo crecimiento cuando se realizó el desarrollo de técnicas de reversión sexual mediante hormonas y fue de 8.3 kcal/g. Para una dieta con 36% proteína, el encontró que mientras el contenido de ED incrementaba, el consumo de alimento disminuía. (SAGARPA, 2012)

La tilapia digiere muchos ingredientes relativamente bien, pero no digiere bien alimentos con altos niveles de fibra, tales como harina de alfalfa y pulpa de café. La grasa y las proteínas son más digestibles y son buenas fuentes energéticas para la tilapia, aparentemente más importantes que los

carbohidratos.

Los alimentos balanceados para peces son mezclas de diferentes ingredientes que suministran al organismo cultivado los elementos nutritivos y energía que necesita para su crecimiento y desarrollo, su actividad diaria y para su reproducción.

En la siguiente tabla se presenta algunos de los ingredientes comúnmente utilizados para formular dietas para peces y camarones.

Tabla 2 Algunos ingredientes incorporados comúnmente en la formulación de dietas para peces y camarones

Ingredientes	% Materia seca	Contenido energético (Kcal/kg)	Proteína (%)
Afrecho de arroz	91	4232	12.7
Harina de trigo	89	4064	15.1
Harina de carne	93	3781	54.3
Harina de pescado	92	4609	65.7
Maíz amarillo	88	3871	9.6
Sangre	92	5225	75.3
Semilla de algodón	93	4640	40.8
Sorgo	90	3838	11.3
Harina de soya	90	4355	42.4

Fuente: (Meyer, 2016)

Manejo de la alimentación de tilapia

Las dietas artificiales para peces son paletizadas para asegurar su fácil consumo y reducir el desperdicio del alimento. Las propiedades físicas del pellet son importantes. Se quiere un pellet con estabilidad en el agua y de un tamaño adecuado para su ingestión. En la fabricación de pellets flotantes, los ingredientes son parcialmente cocidos y esto ayuda, en varios casos, a mejorar los niveles de su digestibilidad. Los almidones contenidos en los ingredientes se gelatinizan y sellan la superficie del pellet, encerrando dentro una pequeña cantidad de aire. Por eso, los pellets extruidos

para peces flotan en el agua.

El alimento paletizado debe mantenerse en el agua como píldora por suficiente tiempo para que el pez pueda consumirlo y así minimizar pérdidas de nutrientes por disolución y el desperdicio del alimento. Se ha comprobado que alimentos acuícolas pueden perder hasta 25% de su contenido de proteína cruda durante 2 horas de exposición en el agua.

Para alimentar la tilapia hasta alcanzar un tamaño comercial de 250g o más gramos, se recomienda emplear un pellet de 3 a 6 mm en diámetro. Los alimentos pulverizados o quebrados son usados para los alevines y peces juveniles.

La eficiencia de utilización de los alimentos también depende en gran parte en la cantidad de alimento ofrecido al cultivo diariamente. Si se sobrealimenta el cultivo, no puede haber un valor aceptable para la eficiencia de utilización de alimento por los peces (ICA de bajo valor). En el caso de sub-alimentar un cultivo, las conversiones alimenticias tendrán un valor bajo, pero probablemente los peces van a crecer lentamente por falta de suficiente comida.

Con una mayor contribución del alimento natural, se puede reducir u omitir algunos componentes (parte de la proteína, varias vitaminas y minerales, etc.) en las fórmulas completas para la tilapia. Una dieta con 25% proteína cruda (15% harina de pescado, 20% harina de soya, 20% trigo molido y 45% sorgo molido) ha sido satisfactoria en sistemas semi-intensivos de cultivo de tilapia. (Meyer, 2016)

La tilapia acepta consumir una gran variedad de subproductos agrícolas, granos básicos, y alimentos balanceados.

Los alimentos molidos o pulverizados son desperdiciados por los peces en el estanque. En la de los alimentos balanceados para los alevines tiene que estar pulverizado. Se puede remojar el polvo y formar pelotas o bolitas, que luego son colocadas en el estanque para su consumo.

La cantidad diaria de alimento balanceado para un cultivo de tilapia se calcula como el nivel alimenticio (NA), el cual es basado en un porcentaje de la biomasa de la población de peces en el cultivo y su estado de desarrollo. Los alevines y juveniles de tilapia, por estar en crecimiento rápido, requieren una mayor cantidad de alimento (10 a 30% de su peso) que los peces grandes (1 a 5%). Siempre se recomienda dividir la cantidad diaria de alimento en varias porciones.

Los niveles de alimentación son afectados por la especie de pez, su tamaño, calidad del agua incluyendo su temperatura, frecuencia de la alimentación y la disponibilidad de alimentos naturales en el estanque. (Pullin, y otros, 2015) (Poulter, 2014)

Para poder comparar diferentes dietas utilizadas en la producción de tilapia, se calcula el índice de conversión alimenticia (ICA) para cada cultivo. El ICA indica la eficiencia de utilización obtenida del alimento por los organismos del cultivo durante un periodo dado. El ICA es calculado así:

$$\text{Indice de conversion Alimentaria} = \frac{\text{Cantidad del alimento suministrado}}{\text{Producción neta de tilapia}}$$

Valores de 1.2 hasta 4.0 para el ICA de cultivos piscícolas son obtenidos dependiendo de la especie, su estado de desarrollo, las condiciones del cultivo y la calidad de la ración. Los peces pequeños normalmente presentan los mejores valores de conversión (alimento convertido en biomasa). Cuando hay problemas de oxígeno disuelto en el agua, problemas con enfermedades u otras condiciones que provocan "trauma" o "estrés" entre los peces, los valores del ICA tienden a subir. (Poulter, 2014)

Antecedentes de la alimentación y nutrición de la tilapia

La tilapia es la principal especie de la acuicultura mexicana. Hasta fines del siglo pasado, los cultivos predominantes eran efectuados en estanques excavados. A partir del 2000, la expansión de la producción en jaulas creció considerablemente en los grandes embalses en diversos Estados. Comparando los cultivos en estanques con los cultivos en jaulas, aquellos demandan menor inversión en su implantación y una mayor facilidad de manejo de sus poblaciones. Entretanto, el costo de producción es mayor en las jaulas, en especial por los FCR más elevados y por la mortalidad crónica por enfermedades bacterianas, especialmente en los períodos de altas temperaturas en el agua. (Kubitza, 2013)

En estanques con agua verde, las biomásas alcanzan entre 8.000 y 10.000 kg/ha (1 kg/m²), y el alimento natural (en particular el fitoplancton), contribuye con el 30 a 40 % de la ganancia en peso de la tilapia. El consumo de plancton y de otros organismos presentes en los estanques ayuda a la tilapia a complementar su nutrición, compensando eventuales deficiencias o desbalances de los nutrientes en las raciones. Esta compensación no ocurre con las tilapias confinadas en las jaulas sin alimentos naturales disponibles, dependen exclusivamente de los nutrientes existentes en las raciones utilizadas para su crecimiento y sanidad. De esta forma, cualquier desbalance o deficiencia

nutricional puede comprometer severamente el desempeño y salud de los animales, favoreciendo la producción de enfermedades.

Factores que deprimen la respuesta inmunológica de las tilapias:

Además de una inadecuada nutrición, otros factores contribuyen en mayor frecuencia en la presencia de enfermedades y muerte de los peces en las jaulas de cultivo. Aisladamente cada uno de estos factores puede causar problemas. (Kubitza, 2013) Combinados, las pérdidas se magnifican y los cultivos se afectan. Así, es fundamental que los productores reconozcan esos factores e inviertan en prácticas preventivas para minimizar sus efectos sobre los peces:

- a) Las altas densidades de siembra ayudan a intensificar el contacto entre los animales.

Las densidades de siembra son mayores en las jaulas (100-200 animales /m³ en la etapa final) que en los cultivos en estanques excavados con densidades relativamente bajas (2-12 peces/m²). Sin embargo, diversas veces se observan mortalidades en jaulas con densidades relativamente bajas (40-60kg/m³), mientras que en otras jaulas en la misma piscicultura presentan bajas mortalidades, aun cuando llegan al final del engorde (con densidad de 100- 200 kg/m³). (FAO, 2016) Por lo tanto, no es posible afirmar que la mortalidad en jaulas es influenciada exclusivamente por la densidad de siembra.

- b) Parásitos vectores de bacterias /virus

Además del perjuicio directo que causan a los peces, actúan como vectores de patógenos. En el caso específico de las tilapias, demostraron que el *monogeneo Girodactilus niloticus*, actúa como vector y portador de la bacteria *Streptococcus iniae*. Las tilapias infestadas por este monogeneo presentaban un 43% de mortalidad después de ser infectadas con esa bacteria, contra apenas un 7% de peces que no estaban infectados por el parásito. (Arruda, 2016) En virtud de los graves problemas causados por el *Streptococcus* en los cultivos de tilapia en jaulas, es fundamental que los productores monitoreen el grado de infestación y adopten medidas prácticas de manejo, como prevención y control de los principales parásitos durante el cultivo.

- c) Bacterias patógenas en el intestino y las heces.

Más de 20 tipos de bacterias se identificaron en el intestino de las tilapias. Entre ellas, merecen destacarse las patógenas *Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, *Pseudomonas fluorescens*, *Plesiomonas bigelloides* y diversas especies de *Vibrio*. Cuando los peces son expuestos a temperaturas por encima

del límite térmico superior (aguas demasiado calientes) se produce una reducción de la velocidad de pasaje del alimento por el tracto digestivo. Al suceder esto, la ingesta queda más tiempo expuesta a la fermentación por las bacterias del intestino, resultando la formación de ácidos y otras sustancias que pueden comprometer la integridad de la mucosa intestinal. (Kubitza, 2013) Las lesiones e inflamaciones en la mucosa intestinal favorecen la invasión de las bacterias patógenas eventualmente alojadas en otros órganos (como por ejemplo *Streptococcus*) que, hasta entonces no se habían manifestado. Esto agrava aún más el cuadro clínico de los peces.

d) Exposición a bajos niveles de oxígeno disuelto

Las tilapias son bastante tolerantes al bajo oxígeno. Sin embargo, cuando la exposición es frecuente, puede comprometer la inmunología del animal. En una experiencia con juveniles de tilapias del Nilo mantenidos bajo niveles de oxígeno muy bajos de la saturación, se observó reducción del crecimiento y una peor conversión alimentaria. (W. Popma, y otros) En otro estudio, juveniles de tilapia del Nilo expuestos durante 24 horas a niveles de oxígeno próximos a 1 mg/litro, presentaron 27 a 80 % de mortalidad después de recibir una inyección conteniendo *Streptococcus iniae*. En contraste, los juveniles mantenidos a un valor de oxígeno adecuado, sobrevivieron a esa misma infección.

e) El estrés asociado al manejo rutinario

En las operaciones de cosechas, clasificación y transferencias, los peces son sometidos a un estrés de confinamiento, además de perder escamas, mucus y sufrir otras injurias físicas. Las lesiones en la piel y las pérdidas de mucus favorecen el ataque de las bacterias existentes en el agua o excretadas en las heces de los propios peces.

f) Temperaturas extremas (por debajo de 22°C o por encima de 30°C)

A bajas temperaturas del agua, la tilapia prácticamente no produce anticuerpos, lo que puede explicar la mayor incidencia de enfermedades (especialmente infecciones fúngicas) durante y luego de los meses invernales en tilapias cultivadas en regiones del subtrópico

g) Alimentación excesiva a temperaturas elevadas (por encima de los 30°C),

Aceleran el metabolismo (demanda de oxígeno) de las tilapias. Al piscicultor, los peces se le presentarán muy hambrientos, agitados y voraces en los horarios de alimentación. Tal comportamiento hace que muchos productores ofrecen ración en modo excesivo para saciar a los

peces. (Arruda, 2016) Las tilapias excesivamente alimentadas, en especial cuando la temperatura está muy elevada, son más susceptibles a las enfermedades bacterianas. Algunas hipótesis pueden explicar esto:

- Los peces alimentados en exceso presentan mayor demanda de metabólica (mayor consumo de oxígeno). Así, la ocurrencia de bajos niveles de oxígeno en el agua, intensifica el estrés y compromete más aún la respuesta inmunológica de los peces.
- Involucrados en un proceso intenso de digestión de los alimentos y asimilación del metabolismo en los nutrientes, los peces pueden descuidar otros mecanismos importantes, en particular del sistema inmunológico, bajando la guarda contra los patógenos.
- Temperaturas por encima del límite térmico superior, tiene una tendencia a la reducción de la velocidad del tránsito intestinal, haciendo que la ingesta quede más tiempo expuesta a los procesos fermentativos de las bacterias del intestino, aumentando la producción de gases y sustancias que pueden irritar e inflamar la mucosa intestinal. Las inflamaciones y daños en la integridad de la mucosa intestinal favorecen la infección de los peces por las bacterias patógenas presentes en el intestino. El mayor consumo de alimento implica una mayor excreción fecal, aumentando la concentración de bacterias intestinales potencialmente patógenas en el agua.

HIPÓTESIS

La elaboración del alimento a partir de los residuos orgánicos que serán obtenidos en el mercado del norte en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, presentara mayor calidad nutrimental, comparado con los alimentos comerciales.

METODOLOGÍA

DISEÑO DE ESTUDIO

El presente trabajo es de tipo experimental, cuantitativo y transversal; es experimental porque se realizaron distintas formulaciones para la obtención de un alimento; cuantitativo porque se efectuaron análisis químico proximal y microbiológico; transversal porque se realizó en un periodo determinado de tiempo.

POBLACIÓN

Se les realizó una encuesta a 40 locatarios del mercado del norte para la identificación y cuantificación de RO en el mercado.

MUESTRA

25 locatarios que aceptaron donar los RO para su posterior tratamiento.

VARIABLES

Dependientes	Independientes
% RO Microorganismos fermentativos Método de obtención: seco, húmedo	Humedad Ceniza Grasas Proteína pH Acidez

INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

En los instrumentos de medición se utilizaron:

- Balanza Analítica (Velab Mexico®, Mod. VE-204, Mexico)
- Colorímetro (KONICA MINOLTA®, Mod. CR-400, USA)
- Termómetro (ULINE®, Mod. H-5802, Mexico)
- Calendario

DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS A UTILIZAR

Identificación de RO

Se aplico una encuesta con el objeto de identificar si los locatarios del mercado tienen conocimiento acerca de las características y cantidades de RO que se generan en el local que tiene a su cargo. Se aplico también una segunda encuesta dirigida a recolectores de residuos en el mercado a fin de conocer la cantidad de residuos que recolectan, así como su destino final. Este instrumento se aplicó a operadores de camión empleados por alguna compañía, a recolectores particulares, a pepenadores (recolectan residuos dentro del contenedor, sin autorización del mercado). Siempre y cuando acepten contestar la encuesta.

Cuantificación de RO (Anexo 1)

Se entrevisto a cada locatario del mercado, con la finalidad de solicitar su autorización para llevar a cabo la cuantificación de los RO generados. La caracterización se realizó con una balanza en el sitio de disposición temporal de residuos dentro del mercado, los residuos se separaron por subproducto y se colocaron en la báscula, restando la tara; los resultados se anotaron en una hoja de registro, siguiendo el formato de registro de subproductos de la Norma NMX-AA-022-1985 (SECOFI 1985b). La adecuación del formato se realizó de acuerdo a la predominancia del tipo de residuos que se encuentre, ya que algunos rubros contemplados en el formato de registro de la Norma son ausentes o las cantidades encontradas fueron mínimas. (anexo 11 y 12)

LUGAR DE TRABAJO

La elaboración del alimento para tilapias se realizó en el laboratorio tecnología de alimentos y se analizó microbiológicamente en el laboratorio de microbiología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas en Ciudad Universitaria

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizo un diseño experimental factorial de 8x2

Método de obtención	Microorganismo fermentativo	RO/Melaza
8 Dias	MO1	80/20
		70/30
	MO2	80/20
		70/30
21 Dias	MO1	80/20
		70/30
	MO2	80/20
		70/30

COLECTA Y MANEJO DE LOS SUBPRODUCTOS

Se llevo al mercado del Norte ubicado en la 17Av. Norte Oriente s/n Asturias C.P. 29034 Tuxtla Gutiérrez Chiapas, para recolectar los RO del lugar ya antes mencionado.

Los residuos que se obtuvieron fueron transportados en doble bolsa de plástico dentro de una hielera, hasta llegar al Laboratorio de tecnología de alimentos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Ciudad Universitaria, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Los residuos de pescado, se almacenaron en congelación y previamente en su uso se descongelo en el refrigerador durante toda una noche para que se conserve su frescura.

Se llevaron a cabo dos corridas experimentales mediante el método de ensilado biológico en húmedo (González, 2009), con ligeras modificaciones para poder realizarlas a nivel laboratorio. Estas adaptaciones se relacionan con el equipo y los materiales utilizados en el laboratorio en sustitución del equipo industrial. A continuación, se describe el proceso de elaboración del ensilado

biológico en cada uno de los pasos más relevantes, los cuales también se indican en el diagrama de flujo.

ELABORACIÓN DEL ENSILADO BIOLÓGICO

Materia prima:

- Pescado: Se utilizaron los residuos (carne, piel, esqueleto y vísceras) de pescado del mercado del norte de la nave de pescados y mariscos. Se recolectaron aproximadamente 15 Kg de residuos, los cuales serán trasladados a las instalaciones de la UNICACH y se mantuvieron en refrigeración (8 °C) hasta el momento de la formulación.
- Melaza de caña: Se obtuvo en el ingenio azucarero en San Francisco Pujilic, municipio de Venustiano Carranza, la misma que fue utilizada como fuente de carbohidratos.
- Fermento láctico: Proveniente de microorganismos presentes en el yogurt comercial.
- Frutas y verduras: Se utilizaron las frutas y verduras que los locatarios del mercado ya no pueden comercializar pero que están en buen estado para aprovecharlas y transformarlas, las frutas y tuberculos que se utilizaron debido a su alto contenido de carbohidratos fueron: plátano macho, papa, yuca, camote, mango entre otros.
- Ácido sórbico (Riedel-deHaën): Agregada en una proporción del 0,25%.

Procesamiento del ensilado:

Los residuos de pescados fueron molidos por medio de una licuadora industrial. Posteriormente se pesaron las cantidades requeridas para formular 10 Kg de ensilado. Los ensilados se realizaron de acuerdo al esquema tecnológico mostrado en la FIG. 4.

Los ensilados se colocaron en recipientes de plásticos con una capacidad de 5 Kg y se almacenaron por 8 y 21 días a temperatura ambiente ($29 \pm 1^\circ\text{C}$). Al finalizar el período de almacenamiento se procedió a deshidratar cada uno de los ensilados en un horno de secado (Marca FELISA). (anexo 13)



Figura 4 Tecnología para la elaboración del ensilado biológico. (FAO, 2009)

ELABORACIÓN DE LOS ALIMENTOS (Anexo 15)

La elaboración de los alimentos paletizados se realizó en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, su preparación se llevó a cabo según la metodología descrita en (Ortiz, 2017)

- De los de los ensilados que se obtuvieron fueron secados en el horno de secado alrededor de 24 h a 60°C.
- Posteriormente se pasó a moler en una licuadora industrial,
- Después se tamizó cada uno de los ensilados secos a través de una malla de 0.25mm,
- Cuando estuvo realizado el tamizado se fue añadiendo agua de poco a poco hasta conseguir la consistencia adecuada (no arenoso al tacto más similar a una masa; alrededor del 50% EBP con 30%)
- El pallet se obtuvo en un molino de carne con salida de 2 mm de diámetro dando dos pasadas por él, una rápida y una lenta.
- Las líneas se cortaron manualmente con una espátula; verificando que la superficie fuera lisa y no representara escamasiones.

- Los pallets con inclusión de ensilado fueron secados en un horno eléctrico a 37°C por 48 horas, para el control interno a 60°C por 24 horas.
- Finalmente, los alimentos fueron empaquetados en bolsas plásticas cerradas y puestas en refrigeración hasta su uso y análisis.

TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS DE CALIDAD DEL ALIMENTO PARA TILAPIAS

Análisis químico proximal

a) Humedad (AOAC.1990.934.01) (anexo 1 y 15)

La determinación de humedad se llevó a cabo por el método gravimétrico descrito oficialmente por la AOAC (1990), y siguiendo las recomendaciones de (Woyewoda et al., 1986). El análisis consiste en pesar aproximadamente 7 g de muestra en balanza analítica (Denver, U.S.A.) y colocarlos en una charola de aluminio puesta a peso constante, la cual se introdujo a una estufa de secado (marca, Felisa, México) durante un tiempo de 12 a 24 horas a una temperatura de 50 a 65 °C.

El porcentaje de humedad se calculará utilizando la siguiente fórmula.

$$\%Hum = \frac{PM - (P1 - P0)}{PM} * 100$$

$$\% \text{ MUESTRA} - \text{SECA} = 100 - \% \text{ HUM}$$

b) Determinación de cenizas (AOAC 1990.942.05) (anexo 2 y 13)

La determinación de cenizas se llevó a cabo por el método gravimétrico descrito por la AOAC (1990) y recomendado por Woyewoda et al. (1986). Se pesaron 3 g de muestra ya triturada en la balanza analítica (Denver, U.S.A.) en seguida se colocaron en un crisol de porcelana, el cual se colocó en una parrilla de calentamiento (Sib Lindberg, México) en el no obtenerse rastro de humo. Posteriormente se introdujo a la Mufla (Sib Lindberg, México) para obtener su incineración a una temperatura de 550 a 600 °C; hasta que la muestra tomará un color gris blanco o blanco con un tiempo de 2 a 3 h.

Los valores del contenido de cenizas se obtuvieron utilizando la siguiente ecuación:

$$\%Ces(BS) = \frac{(PF - PO)}{PM} * 100$$

c) Determinación de grasa (método Soxhlet, AOAC 1990.942.05) (anexo 4 y 15)

La determinación se llevó a cabo con 3 g de muestra que se pesaron en la balanza analítica (Denver, U.S.A.) previamente triturada y sin humedad, se colocó en cartuchos de celulosa a peso constante; estos cartuchos se introdujeron aproximadamente 18 h, en el equipo Extractor Soxhlet (Lab-Line, U.S.A) agregando 3 sifonadas de hexano. Se determino el contenido de grasa por diferencia del peso con respecto a la grasa extraída del matraz.

Los valores del contenido de grasa cruda se obtuvieron utilizando la siguiente ecuación:

$$\%ExtractoEtereo(BS) = \frac{(PF - PO)}{PM} * 10$$

d) Determinación de proteína cruda (método kjeldahl, AOAC.1990.928.08) (anexo 5 y 15)

Se pesó 1 g de muestra balanza analítica (Denver, U.S.A.) libre de grasa, se depositó en un matraz Micro-Kjeldahl, en el cual se agregó catalizador micro-kjeldahl y Ácido Sulfúrico concentrado libre de nitrógeno, y se procedió a una digestión de 2 a 3 h (hasta que la muestra se vuelva transparente, en ese momento se calentó una hora más) en un Digestor micro-kjeldahl (Veco, México). Se movió la solución al aparato de Destilación, el destilado se recuperó en una probeta de 100 ml a la cual se le agregaron 5 ml de Ácido Bórico y 3 gotas de indicador; se obtuvo 50 ml de destilado y después se tituló con HCl 2.4 N hasta la aparición de un color rosa pálido.

$$\% N \text{ Total} = 14.007(\text{ml de HCl muestra} - \text{ml HCl blanco})(N \text{ acido}) / (\text{mg de la muestra}) * 100$$

$$\% \text{ Proteína cruda (Pc)} = (\%N \text{ total}) (\text{Factor})$$

e) Determinación de proteína cruda (método kjeldahl, AOAC.1990.928.08) (anexo 5 y 15)

Se pesó 1 g de muestra balanza analítica (Denver, U.S.A.) libre de grasa, se depositó en un matraz Micro-Kjeldahl, en el cual se agregó catalizador micro-kjeldahl y Ácido Sulfúrico concentrado libre de nitrógeno, y se procedió a una digestión de 2 a 3 h (hasta que la muestra se vuelva transparente, en ese momento se calentó una hora más) en un Digestor micro-kjeldahl (Veco, México). Se movió la solución al aparato de Destilación, el destilado se recuperó en una probeta de 100 ml a la cual se le agregaron 5 ml de Ácido Bórico y 3 gotas de indicador; se obtuvo 50 ml de destilado y después se tituló con HCl 2.4 N hasta la aparición de un color rosa pálido.

$$\% \text{ N Total} = \frac{14.007(\text{ml de HCl muestra} - \text{ml HCl blanco})(\text{N ácido})}{\text{mg de la muestra}} * 100$$

$$\% \text{ Proteína cruda (Pc)} = (\% \text{ N total}) (\text{Factor})$$

f) Determinación de fibra cruda (método kjeldahl, AOAC.1990.928.08) (anexo 6 y 15)

Para la determinación de fibra cruda, se peso 1 g de muestra seca y desgrasada, colocadolo en un vaso Berselius adicionado con 30 ml del reactivo S-K, se llevo al condensador de fibra cruda por 30 min después de su primera ebullición, posteriormente se filtro en caliente a través del embudo, utilizando papel filtro, después se lavo con agua caliente y con acetona para llevar el papel filtro a peso constante y determinar el contenido de fibra cruda.

$$\% \text{ de Fibra} = \frac{(P1 - P0)}{Pm} * 100$$

Análisis microbiológico

a) Determinación de mohos y levaduras en alimentos (NOM-111-SSA1-1994, 1994) (anexo 7)

Se esterilizaron todos los materiales a utilizar Autoclave (Prolab), se preparó el medio de cultivo agar papa dextrosa acidificado con el ácido tartárico, se realizarán las diluciones hasta 1×10^{-5} , utilizando las diluciones 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} por triplicado, después se inocularon las cajas Petri

con el agar papa dextrosa y se incubaron a 37 °C por 5 días. Después se cuantificaron en el Contador de colonias (Zelian). las unidades formadoras de colonias (UFC).

- b) Determinación de microorganismos Mesófilos aerobios (NOM-092-SSA1-1994)
(anexo 8)

Cada material que se utilizó se esterilizo, se prepararon los medios de cultivo agar cuenta estándar, se realizaron las diluciones de la 1×10^{-1} hasta la 1×10^{-5} , utilizando las últimas tres diluciones por triplicado, después se inocularon en las Cajas Petri la muestra y el agar cuenta estándar se incubaron a 35°C por 48 horas. Por último, se cuantificaron en el contador de colonias (Zelian). Las unidades formadoras de colonias (UFC).

- c) Determinación de microorganismos Coliformes totales y Fecales. (NOM-113-SSA1-1994,) (anexo 9)

Antes de todo se esterilizaron los materiales a utilizar, se preparó el medio de cultivo caldo verde bilis brillante se realizaron diluciones hasta 1×10^{-5} , utilizando las últimas tres diluciones por triplicado se inocularon en tubos con tapón de rosca y campana Durham cuidando que no queden burbujas, se incubaron a 35°C por 48 horas. Después se revisaron los tubos para ver si tienen gas para realizar la determinación de Salmonella y Shigella.

- d) Determinación Salmonella y Shigella (NOM-114-SSA1-1994) (anexo 10)

Se esterilizo en el Autoclave (prolab) todo el material a utilizar, se preparó el medio de cultivo Eosina Azul y Azul de Metileno, de los tubos con gas utilizados en la determinación de Coliformes totales y fecales, se tomó un asa y se sembraron por estría en la caja Petri, después se incubaron a 35°C durante 48 horas. Por último, se cuantificaron en el Contador de colonias (Zelian) las unidades formadoras de colonias (UFC).

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizará la prueba de T de student para dos tratamientos independientes, donde cada unidad experimental constará de 2.272kg. 80/20 y 70/30 de residuos de pescado, microorganismos fermentativos y melaza. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes:

Tratamiento residuos de pescados entero molido procedente de la fauna de acompañamiento + MO1 + melaza (T1).

Tratamiento residuos de pescados entero molido procedente de la fauna de acompañamiento + MO2 + melaza (T2)

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS RESIDUOS ORGÁNICOS EN EL MERCADO DEL NORTE

De acuerdo a la metodología se realizó la primera fase del proyecto fue la aplicación de encuestas a los locatarios del mercado del norte de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez Chiapas en las áreas de frutas, verduras, pescados y mariscos. De estas encuestas del anexo 10 se obtuvieron los siguientes resultados.

En la figura 5, se puede observar que el lugar donde existen mayores pérdidas de alimentos según los locatarios del área de frutas y verduras es en el transporte con un 73.3% mientras que en el área de pescados y mariscos es en la comercialización con un 75%, en otros estudios, mencionan que las pérdidas se encuentran en la producción con un 56 % por el mal manejo de obtención (Gómez, 2017).

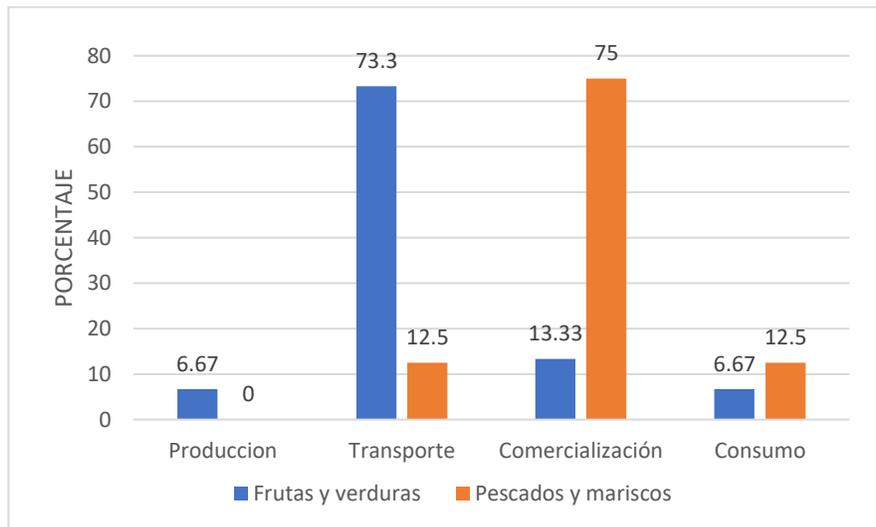


Figura 5 Frecuencia de la pérdida o merma de los alimentos (Creación propia)

En la figura 6 dando las opciones de residuos a los trabajadores del mercado, se obtuvo que el 66.67% en el área de frutas y verduras consideran que los residuos orgánicos que se pierden a mayor escala son las verduras y hortalizas mientras que el área de pescados y mariscos considera que solo un 31.25 % se pierde en verduras y hortalizas, dándole a los residuos de pescados y mariscos un mayor porcentaje con 43.75% siendo para ellos lo que más pérdidas causa.

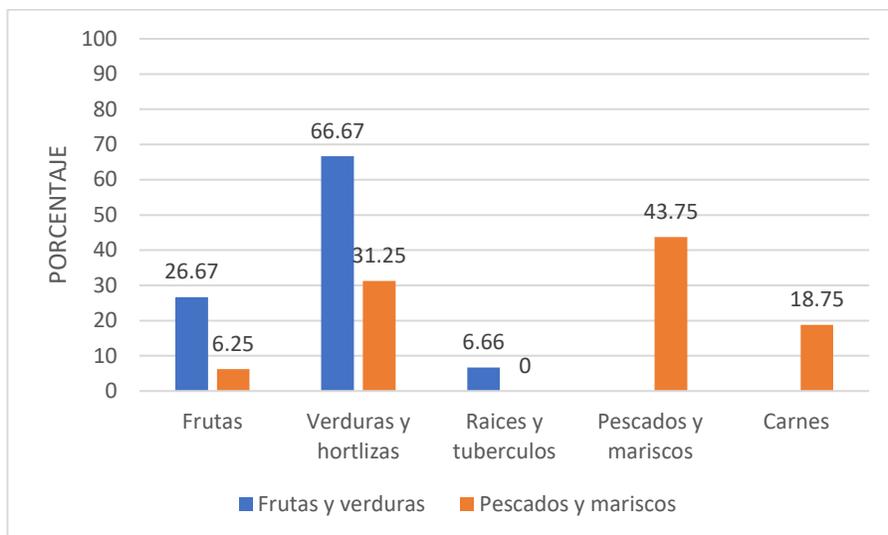


Figura 6 Tipos de alimentos que se pierden con mayor frecuencia (Creación propia)

En la figura 7, se obtuvo información de los conocimientos que cada locatario tiene sobre el destino que les dan a las pérdidas. Se evidencia que el 53.33% del área verduras y frutas regala la mayor parte de sus pérdidas mientras el 43% del área de pescados y mariscos lleva sus desperdicios a la basura y desechos, cabe destacar que en el caso de pescados y mariscos el consumo inapropiado de estos productos puede perjudicar a la salud del consumidor.

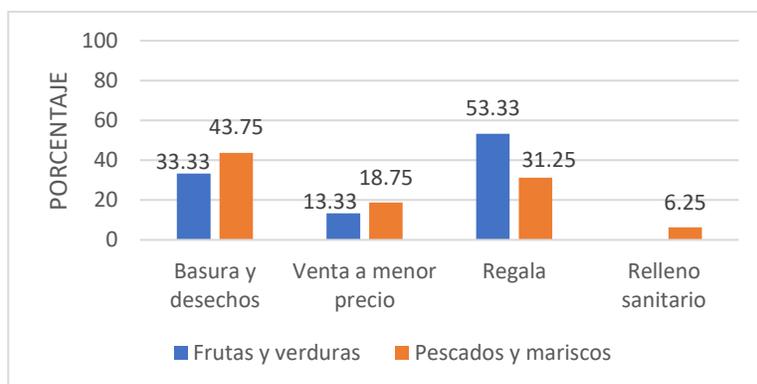


Figura 7 Destino de las pérdidas de alimentos en los locales (Creación propia)

Como se observa en la figura 8 el 53% del área de frutas y verduras considera que del 30 al 50 % del producto que comercializa son mermas o desperdicios, mientras que el 46 % de esta misma área estima que es del 10 al 30 %, al igual que el 56% del área de pescados y mariscos que figura que de desperdicio y merma solo son del 10 al 30 %.

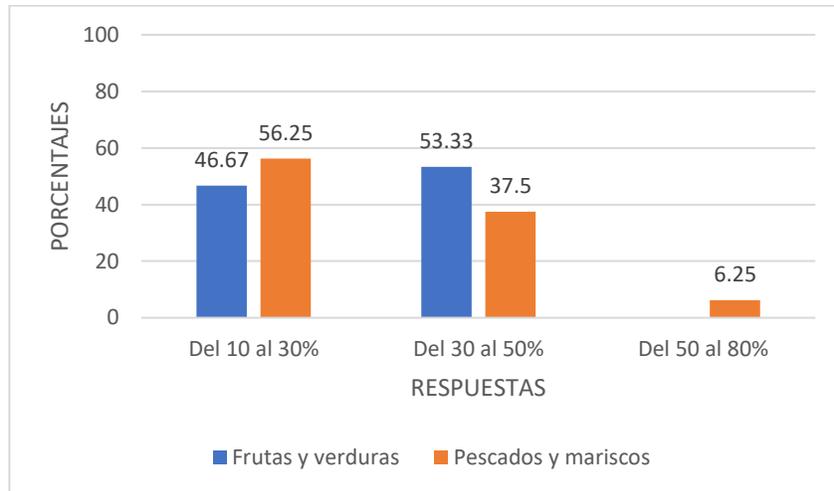


Figura 8 Cantidad de producto que se comercializa es desperdicio o merma (Creación propia)

En la figura 9 se observa que en el área de frutas y verduras el 33.33% de los locatarios saca pérdidas y mermas de cada 3 a 5 días, dándole el mayor porcentaje con 66.67% de cada 5 a 8 días, de las cual cabe destacar que esto sucede ya que las frutas y verduras son muy propensas a su descomposición si no tienen un buen cuidado, mientras que en el área de pescados y mariscos solo un 50% saca sus desperdicios cada 5 a 8 días, un 12.5% cada 15 días ya que estos productos son menos perecederos pues cuentan con un sistema de refrigeración que evita que se pierdan más rápido.

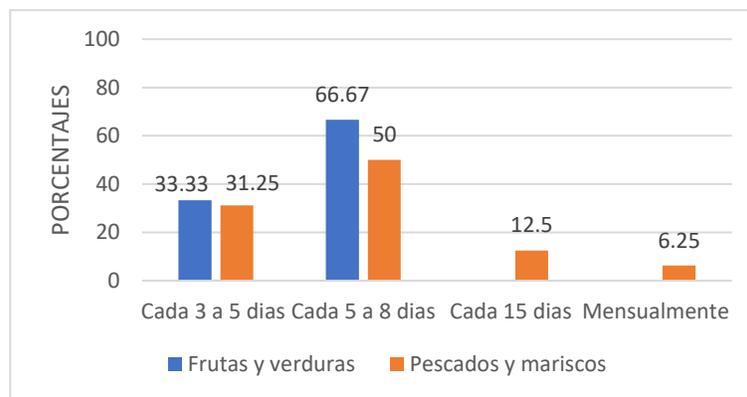


Figura 9 Frecuencia que en la que se retiran las perdidas o mermas de los productos que se comercializa en los locales (Creación propia)

Esta pregunta fue formulada con el fin de identificar la frecuencia con la que los locatarios reciben los contenedores de su producto en mal estado, en la figura 10 podemos identificar que el 46.67 % del área frutas y verduras regularmente reciben sus contenedores en mal estado a comparación del

área de pescados y mariscos que con un 50% afirman que nunca le llegan contenedores en mal estado.

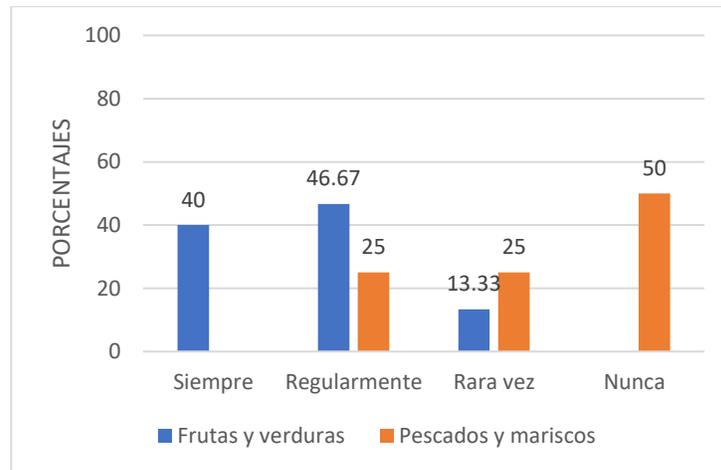


Figura 10 Frecuencia en la que se recibe el producto en contenedores (Rejas, costales, bolsas) en mal estado (Creación propia)

En la figura 11 se observa que el 60 % de los locatarios del área de frutas y verduras si realizan sus compras de acuerdo al volumen de ventas que tienen mientras que el 40% que regularmente toma en cuenta este aspecto, a comparación del área de pescados y marisco que con el 87.5% afirman que si toman en cuenta la compra de su producto acorde a las ventas que ellos tienen y con un porcentaje muy bajo del 12.5% regularmente lo hacen.

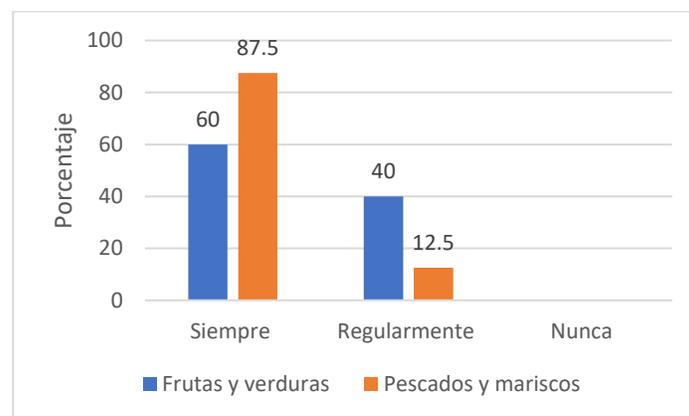


Figura 11 Volumen de compra acorde a las ventas (Creación propia)

En la figura 12 se observa que el 93.33% de los locatarios del área frutas y verduras compran sus productos en la central de abastos, mientras que el 93.75% en el área de pescados y mariscos son directamente de los productores pues se estima que la mayoría de estos locatarios son generadores

de su propio producto, dejando así al 6.25 % de esta área compren sus productos en la central de abastos (Ver anexo 11)

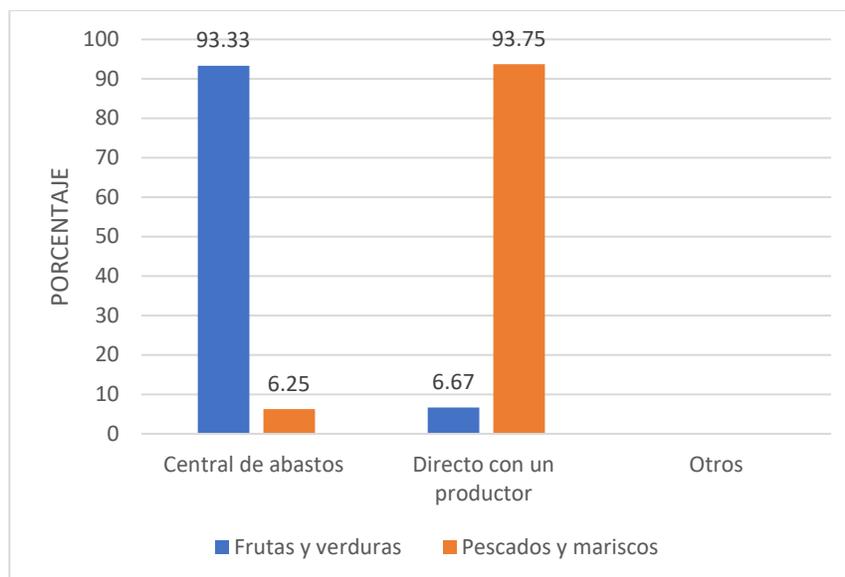


Figura 12 Obtención de los alimentos que se comercializan en los locales (Creación propia)

2. FORMULACIONES DEL ENSILADO BIOLÓGICO DE PESCADO

Se plantean formulaciones para el procesamiento de ensilados usando 5 insumos:

- Residuos generados del procesamiento de filete de tilapia; consta de aletas, espina dorsal, cola y tilapia de menor valor. (ver anexo 13)
- Melaza con $0.74 \pm 0.4\%$ de nitrógeno, Humedad $29.8 \pm 0.1\%$; Cenizas $11.3 \pm 0.1\%$, pH 5.45; 73.5 °Brix
- Residuos orgánicos extraídos del mercado del norte con un alto contenido de carbohidratos: papa, yuca, repollo, tomate, entre otros.
- Microorganismos: *Lactobacillus Casei*, *Lactobacillus Plantarum*
- Ácido acético para evitar la proliferación de hongos

Se realizaron 8 formulaciones con distintas bacterias y distinto porcentaje:

Tabla 3 Formulaciones para la elaboración un ensilado a base de residuos

TRATAMIENTOS	BACTERIAS	R0/MELAZA	HARINA DE PESCADO	ÁCIDO ACÉTICO
T1 8 días	MO1 3%	80%	20%	0.25%
		70%	30%	
	MO2 3%	80%	20%	
		70%	30%	
T2 21 días	MO1 3%	80%	20%	0.25%
		70%	30%	
	MO2 3%	80%	20%	
		70%	30%	

Se elaboro un ensilado biológico a nivel de laboratorio, a partir de residuos de pescado tilapia previamente triturados, carbohidratos e inculo de bacterias ácido láctico, logrando un ensilado estable.

Los Tratamientos T1 y T2, alcanzaron valores deseados de pH, olor y texturas deseados, es probable que la cantidad de melaza y una temperatura óptima de fermentación hayan influenciado. las cantidades de melaza empleadas es similar con los reportados de la (FAO, 2018), empleando proporciones de 20% y 25% respectivamente, obteniendo el valor inicial de pH de 6.94 y disminuyó hasta 4.53 a las 96 horas en las inclusiones de melaza de 20 y 25%. (Toledo 2016) establece que se requiere mínimo 10% para alcanzar una óptima de pH en la elaboración del ensilado biológico.

3. PH

(Bello 2017) comenta que el pH es uno de los índices de mayor importancia el cual debe ser controlado durante el proceso y almacenamiento del ensilado biológico de pescado, ya que refleja el desarrollo del proceso, la calidad de ensilado y manifiesta cualquier cambio que pueda afectar el producto. Anteriormente, (Fagbenro y Jauncey 2015) citaron que la estabilidad de los ensilados se

obtiene con valores de pH menores a 4.5. Dicho valor muestra la fase o fenómeno de acidificación por parte de los microorganismos. (González et al 2015), reporta que el valor de pH es un buen indicador del proceso de ensilado, valores de $\text{pH} \leq 4,5$ garantiza la estabilidad del ensilado. (COVENIN 2012), establece que las harinas de pescado no deben presentar pH mayores a 5.

Los valores iniciales de pH de los residuos de tilapia y del ensilado fueron 6.1 ± 0.1 y 6.4 ± 0.1 , respectivamente, valor cercano al reportado por (Albrecht y Salas 2013) para el inicio del proceso de ensilado (pH 6.47).

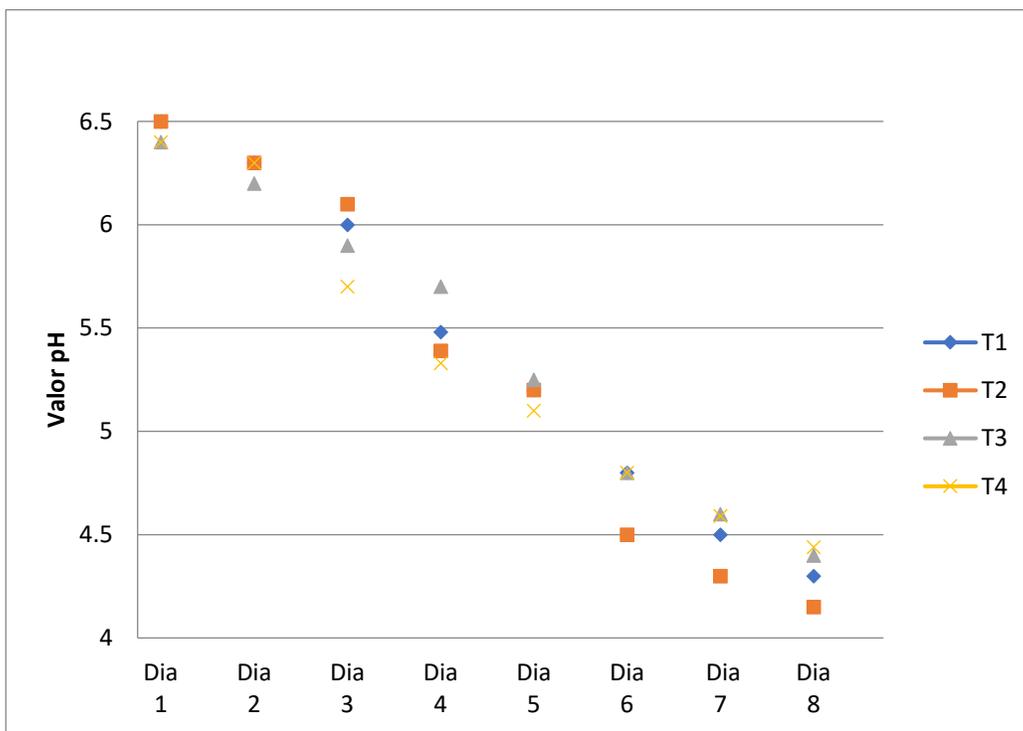


Figura 13 nfluencia de los tratamientos (T1, T2, T3 y T4), del tiempo sobre el valor (creación propia)

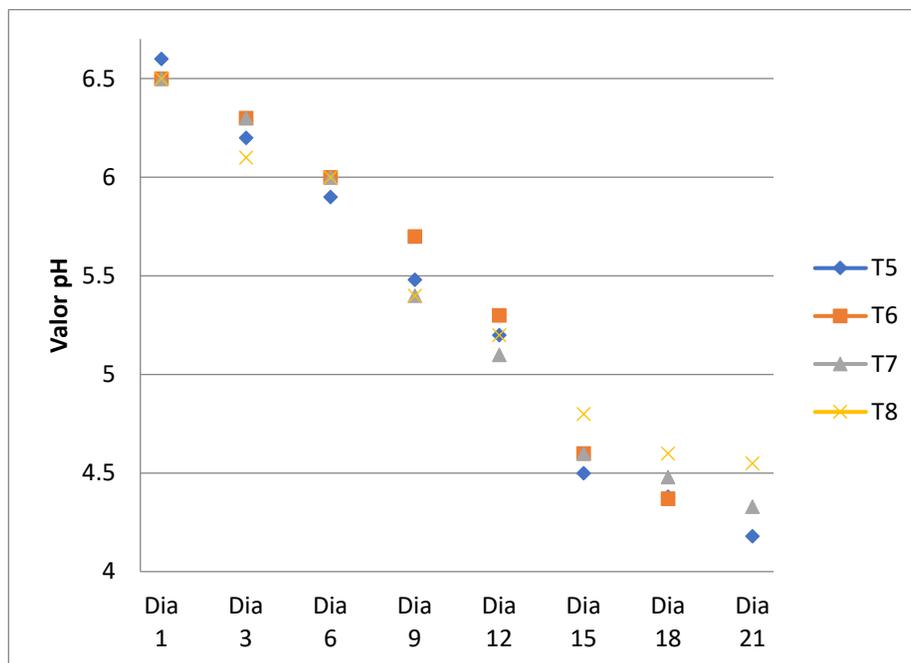


Figura 14 Influencia de los tratamientos (T5, T6, T7 y T8), del tiempo sobre el valor (creación propia)

Tabla 4 Lecturas de pH T1, T2, T3 Y T4

Dias	Tratamientos			
	T1	T2	T3	T4
Día 1	6.5	6.5	6.4	6.4
Día 2	6.3	6.3	6.2	6.3
Día 3	6.0	6.1	5.9	5.7
Día 4	5.48	5.39	5.70	5.33
Día 5	5.20	5.20	5.25	5.10
Día 6	4.80	4.50	4.80	4.80
Día 7	4.50	4.30	4.60	4.59
Día 8	4.30	4.15	4.40	4.44

Fuente: creación propia

Tabla 5 Lecturas de pH T5, T6, T7 Y T8

Días	Tratamientos			
	T5	T6	T7	T8
Día 1	6.6	6.5	6.5	6.5
Día 3	6.2	6.3	6.3	6.1
Día 6	5.9	6.0	6.0	6.0
Día 9	5.48	5.7	5.4	5.4
Día 12	5.20	5.30	5.10	5.20
Día 15	4.50	4.60	4.60	4.80
Día 18	4.38	4.37	4.48	4.60
Día 21	4.18	4,25	4.33	4.55

Fuente: creación propia

Los resultados presentados en las figuras 13 y 14 y en las tablas 6 y 7, muestran que los pH, donde se adicionaron diferentes cantidades de melaza, los valores alcanzaron ≤ 4.8 , ≤ 4.5 a los 6 días de fermentación a temperatura (días soleados fue 18 a 35°C) en Tuxtla, Gutiérrez. (Llanes, Toledo, Fernández y Lazo; 2017) citaron que la estabilidad y calidad de ensilado biológico con 10% de miel, a los días 6 de almacenamiento a 29-30°C observaron valores de pH entre 4.21 - 4.47 y con 15% de miel observaron pH de 4.12 – 4.41 a los días 10 de almacenamiento, el cual consiste en dejar en reposo el ensilado durante los días y las condiciones de temperatura ya antes mencionados.

4. COMPOSICIÓN PROXIMAL

En el análisis proximal para los contenidos de proteína cruda, humedad y cenizas no existe diferencias significativas en todos los tratamientos. En cambio, sí hubo diferencias significativas en los porcentajes de grasa cruda en T3 y T4, además el porcentaje de carbohidratos en T1 y T2 siendo estadísticamente iguales (Tabla 4). Los niveles de proteína cruda en todos los tratamientos variaron de 15% a 20%, los contenidos de cenizas fluctuaron entre 3.0 y 4.3%, en tanto los contenidos de humedad fluctuaron entre 2% y 3% ya que los tratamientos se realizaron en seco. (ver anexo 14)

Tabla 6 Composición proximal del alimento para tilapia a base de dos BAL de los 8 tratamientos.

Tratamientos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Componentes	8 días	8 días	8 días	8 días	21 días	21 días	21 días	21 días
Proteína cruda %	15 ± 0.21	16.79 ± 0.5	15.5±0.23	16.0±0.40	19.3 ± 0.21	18.90± 0.03	19.90± 0.22	20.00 ± 0.11
Grasa cruda%	4.5 ± 0.11	4.8 ± 0.23	4.2±0.22	4.4±0.66	5.2 ±0.30	5.1±0.21	5.7±0.19	5.5 ± 0.21
Carbohidrato %	10.3 ± 0.3	10.3 ±0.3	10.8±0.20	11.09± 0.21	12.0 ±0.29	12.5±0.30	12.90± 0.18	13.2 ±0.6
Humedad %	2.3 ±0.1	2.0 ± 0.12	2.6±0.33	2.3±0.11	2.8 ±0.12	3.0±0.20	2.8±0.25	2.9 ±0.1
Ceniza %	3.24 ± 0.21	3.8 ±0.33	3.5±0.50	3.3±0.21	3.9 ±0.39	4.0±0.22	4.30±0.20	4.2 ±0.21
Fibra %	8.90 ± 0.04	9.50 ± 0.23	8.98 ± 0.09	9.09 ± 0.39	11.40 ± 0.21	10.90 ± 0.26	12.09 ± 0.12	13.09 ± 0.12

Nota: T1= 70% RO/Melaza, 30% Harina de pescado, 3% MO1, 0.025 Ácido Acético (8 días)

T2= 80% RO/Melaza, 20% Harina de pescado, 3%MO2, 0.025 Ácido Acético (8 días)

T3= 80% RO/Melaza, 20% Harina de pescado, 3%MO1, 0.025 Ácido Acético (8 días)

T4= 70% RO/Melaza, 30% Harina de pescado, 3%MO2, 0.025 Ácido Acético (8 días)

T5= 70% RO/Melaza, 30% Harina de pescado, 3%MO1, 0.025 Ácido Acético (21 días)

T6= 80% RO/Melaza, 20% Harina de pescado, 3%MO2, 0.025 Ácido Acético (21 días)

T7= 80% RO/Melaza, 20% Harina de pescado, 3%MO1, 0.025 Ácido Acético (21 días)

T8= 70% RO/Melaza, 30% Harina de pescado, 3%MO2, 0.025 Ácido Acético (21 días)

Fuente: Laboratorio de tecnología de análisis 2

Por otra parte, en el análisis de composición química del alimento para tilapia a base de residuos orgánicos y utilizando Bacterias Acido Lácticas mostrado en la tabla 4, evidenció que el nivel de proteína fluctuó entre 15 y 16% en los primero 8 días y en 18 y 20% en los 21 días de fermentación, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Similares resultados fueron

reportados por (Alayo & Rojas 2014), para el ensilado de vísceras de *A. purpuratus* (17% en los primero 8 días y 25% en los 21 días), con 10 % de melaza (v/p) y 15 % de yogurt natural (v/p). En tanto (Jiménez & Prada 2014) también en el ensilado biológico de los desechos blandos de *A. purpuratus*, reportan porcentajes inferiores a los encontrados en este ensayo (12% en los primeros días y 16% en los 21 días), pero con la diferencia de que estos autores utilizaron 2 % de melaza y 1 % de yogurt. Por el contrario, (Jamanca & Rodríguez 2013) en el ensilado de vísceras de *A. purpuratus* con 10 % de melaza y 5 % de *Lactobacillus bulgaris* reportaron un 30% de proteína en 21 días. (Gama 2013), reporta un 28% de proteína cruda en 21 días en los ensilados de subproductos de *Argopecten ventricosus* “almeja”.

Estas diferencias, mencionadas en los niveles de proteína de los ensilados biológicos de concha de abanico, se debe a lo indicado por (Borguesi et al 2015), quienes afirman que la composición proximal varía de una especie a otra y hasta dentro de la misma especie, dependiendo de la época del año, tipo de alimentación, grado de maduración gonadal y sexo. Del mismo modo, (Taylor et al. 2016), comparte que la composición química de los bivalvos está relacionada con el ciclo reproductivo, cantidad de alimento en el ambiente y diferentes etapas como: desarrollo, maduración y desove durante las diferentes estaciones del año.

5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los valores microbiológicos del alimento se presentan en la Tabla 5. En general para los tratamientos T1, T2, T3 y T4, los parámetros mostrados nos indican como resultado la ausencia de microorganismos (*E. coli*, Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *Salmonella* sp) causantes de enfermedades. Por el contrario, en el T5, T6, T7 y T8 se encontró la presencia de coliformes totales (<102 UFC/g) y coliformes fecales (<10 UFC/g).

Tabla 7 Análisis microbiológicos (base seca) en los alimentos para tilapia a base de orgánicos.

TRATAMIENTOS	<i>E. coli</i> (NMP/g)	<i>Coliformes Totales</i> (UFC/g)	<i>Coliformes Fecales</i> (UFC/g)	<i>Salmonella</i> (25g)
T1	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
T2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
T3	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
T4	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
T5	Ausente	<10 (UFC/g)	<10 (UFC/g)	Ausente
T6	Ausente	<10 (UFC/g)	<10 (UFC/g)	Ausente
T7	Ausente	<10 (UFC/g)	<10 (UFC/g)	Ausente
T8	Ausente	<10 (UFC/g)	<10 (UFC/g)	Ausente

Fuente: Laboratorio de tecnología de análisis 2

Los valores microbiológicos encontrados en los alimentos para T1, T2, T3 Y T4 nos indican ausencia de microorganismos causantes de enfermedades, por lo contrario, en los tratamientos T5, T6, T7 Y T8 se encontraron coliformes totales y fecales de <10 UFC/g, <10 UFC/g, y <10 UFG/g (para los cuatro) y ausencia de *Salmonella* sp. Estos resultados se encuentran por debajo de los límites permisibles para la alimentación animal (Bello, 2014). En tanto Huss (2017), indica que los valores establecidos para subproductos marinos tienen un límite de 5×10 UFC/g de coliformes y la ausencia de *Salmonella* sp en 25 g de muestra.

En conclusión, estos resultados reflejan buena calidad nutricional y microbiológica constituyéndose estos ensilados de residuos en una materia prima promisoría para ser aprovechada en la elaboración de dietas para los peces y camarones ya que cumple con los requerimientos de proteínas y ácidos grasos presentes como el omega 3 y 6 ya que en la dieta estos ácidos grasos son escasos y de alto costo.

CONCLUSIONES

La producción de ensilado biológico de pescado (EBP) resulta ser una tecnología simple, un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) con potencial probiótico, es una adecuada fuente de proteínas; que presenta similitud al de la materia prima utilizada; y un medio propicio de incluir probióticos en la dieta de Tilapias. Aunque en la práctica la composición del ensilado va a depender de la fuente de carbohidratos y principalmente del pescado (especie, época de captura y tipo de residuos) estos son factores a los que también responde la composición del pH.

Los ensilados biológicos a base de harina de pescado y residuos orgánicos presentaron características organolépticas (olor, color, y consistencia) iguales, y sin ningún indicativo de descomposición.

La mejor formulación obtenido fue la del T2 (residuos de pescado/melaza/ BAL), debido a que mantuvo el pH más bajo, el índice de acidez estable, y un olor agradable.

RECOMENDACIONES

Debido a la alta humedad del ensilado biológico de productos pesqueros infrautilizadas, se sugiere diseñar un equipo evaporador, optimizando su eficiencia, para la remoción del agua o humedad de tal forma se incrementará el valor nutricional y económico del producto.

De la tecnología de elaboración de ensilado, se sugiere la obtención de dos subproductos, tales como aceite y soluble de proteico de alta calidad nutricional y emplearla en la alimentación animal.

Se recomienda ubicar los lugares que tienen temperatura cercana a 26 °C en el día a temperatura ambiente para facilitar y acelerar el proceso de fermentación.

Se plantea mayor control de la temperatura de exposición de los recipientes, de tal manera que en los primeros días de fermentación se expongan las muestras el mayor tiempo posible a temperatura cercanas a 26 °C.

Se invita a llevar a cabo el análisis in vivo del alimento para ver la reacción de las tilapias y monitorear el tiempo de engorde.

GLOSARIO

Bacterias ácido lácticas: Las bacterias del ácido láctico, bacterias ácido lácticas o cultivos lácticos comprenden un caldo de bacterias fermentadoras y productoras de ácido láctico, función por la que son empleadas en la industria para darle ciertas cualidades a los alimentos y protegerlos contra la acción de otros organismos dañinos.

Ensilado: El ensilado es un proceso de conservación del forraje basado en una fermentación láctica del pasto que produce ácido láctico y una disminución del pH por debajo de 5.

Ensilado biológico de pescado: El ensilado microbiano o biológico es aquel que se le agrega al pescado triturado una fuente de carbono y un microorganismo, capaz de utilizar el sustrato y producir ácido láctico

Ensilado químico de pescado: Es aquel que está elaborado por la adición de ácidos minerales y/o orgánicos al pescado.

Fermentación: Proceso bioquímico por el que una sustancia orgánica se transforma en otra, generalmente más simple, por la acción de un fermento.

Forraje: Se denomina así a las hierbas, pastos verdes o secos y, por extensión, diversas plantas u órganos vegetales que se emplean para alimentar a los animales.

Inoculo: La porción de gérmenes, generalmente, patógenos, que, con un vehículo cualquiera, se transfieren a un organismo o a un sustrato para inocularlos. En biología, la suspensión de microorganismo que se transfiere a un ser vivo o a un medio de cultivo a través de la inoculación.

Silo: Lugar subterráneo y seco en donde se guarda el trigo u otros granos, semillas o forrajes. Modernamente se construyen depósitos semejantes sobre el terreno.

Taxonomía: Ciencia que trata de los principios, métodos y fines de la clasificación, generalmente científica; se aplica, en especial, dentro de la biología para la ordenación jerarquizada y sistemática de los grupos de animales y de vegetales.

REFERENCIAS DOCUMENTALES

A., Gilber. 2015. Ensilaje de pescado una revisión CRC. Venezuela: Aguilar, 2015.

Acuacultura, Secretaria de Pesca y. 2017. [En línea] 02 de Marzo de 2017. [15 de Octubre de 2018.]<http://fpchiapas.gob.mx/transparencia/combo/ApoyoExterno.php?trim=1&anio=2016&idorg=42>.

Al., Sirait. 2014. Efecto de la concentración de glucosa inicial y el nivel de inoculación de bacterias ácido lácticas en ensilaje de desechos de camarón. España : Dairy Journal , 2014.

Arruda, Ferraz de. 2016. Uso de desechos de pescado como ensilaje. Colombia : Braziliam archives, 2016. ISSN 1516-8913.

Avila, Ernesto, y, Monica V. y s., Moises. 2015. Fuentes proteicas y energía para la alimentación de peces. Palo, Alto Mexico, D.F.: s.n., 2015, Vol. 2.

Balsinde., R. M., Lleana, F. C. y Y, Galindo L. J. 2015. Inclusión de ensilado biológico de pescado como alternativa en la elaboración de alimento extruido para el camarón de cultivo. Cuba : s.n., 2015. ISSN.

Benítez, Raúl. 2016. [En línea] Junio de 2016. [Citado el: 23 de Febrero de 2018.] <http://www.fao.org/americas/noticias/ver/es/c/239393/>.

Beverage y Macandrew, M. Y. 2013. Tilapias biología y explotación pescado y pesca. 2013, Vol. 2, 90-98.

Bidwell, R. G.S. 2014. Fisiología vegetal. México: AGT EDITOR, S.A., 2014.

Botello, Luis A. 2015. Utilización de diferentes ensilados químicos de pescado en la alimentación de alevín del pez gato africano. Habana, Cuba: Alemania, 2015. Vol. II, 18-19.

Cabos, Mario A. Peralta. 2011. SAGARPA. [En línea] 12 de Octubre de 2011. [Citado el: 29 de Octubre de 2017.]

<http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasCOUSSA/Silos%20Forrajeros.pdf>.

Claudia Marcela Agudelo y Toro, Rodrigo Ortega. 2017. ESTANDARIZACIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE ENSILADO. Cauca, Colombia : s.n., 2017.

FAO. 2016. [En línea] 21 de Abril de 2016. [Citado el: 2 de Junio de 2017.]

<http://www.gob.mx/sagarpa/articulos/residuos-pesqueros-recursos-aprovechables>.

—. **2014.** Nutrición y alimentación de los peces. [En línea] Agosto de 2014. [Citado el: 21 de Mayo de 2017.]

http://www.fao.org/tempref/FI/CDrom/FAO_Training/FAO_Training/General/x6709s/x6709s10.htm.

—. **2014.** Comité de seguridad alimentaria mundial. [En línea] 02 de Marzo de 2014. [Citado el: 29 de Julio de 2016.] <http://www.fao.org/3/a-av037s.pdf>.

—. **2016.** El pescado fresco: su calidad y cambios en su calidad. [En línea] 22 de Abril de 2016. [Citado el: 14 de agosto de 2017.] <http://www.fao.org/docrep/v7180s/v7180s05.htm...>

—. **2016.** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la agricultura. [En línea] 02 de Octubre de 2016. [Citado el: 01 de Abril de 2018.] <http://www.fao.org/fishery/affris/perfiles-de-las-especies/nile-tilapia/metodos-de-%20suministro-de-alimentos/es/>.

Gómez, A. F. (20 de diciembre de 2017). El economista. Recuperado el 25 de Febrero de 2019, de <https://www.economista.com.mx/opinion/Perdida-y-desperdicio-de-alimentos-II-20171220-0009.html>

Gómez, Angélica Feroso. 2017. El economista. [En línea] 20 de diciembre de 2017. [Citado el: 25 de Febrero de 2019.] <https://www.economista.com.mx/opinion/Perdida-y-desperdicio-de-alimentos-II-20161220-0009.html>.

Iglesias, José E. Llanes, y, José Toledo Pérez y Vega, José M. Lazo de la. 2016. Producción de alimento húmedo a partir de ensilados de pescado para alimentación de tilapia roja. Zaragoza, España: s.n., 2016. ISSN: 1578-4541.

Kubitza, F. 2013. Nutrición y sanidad en el cultivo de tilapia. Brasil: s.n., 2013.

L., Botello A. 2015. Utilización de diferentes ensilados químicos de pescado en la alimentación de alevines del pez gato africano. Habana, Cuba: s.n., 2015.

- Macias, Juan Carlos Peñafiel. 2015.** Ensilaje en alimentación de terneras girolando mestizo de la etapa de crecimiento. La Mana - Ecuador : Almadia , 2015.
- Malajovich, M. A. 2014.** Biotecnología: enseñanza y divulgación. [En línea] 14 de octubre de 2014. [Citado el: 21 de marzo de 2019] <https://bteduc.com>
- Mariño, Camilo Ernesto Pardo y Olarte, Hetmul Samuel Parra. 2013. Ensilajes.** Santa Fe de Bogota : monte negro, 2013.
- Matas, Elvira. 2015.** El pH en la conservación de alimentos. [En línea] 12 de Octubre de 2015. [Citado el: 01 de Octubre de 2017.] <http://www.aulachocovic.mx..>
- Mathews, Wenge y. 2017.** Producción de ácido láctico a partir de lactosa por lactobacillus plantarum. Brazil : Biochemical Engineering journal, 2017.
- Meyer, D. E. 2016.** Introducción a la acuicultura. México: Zambrano, 2016.
- Ortiz, A. L. 2017.** Inclusión de ensilado de pescado como fuente de proteína y de probiótico en la dieta del. La Paz, Baja California Sur, México.
- Peñagaricano, J. ARIAS, y y LLANEZA., W. 2013.** Ensilaje, Manejo y Utilización de las Reservas Forrajera. Sur, Montevideo- Uruguay : Alfaguara, 2013.
- Perez, Jose Toledo y Iglesias, Jose Llanes. 2016.** Revista Electronica de Veterinaria . [En línea] 23 de Julio de 2016. [Citado el: 05 de Marzo de 2017.] <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090727.pdf>.
- Poulter, R. G. 2014.** Ensilaje de pescado para alimentación animal. Cuba : Alba, 2014.
- Pullin, Y, R. H. y R. 2015.** LA biología y cultura de la tilapia. [aut. libro] Actas de conferencia internacional sobre biología y cultura de tilapias. Mexico : s.n., 2015.
- Ramirez, Jose Carmen Ramirez, y otros. 2015.** Bacterias Lácticas: importancia en alimentos y sus efectos en la salud . Nayarit, México: s.n., 2015.
- SAGARPA. 2016.** [En línea] 09 de Octubre de 2016. [Citado el: 02 de Diciembre de 2017.] <http://www.gob.mx/sagarpa/articulos/residuos-pesqueros-recursos-aprovechables>.
- . 2017. Desarrollo de la acuicultura. Ciudad de México : s.n., 2017. ISBN/ISSN.

—. 2016. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [En línea] 24 de Enero de 2016. [Citado el: 09 de Noviembre de 2017.] <http://www.gob.mx/sagarpa/articulos/residuos-pesqueros-recursos-aprovechables>.

Sánchez, Cristina Chávez. 2014. [En línea] 21 de Julio de 2014. [Citado el: 2 de Febrero de 2018.] <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB487S/AB487S10.htm>.

Sastoque, F. J., Y, M. V. Aranda y Cabezas, F. J. 2013. [En línea] 03 de Diciembre de 2013. [Citado el: 01 de Noviembre de 2017.]

<http://www.gbcbiotech.com/genomicaypesca/documentos/peces/tilapia/Tilapia%202020-Prospectiva%20sistema-producto%20nacional%20de%20tilapia%20en%20Mexico.pdf>.

W.Popma, B. y T. Tilapia. Manual de producción acuícola. México: s.n.

Zambrano, Dagoberto. 2015. Producción pesquera. Cuarto poder. 2015, Vol. IV, 15.

ANEXOS

ANEXO 1.

NORMA MEXICANA NMX-AA-22-1985.

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Mexicana establece la selección y el método para la cuantificación de subproductos contenidos en los Residuos Sólidos Municipales.

APARATOS Y EQUIPOS

- Báscula de piso capacidad de 200 Kg
- Balanza granataria con capacidad para 20 Kg y sensibilidad de 1 g
- Criba M 2.00 según Norma Mexicana NMX-B-231
- Mascarillas
- Recogedores
- Overoles
- Escobas
- Botas de hule
- Guantes de carnaza
- Treinta bolsas de polietileno de 1.10 m x 0.80 m y calibre mínimo de 200
- Papelería y varios

El equipo antes descrito está en función del número de participantes en la determinación que marca esta Norma; se requiere para ello, cuando menos de dos personas.

SELECCIÓN

Obtención de la Muestra.

La muestra se extrae como se establece en la Norma Mexicana NMX-AA-15 y se toman como mínimo 50 Kg, que procede de las áreas del primer cuarteo que no fueron eliminadas.

Procedimiento.

Con la muestra ya obtenida como se establece en 5.1, se seleccionan los subproductos depositándolos en bolsas de polietileno hasta agotar, de acuerdo con la siguiente clasificación:

- Algodón

- Cartón
- Cuero
- Residuo fino (todo material que pase la criba M 2.00)
- Envase de cartón encerado
- Fibra dura vegetal (esclerénquima)
- Fibras sintéticas
- Hueso
- Hule
- Lata
- Loza y cerámica
- Madera
- Material de construcción
- Material ferroso
- Material no ferroso
- Papel
- Pañal desechable
- Plástico rígido y de película
- Poliuretano
- Poliestireno expandido
- Residuos alimenticios (Véase observaciones)
- Residuos de jardinería
- Trapo
- Vidrio de color
- Vidrio transparente
- Otros

CUANTIFICACIÓN

Los subproductos ya clasificados se pesan por separado en la balanza granataria y se anota el resultado en la hoja de registro.

El porcentaje en peso de cada uno de los subproductos se calcula con la siguiente expresión:

$$\mathbf{G_1PS = \frac{\text{Peso del subproducto}}{\text{Peso total}} \times 100 \mathbf{G}}$$

En donde:

PS = Porcentaje del subproducto considerado.

G₁ = Peso del subproducto considerado, en Kg; descontando el peso de la bolsa empleada.

G = Peso total de la muestra (mínimo 50 Kg).

El resultado obtenido al sumar los diferentes porcentajes, debe ser como mínimo el 98% del peso total de la muestra (G). En caso contrario, se debe repetir la determinación.

REPORTE

Los resultados se anotan, como se indica en la hoja de registro (véase apéndice).

OBSERVACIONES

Los cambios en peso durante la determinación, se deben principalmente a la liberación o admisión de humedad.

Se recomienda efectuar la determinación en un lugar cerrado y bajo techo.

Dentro de los residuos sólidos alimenticios se deben incluir todos aquellos residuos de fácil degradación, tales como: vísceras, apéndices o cadáveres de animales.

Apéndice hoja de registro de campo

SELECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SUBPRODUCTOS

Localidad__Municipio_____Estado_____ Fechas y hora de análisis_____Peso de la Muestra_____Kg Estrato socioeconómico_____Tara de las bolsas_____Kg
Responsable del análisis_____Dependencia o Institución _____

No.	SUBPRODUCTOS	PESO EN Kg	% EN PESO	OBSERVACIONES
1	Algodón			
2	Cartón			
3	Cuero			
4	Residuo fino que pase la criba			

	M 200			
5	Envase en cartón encerado			
6	Fibra dura vegetal (esclerénquima)			
7	Fibras sintéticas			
8	Hueso			
9	Hule			
10	Lata			
11	Loza y cerámica			
12	Madera			
13	Material de construcción			
14	Material ferroso			
15	Material no-ferroso			
16	Papel			
17	Pañal desechable			
18	Plástico de película			
19	Plástico rígido			
20	Poliuretano			
21	Poliestireno expandido			
22	Residuos Alimenticios			
23	Residuos de jardinería			
24	Trapo			
25	Vidrio de color			
26	Vidrio transparente			
27	Otros			

ANEXO 2.

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

MATERIAL Y EQUIPO

- Cuchillo, bisturí o tijeras
- Termómetro
- Crisoles
- Pinza para crisol
- Cajas Petri/capsula de porcelana
- Balanza analítica
- Desecador
- Parrilla eléctrica
- Mufla eléctrica con indicador de temperatura
- Estufa de secado con control de temperatura

PROCEDIMIENTO:

1. Se colocan las capsulas de porcelana en la capsula de secado a una temperatura de 50°C, hasta obtener el peso constante (Po).

Para pesar en la balanza analítica.

2. Distribuir, aproximadamente 5 g de muestra (Pm) fina en la capsula de porcelana a peso constante y extender el producto para que ocupe la mayor superficie posible.
3. Introducir la capsula de porcelana con la muestra (sin tocarla con las manos) en la estufa de secado y evaporar el agua a 50 – 65 °C durante 24 a 36 h (hasta peso constante); también se puede evaporar el agua a 100°C de 2 a 5 h.
4. Retirar la capsula de porcelana de la estufa, ponerla en el desecador, esperar a que se enfríe (aprox. 15 min) y pesar la charola con la muestra seca (P1).
5. Retire la tapa de caja Petri con la muestra deshidratada de la estufa, colocarla en el desecador, espere a que se enfríe la muestra (2 a 3 minutos) y pese (P1).
6. Colocar el contenido de humedad a partir de la pérdida de peso de la muestra.

Cálculos:

$$\%Hum = \frac{PM - (P1 - P0)}{PM} * 100$$

$$\% \text{ MUESTRA} - \text{SECA} = 100 - \% \text{ HUM}$$

ANEXO 3

DETERMINACIÓN DE CENIZAS

PROCEDIMIENTO

1. Limpie bien tres crisoles y rotule (número de identificación) en la base con lápiz
2. Ponerlos a peso constante en la estufa de secado a una temperatura entre 50 a 60 °C
3. Saque los crisoles cuidadosamente de la estufa con la ayuda de la pinza para crisol (no tocarlos) y póngalos en la estufa de secado por 10 a 15 minutos, sacar de la estufa y colocarlos en el desecador (5 a 10 minutos)
4. Después de enfriar en el desecador los crisoles deberán se pesados (Po)
5. Colocar de 5 g de muestra molida (Pm) en cada crisol.
6. Carbonizar sobre la parrilla de calentamiento hasta que deje de liberar humo, cuidando que no se encendió, pues puede haber pérdida de peso por “proyecciones de la muestra”
7. Tomar la muestra carbonizada utilizando la pinza para cada crisol e incinerar en la mufla a una temperatura entre 550 a 600 °C
8. Mantenga la temperatura de la mufla hasta que las cenizas adquieran un color blanco a gris-blanco (aproximadamente de 2 a 3 h, en el caso de algunos cereales el tiempo puede ser mayor)
9. Retirar los crisoles de la mufla con la pinza con mucho cuidado, colocarlos en la estufa de secado (10 a 15 min), sacar y colocar en el desecador hasta que enfrié (5 a 10 minutos); pese los crisoles (pf), son tocarlos con las manos.

Cálculos:

$$\%Ces(BS) = \frac{(PF - PO)}{PM} * 100$$

ANEXO 4

EXTRACCIÓN DE GRASA CRUDA

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVO

- Matraz Bola con fondo plano y cuello esmerilado de 250 ml.
- Equipo de extracción Soxhler (solicitar únicamente las trampas y refrigerante si fuera necesario)
- Pinza para crisol
- Papel filtro o cartuchos de celulosa
- Desecador
- Perlas de vidrio
- Algodón
- Vaso de precipitado de 250 ml
- Embudo de cuello corto largo
- Reactivo: hexano
- Material biológico: el que previamente fue secado (utilizado en la practica 1).

PROCEDIMIENTO:

Preparativo A. se recomienda realizar este paso un día antes de la practica

1. Colocar 2 o 3 matraces balón con boquilla esmerilada en la estufa de secado a una temperatura entre 50 a 60 °C, hasta llegar a peso constante (Po), aproximadamente 6 a 8 h.
2. Pesar 5g de muestra (Pm), dentro del cartucho de celulosa, teniendo cuidado de no tirar la muestra dentro de la balanza analítica. Colocar un tapón de algodón en la boquilla del cartucho para impedir que se tire muestra,
3. Depositar el cartucho con su contenido (muestra seca) en la cámara o trampa del extractor.
4. Añadir de 2 a 5 sifonadas de hexano la cámara o trampa del extractor.
5. Embonar el refrigerante y cerciorarse que las mangueras de agua estén conectadas correctamente, y así mismo que no haya fugas.
6. Abrir la llave de agua verificando que el agua fluya por el refrigerante y encender la fuente de calor.

7. Extraer por 12 a 16 h la grasa de la muestra (según indicación del maestro, cuidar que haya paso de agua y hexano suficiente), dependiendo del contenido de grasa de la muestra.

Después de la extracción

8. Retirar el cartucho con la muestra sin grasa de la trampa del extractor y colocar en la estufa de secado hasta evaporar el hexano. Guardar para ocupar la muestra desengrasada en las posteriores pruebas
9. Destilar el hexano sucio. Para llevar a cabo este paso para el equipo de extracción no deberá se desmontado, solicitar ayuda al docente para indicaciones.
10. Colocar en la estufa de secado los matraces balón con muestra de grasa hasta obtener el peso constante, evaporado el solvente. Pesar (Pf).

Calculo:

$$\%ExtractoEtereo(BS) = \frac{(PF - P0)}{PM} * 10$$

ANEXO 5

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA CRUDA

MATERIAL Y EQUIPO

Parte A. destión de la muestra

- Campana de extracción
- Balanza analítica
- Digestor Micro-Kjeldahl
- Matraz Micro-kjeldahl de 30 ml
- Pipetas graduadas
- Espátulas
- Reactivos: Ácido sulfúrico concentrado libre de nitrógeno, catalizador micro-kjeldahl, papel arroz.

Parte B. Destilación

Equipo de destilación: Matraz de destilación, refrigerante, pinzas de 3 dedos, soporte universal, mechero, tripie, malla de asbesto y mangueras, probeta de 100 ml, pipetas graduadas de 10 ml.

Reactivos: Solución de Sosa-Tiosulfato, Ácido Bórico al 5%, agua destilada, indicador micro-kjendahl.

Parte C. Titulación

- Soporte universal
- Pinza para bureta
- Bureta de 25 ml
- Matraz Erlenmeyer de 100 ml
- Pipeta volumétrica de 10 ml

Parte D. Valoración del ácido clorhídrico

- Pipeta volumétrica de 10 ml
- Matraz Erlenmeyer de 100ml

- Espátula
- Equipo de titulación preparaciones reactivos

REACTIVOS:

A. Catalizador Micro Kjeldahl: Mezclar 1.9 g de K_2SO_4 (Sulfato de potasio libre de nitrógeno) 40 mg de HgO Oxido de Mercurio rojo.

B. Indicador Micro Kjeldahl: solución roja de metilo- verde bromocresol

B.1 Solución alcohólica de rojo de metilo al 0.2 % (p/v)

B.2 Solución alcohólica de verde bromocresol al 0.2% (p/v)

Solución B.1

Pesar 0.02 g de rojo de metilo y disolverlo en alcohol etílico de 9% de pureza. Aforar a 10 ml.
Con etanol

Solución B.2

- Pesar 0.1 g de verde bromocresol disolverlo en alcohol etílico de 95% de pureza. Aforar con 50 ml de etanol.
- Mezclar las soluciones B.1 y B.2, guardar en goteros de color ámbar.

Solución C Solución sosa-trisulfuro de sodio:

Disolver 60g de hidróxido de sodio (sosa) y 5 g de tiosulfato ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) en agua, y disolver en agua destilada. Aforar a 100ml con agua. Precaución reacción exotérmica.

D. Ácido Bórico al 5

E. Solución de HCl al 0.05 N o 0.1 N

Ml de ácido clorhídrico= (PE) (N) (V) (densidad)

Corregido por la pureza del ácido; ml de ácido clorhídrico $A * 100 /$ pureza real del reactivo

PROCEDIMIENTO:

Nota 1: todo el procedimiento se hará por duplicado o triplicado

Nota 2: deberá considerarse u blanco desde el inicio del procedimiento

Parte A.

1. Pesar entre 50 y 100 mg de muestra seca y libre de agua
2. Adicionar la muestra a un matraz Micro-Kjeldahl de 30 ml, lavado perfectamente con agua destilada
3. Agregar 2 g de catalizador Mircro-Kjeldahl
4. Agregar 2 ml de ácido sulfúrico
5. Adicionar perlas de vidrio y colocar en el digestor de 1 a 1.5 h (cuando la muestra se vuelve transparente, calentar 1 hora más)

Parte B. Destilación de la muestra

1. Transferir la solución digerida al aparato de destilación, esto es al matraz de destilación previamente lavado con agua destilada, lavar el matraz micro-kjedahl de 5 a 6 veces con proporciones de agua (con una pipeta de 10 ml, agregar 10 ml, de la solución Sosa-tiosulfato.
2. Colocar una manguera corta a la salida del refrigerante
3. Depositar 5 ml de ácido bórico al 5% en una probeta de 100 ml y adicionar 3 gotas de indicador micro-kejdahl, colocar la probeta debajo de la salida del refrigerante procurando que la manguera conectada previamente quede sumergida en el acido
4. Comenzar la destilación
5. Colectar entre 50 a 60 ml de destilado

Parte C. titulación

1. Titular una alícuota de 50 ml del destilado con HCl 0.05 n o 0.1 n hasta la aparición de un color violeta.

Parte D. Valoración del HCl.

Disolver aproximadamente 50 mg (0.05g) de Boras (tetra borato de sodio) deshidratado en 50 ml de agua destilada, agregar de 2 a 5 gotas del indicador micro-kejdahl, titular con el HCl cuya concentración exacta se desconoce.

N ácido= mg de horas / (ml de HCl ganado) (190.69)

Parte E. cálculos:

$$\% \text{ N Total} = \frac{14.007(\text{ml de HCl muestra} - \text{ml HCl blanco})(\text{N ácido})}{\text{mg de la muestra}} * 100$$

$$\% \text{ Proteína cruda (Pc)} = (\% \text{ N total}) (\text{Factor})$$

MATERIA PRIMA	FACTOR
Trigo (harina blanca)	5.83
Trigo (otras harinas)	5.70
Macarrones	5.70
Salvado	6.31
Arroz	5.95
Cebada, Avena y Centeno	5.83
Maíz	6.25
Soya	5.71
Nueces, cacahuates	5.41
Almendras	5.18
Otras nueces	5.30
Lácteos	6.38
Gelatina	5.55
Otros alimentos	6.25

Figura 15 Factor de proteína

ANEXO 6

DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVO

- Vaso de Berselius
- Probeta de 50 ml
- Vasos de precipitado de 250 ml
- Embudo de cuello largo
- Papel filtro
- Probeta de 100 ml
- Balanza analítica
- Condensador de fibra cruda
- Ácido Tricloroacético
- Ácido Nítrico
- Ácido Acético
- Acetona
- Material biológico (seco y desgrasado)

PREPARACIÓN DEL REACTIVO S-K

Disolver 50 ml de Acido Tricloroacético en 1.0 a 1.5 L de Acido Acético al 70%, adicionar 124 ml de Acido Nítrico (65% y densidad de 1.4) y complementar a 2.0L con Ácido Acético al 70%.

Procedimiento

Preparativo A.

1. Muestra biológica desgrasada y molida (0.6 mm de diámetro)
2. Papel filtro a peso constante (Po) tratar de no tocarlo con las manos

El día de la practica

3. Pesar aproximadamente 1 g de muestra (P_m), transferir al vaso Berzelius y adicione 30 ml de reactivo S-K.
4. Colocar el vaso en el condensador de fibra cruda.
5. Llevar el contenido del vaso Berzelius a ebullición lo más rápido posible (agitar cada 5 min., aproximadamente).
6. Hervir por aproximadamente 30 min.
7. Filtrar en caliente a través del embudo (utilizando el papel filtro llevado a peso constante).
8. Lavar el residuo con agua caliente.
9. Lavar el residuo con acetona (hasta obtener la decoloración).
10. Colocar a peso constante el papel filtro.
11. Pesar el papel filtro, mas residuo (P_1).

$$\% \text{ de Fibra} = \frac{(P_1 - P_0)}{P_m} * 100$$

ANEXO 7

NOM-111-SSA1-1994

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Oficial Mexicana establece el método general para determinar el número de mohos y levaduras viables presentes en productos destinados al consumo humano por medio de la cuenta en placa a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el Territorio Nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales.

DEFINICIONES

Para fines de esta Norma se entiende por:

Colonias, agrupamiento de células en forma de masas visibles, sobre el agar de cultivo.

Levaduras, son microorganismos cuya forma dominante de crecimiento es unicelular. Poseen un núcleo y se multiplican por reproducción sexual o asexual, por gemación o por fisión transversal. La reproducción sexual cuando ocurre, es por medio de ascosporas contenidas en un saco o asca.

Mohos, grupo de hongos microscópicos; organismos pertenecientes al reino Fungí, que se caracterizan por tener un cuerpo formado por estructura filamentosa con ramificaciones, que se conocen con el nombre de hifas, el conjunto de hifas constituye el micelio, carecen de clorofila, se alimentan por absorción pudiendo propagarse por esporas flageladas o no, las paredes celulares pueden ser de queratina, celulosa o manana. Crecen formando colonias en un medio selectivo a 25°C .

Unidades Formadoras de Colonias (UFC), término que debe utilizarse para reportar la cuenta de colonias en placa, las cuales pueden surgir de una célula o de un cúmulo de células.

REACTIVOS Y MATERIALES

Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser de grado analítico y cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada.

Medios de cultivo.

Agar papa - dextrosa, comercialmente disponible en forma deshidratada.

Preparación del medio de cultivo.

Seguir instrucciones del fabricante y después de esterilizar, enfriar en baño de agua a $45 \pm 1^\circ\text{C}$, acidificar a un pH de $3,5 \pm 0,1$ con ácido tartárico estéril al 10% (aproximadamente 1,4 ml de ácido tartárico por 100 ml de medio). Después de adicionar la solución, mezclar y medir el pH con potenciómetro. Dejar solidificar una porción del medio. Hacer esto en cada lote de medio preparado.

A fin de preservar las propiedades gelificantes del medio, no calentar después de agregar el ácido tartárico.

Soluciones.

Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada)

6.2 Materiales.

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 1 ml y 2 ml), con tapón de algodón. Pueden utilizarse pipetas graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Cajas Petri.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Tubos de 16 x 150 mm con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio, deben esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 h de 170 a 175°C o por 1h a 180°C o autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

APARATOS E INSTRUMENTOS

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C.

Incubadora con termostato que pueda ser mantenido a $25 \pm 1,0^\circ\text{C}$ provista con termómetro calibrado.

Autoclave que alcance una temperatura mínima de $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de $0,1^\circ\text{C}$ y que mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador.

Registrador mecánico o electrónico.

Microscopio óptico.

Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25 °C.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La preparación de la muestra debe ser de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

PROCEDIMIENTO

Colocar por duplicado en cajas Petri 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril.

Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.

Verter de 15 a 20 ml de agar papa dextrosa acidificado, fundido y mantenido a 45 ± 1 °C en un baño de agua. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que es vertido el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.

Mezclar cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa. Permitir que la mezcla se solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.

Preparar una caja control con 15 ml de medio, para verificar la esterilidad.

Invertir las cajas y colocarlas en la incubadora a 25 ± 1 °C.

Contar las colonias de cada placa después de 3, 4 y 5 días de incubación. Después de 5 días, seleccionar aquellas placas que contengan entre 10 y 150 colonias. Si alguna parte de la caja muestra crecimiento extendido de mohos o si es difícil contar colonias bien aisladas, considerar los conteos de 4 días de incubación y aún de 3 días. En este caso, informar el periodo de incubación de 3 o 4 días en los resultados del análisis.

Si es necesario, cuando la morfología colonial no sea suficiente, examinar microscópicamente para distinguir las colonias de levaduras y mohos de las bacterias.

Cálculo del Método

Considerar las cuentas de placas con 10 a 150 colonias como las adecuadas para el informe. Multiplicar por el inverso de la dilución, tomando en consideración los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa, para la expresión de resultados.

ANEXO 8

NOM-092-SSA1-1994

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Oficial Mexicana establece el método para estimar la cantidad de microorganismos viables presentes en un alimento, agua potable y agua purificada, por la cuenta de colonias en un medio sólido, incubado aeróbicamente.

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el Territorio Nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales y de importación, para fines oficiales.

FUNDAMENTO

El fundamento de la técnica consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección después de un cierto tiempo y temperatura de incubación, presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo de la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas controlables, pero sujetas a la influencia de varios factores.

REACTIVOS Y MATERIALES

Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan, deben ser grado analítico.

Cuando se indique agua, debe entenderse agua destilada, con pH cercano a la neutralidad.

Medio de Cultivo.

Agar Tripton-Extracto de Levadura (agar para cuenta estándar).

Preparación del medio de cultivo.

Suspender los componentes del medio deshidratado en un litro de agua. Hervir hasta total disolución.

Distribuir en recipientes de vidrio esterilizables de capacidad no mayor de 500 ml, cantidades de aproximadamente la mitad del volumen del mismo. Esterilizar en autoclave a $121 \pm 1,0$ °C, durante 15 minutos. El pH final del medio debe ser $7,0 \pm 0,2$ a 25°C.

Si el medio de cultivo es utilizado inmediatamente, enfriar a $45^{\circ}\text{C} \pm 1,0$ °C en baño de agua y mantenerlo a esta temperatura hasta antes de su uso. El medio no debe fundirse más de una vez.

En caso de medios deshidratados seguir las instrucciones del fabricante.

El medio de cultivo anterior es el de uso más generalizado. Para algunos alimentos en particular se requerirá de un medio de cultivo especial que se debe indicar al describir la técnica para ese alimento.

Materiales

Todo el material que tenga contacto con las muestras o los microorganismos debe estar estéril.

Se requiere, los materiales mencionados en la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

APARATOS E INSTRUMENTOS

Se requiere, además de los mencionados en la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, los siguientes:

Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0^{\circ}\text{C}$, provista con termómetro calibrado.

Contador de colonias de campo obscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador.

Registrador mecánico o electrónico.

Microscopio óptico.

Baño de agua con o sin circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de hasta 1,0 °C y que mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0$ °C.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para la preparación de la muestra seguir la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico.

PROCEDIMIENTO

Distribuir las cajas estériles en la mesa de trabajo de manera que la inoculación; la adición de medio de cultivo y homogenización, se puedan realizar cómoda y libremente. Marcar las cajas en sus tapas con los datos pertinentes previamente a su inoculación y correr por duplicado.

Después de inocular las diluciones de las muestras preparadas según la NOM-110-SSA1-1994, Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico, en las cajas Petri, agregar de 12 a 15 ml del medio preparado, mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atrás a adelante, sobre una superficie lisa y horizontal hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio; cuidar que el medio no moje la cubierta de las cajas. Dejar solidificar.

Incluir una caja sin inóculo por cada lote de medio y diluyente preparado como testigo de esterilidad.

El tiempo transcurrido desde el momento en que la muestra se incorpora al diluyente hasta que finalmente se adiciona el medio de cultivo a las cajas, no debe exceder de 20 minutos.

Incubar las cajas en posición invertida (la tapa hacia abajo) por el tiempo y la temperatura que se requieran, según el tipo de alimento y microorganismo de que se trate, véase el cuadro 1.

En la lectura seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 25 a 250 UFC, para disminuir el error en la cuenta.

Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas (excepto las de mohos y levaduras), incluyendo las colonias puntiformes. Hacer uso del microscopio para resolver los casos en los que no se pueden distinguir las colonias de las pequeñas partículas de alimento.

INFORME DE LA PRUEBA

Reportar como: Unidades formadoras de colonias, ___ UFC/g o ml, de bacterias aerobias en placa en agar tripton extracto de levadura o agar para cuenta estándar, incubadas _____ horas a _____ °C.

ANEXO 9

NOM- 113-SSA1-1994

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Oficial Mexicana establece el método microbiológico para determinar el número de microorganismos coliformes totales presentes en productos alimenticios por medio de la técnica de cuenta en placa.

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales.

FUNDAMENTO

El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan las sales biliares

REACTIVOS Y MATERIALES

Reactivos

Los reactivos que a continuación se mencionan, deben ser grado analítico y cuando se indique agua debe entenderse como agua destilada.

Soluciones diluyentes

Solución reguladora de fosfatos (solución concentrada)

MEDIO DE CULTIVO

Agar-rojo- violeta-bilis-lactosa (RVBA)

FORMULA

Ingredientes cantidades

Peptona 7,0 g

Extracto de levadura 3,0 g

Lactosa 10,0 g

Sales biliares 1,5 g

Cloruro de sodio 5,0 g

Rojo neutro 0,03 g

Cristal violeta 0,002 g

Agar 15,0 g

Agua 1,0 l

Preparación:

Mezclar los componentes en el agua y dejar reposar durante algunos minutos.

Mezclar perfectamente y ajustar el pH a 7,4 con ácido clorhídrico 0,1N o con hidróxido de sodio 0,1N a 25°C, de forma que después del calentamiento se mantenga en este valor.

Calentar con agitación constante y hervir durante 2 minutos.

Enfriar inmediatamente el medio en un baño de agua hasta que llegue a 45°C.

Evitar el sobrecalentamiento del medio.

No debe esterilizarse en autoclave.

Usar el medio dentro de las tres primeras horas después de su preparación.

En el caso de utilizar medio de cultivo deshidratado, seguir las instrucciones del fabricante.

Materiales

Pipetas bacteriológicas para distribuir 10 y 1 ml (o si es necesario de 11 y 2 ml), con tapón de algodón. Las pipetas pueden ser graduadas en volúmenes iguales a una décima de su volumen total.

Frascos de vidrio de 250 ml con tapón de rosca.

Tubos de 16 X 150 mm con tapón de rosca.

Utensilios esterilizables para la obtención de muestras: cuchillos, pinzas, tijeras, cucharas, espátulas, etc.

Cajas Petri.

Todo el material e instrumentos que tengan contacto con las muestras bajo estudio debe esterilizarse mediante:

Horno, durante 2 h a 170 - 175°C, o 1 h a 180°C; o en autoclave, durante 15 minutos como mínimo a $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

El material de vidrio puede sustituirse por material desechable que cumpla con las especificaciones deseadas. No debe usarse material de vidrio dañado por las esterilizaciones repetidas y éste debe ser químicamente inerte.

APARATOS E INSTRUMENTOS

Horno para esterilizar que alcance una temperatura mínima de 170°C.

Autoclave con termómetro y manómetro, calibrada con termómetro de máximas y mínimas.

Baño de agua con control de temperatura y circulación mecánica, provista con termómetro calibrado con divisiones de $0,1^{\circ}\text{C}$ y que mantenga la temperatura a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$.

Licuada de una o dos velocidades controladas por un reóstato o bien un homogeneizador peristáltico (Stomacher).

Vasos para licuadora con tapa esterilizables o bolsas estériles para homogeneizador peristáltico.

Incubadora con termostato que evite variaciones mayores de $\pm 1,0^{\circ}\text{C}$, provista con termómetro calibrado.

Contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador.

Registrador mecánico o electrónico.

Microscopio óptico.

Potenciómetro con una escala mínima de 0,1 unidades de pH a 25°C .

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La preparación de la muestra debe ser de acuerdo a lo establecido en la NOM-110-SSA1-1994 "Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico".

PROCEDIMIENTO

Colocar en cajas Petri por duplicado 1 ml de la muestra líquida directa o de la dilución primaria, utilizando para tal propósito una pipeta estéril. Repetir el procedimiento tantas veces como diluciones decimales se requiera sembrar, utilizando una pipeta estéril diferente para cada dilución.

Vertir de 15 a 20 ml del medio RVBA fundido y mantenido a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ en baño de agua. En el caso de utilizar cajas de Petri de plástico se vierte de 10 a 15 ml del medio. El tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vierte el medio de cultivo, no debe exceder de 20 minutos.

Mezclar cuidadosamente el inóculo con el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Permitir que la mezcla solidifique dejando las cajas Petri reposar sobre una superficie horizontal fría.

Preparar una caja control con 15 ml de medio para verificar la esterilidad.

Después de que está el medio completamente solidificado en la caja, verter aproximadamente 4 ml del medio RVBA a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ en la superficie del medio inoculado. Dejar que solidifique.

Invertir las placas y colocarlas en la incubadora a 35°C , durante 24 ± 2 horas.

Después del periodo especificado para la incubación, contar las colonias con el contador de colonias.

Seleccionar las placas que contengan entre 15 y 150 colonias. Las colonias típicas son de color rojo oscuro, generalmente se encuentran rodeadas de un halo de precipitación debido a las sales biliares, el cual es de color rojo claro o rosa, la morfología colonial es semejante a lentes biconvexos con un diámetro de 0,5 a 2,0 mm.

ANEXO 10

NOM-114-SSA1-1994

OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Oficial Mexicana establece un método general para la determinación de Salmonella en alimentos.

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas y morales que requieran efectuar este método en productos nacionales y de importación para fines oficiales.

FUNDAMENTO

La presente técnica para la detección de Salmonella en alimentos, describe un esquema general que consiste de 5 pasos básicos:

Preenriquecimiento, es el paso donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de Salmonella dañadas a una condición fisiológica estable.

Enriquecimiento selectivo, empleado con el propósito de incrementar las poblaciones de Salmonella e inhibir otros organismos presentes en la muestra.

Selección en medios sólidos, en este paso se utilizan medios selectivos que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a Salmonella y permite el reconocimiento visual de colonias sospechosas.

Identificación bioquímica, este paso permite la identificación genérica de los cultivos de Salmonella y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.

Serotipificación, es una técnica serológica que permite la identificación específica de un cultivo.

REACTIVOS Y MATERIALES

En caso de disponerse de fórmulas comerciales deshidratadas, se deben seguir las instrucciones impresas en la etiqueta respectiva para su preparación.

Las sustancias químicas usadas para preparar los medios de cultivo y los reactivos deben ser grado analítico.

Reactivos

Medios de pre-enriquecimiento

Agua de peptona tamponada

Preparación

Suspender los ingredientes en un litro de agua. Calentar hasta su disolución completa, agitando frecuentemente. Ajustar el pH.

Enfriar a 45°C y verter en cajas de petri estériles, distribuyendo de manera homogénea el precipitado propio del medio.

El aspecto de las placas es opaco, de color verde pálido y deben usarse el mismo día de su preparación. Si la coloración es parda, no deben utilizarse.

El medio no debe esterilizarse en autoclave; el sobrecalentamiento afecta su selectividad.

PROCEDIMIENTO

Preparación de los alimentos para el aislamiento de Salmonella

Los siguientes métodos se basan en el análisis de 25 g de la muestra analítica en una proporción de 1:9 de muestra/caldo. Esta cantidad puede variarse siempre que se mantenga la misma proporción. Se recomienda una muestra de 25 g o más.

Procedimiento general para la preparación de muestras

Pesar asépticamente 25 g de la muestra en un vaso estéril de licuadora o en bolsa estéril para trabajar en homogeneizador peristáltico (stomacher). Adicionar 225 ml del medio de preenriquecimiento estéril (generalmente caldo lactosado, a menos que se indique otro) y licuar si es necesario durante un min. Transferir asépticamente la mezcla homogeneizada a un recipiente estéril de boca ancha con tapón de rosca y dejar reposar por 60 min a temperatura ambiente con la tapa bien enroscada. Mezclar bien y determinar el pH aproximado con papel pH. Ajustar, si es necesario, a un pH 6,8; 0,2 con hidróxido de sodio 1N o ácido clorhídrico 1N estériles. Mezclar y cubrir el recipiente enroscando suavemente la tapa.

Incubar 24h.

CÁLCULO Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Interpretación de reacciones bioquímicas y serológicas.

INFORME DE RESULTADOS

Informar: presencia o ausencia de Salmonella en _____ g o _____ ml de muestra.

ANEXO 11



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

FACULTAD E CIENCIAS DE LA NUTRICION Y ALIMENTOS



Encuestas sobre pérdidas y desperdicios de alimentos

Comerciantes en el mercado del Norte, Tuxtla, Gutiérrez, Chiapas.

Datos generales: _____

Nombre del local: _____

Giro del local: _____

No. De local: _____

Artículos comercializados:

1. ¿Del total del producto comercializado, cuanto estima aproximadamente que es merma o se pierde?
 - a) Menos del 10%
 - b) Del 10 al 30%
 - c) Del 30 al 50%
 - d) Del 50 al 80%
 - e) Mas de 80%

2. ¿Cada cuánto sacan pérdidas o mermas?
 - a) Cada 3 días
 - b) Cada 5 días
 - c) Cada 10 días
 - d) Cada 15 días
 - f) Cada mes

3. ¿En qué etapa cree usted que ocurre una mayor merma o pérdida de alimentos?
 - a) Producción
 - b) Transporte
 - c) Comercialización
 - d) Consumo

4. De acuerdo con su experiencia. ¿Cuál es la principal razón por la cual se pierden o desperdician alimentos?
 - a) Sobre oferta de producción
 - b) Falta de control de calidad en la selección de los productos
 - c) Manejo inadecuado de la mercancía en la transportación
 - d) Carentes o deficientes equipos de conservación o refrigeración
 - e) Limitada demanda por los productos

5. ¿Con que frecuencia recibe las cajas del producto en mal estado (maltratadas)?
 - a) Siempre
 - b) Regularmente, es decir frecuentemente o algunas veces
 - c) Nunca

6. ¿Le parece que la calidad del empaque contribuye a una mayor merma o pérdida de alimentos?
 - a) De acuerdo
 - b) Totalmente en desacuerdo
 - c) Ni acuerdo ni en desacuerdo

7. ¿Estima el volumen de compra en función de las ventas potenciales? Esto, s con la finalidad de disminuir los desperdicios.
 - a) Siempre
 - b) Regularmente, es decir frecuentemente o algunas veces
 - c) Nunca

8. ¿Qué es lo que hace con los alimentos que no se venden y están en riesgo de desperdiciarse?
 - a) Los dona a causas sociales
 - b) Los regala o los tira
 - c) Los vende a precios de remate
 - d) Otros

9. ¿Cuáles son los productos que pierde con mayor frecuencia?
 - a) Frutas (especifique)
 - b) Verduras (especifique)
 - c) Pescados y mariscos
 - d) Semillas
 - e) Tubérculos

10. ¿Dónde surten su mercancía?
 - a) Central de abastos
 - b) Desde la producción

ANEXO 12

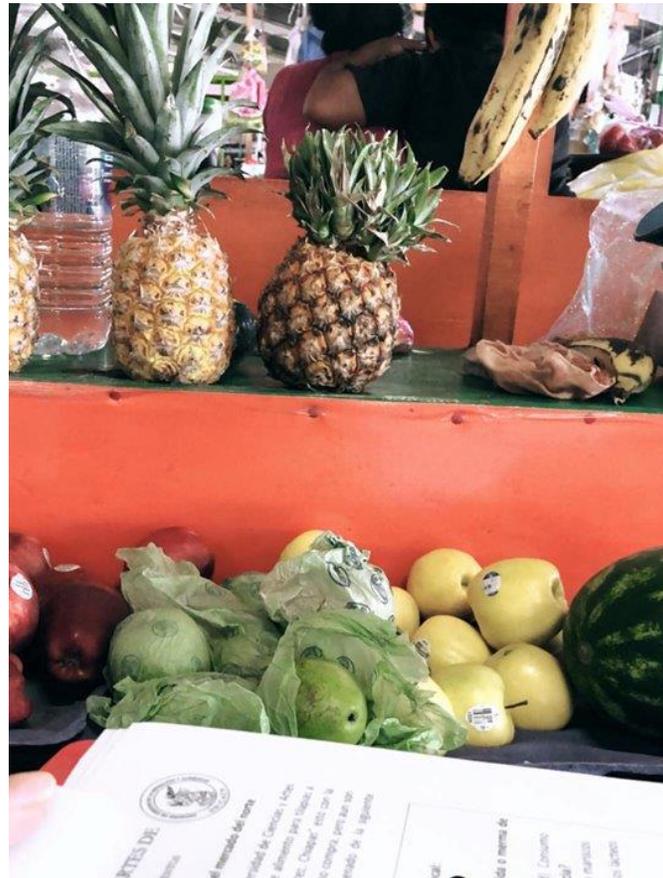


Figura 16 Identificación y cuantificación de los residuos orgánicos en el mercado del norte (creación propia)

ANEXO 13



figura 17 Recolección de residuos orgánicos (creación propia)

ANEXO 14



Figura 18 Limpieza de pescado (creación propia)



Figura 19 Limpieza y lavado de los tubérculos (creación propia)



Figura 20 Secado (creación propia)



Figura 21 Ensilado en almacenamiento monitoreando su temperatura y pH (creación propia)

ANEXO 15



Figura 22 Determinación de ceniza (creación propia)



Figura 23 Determinación de grasa (creación propia)

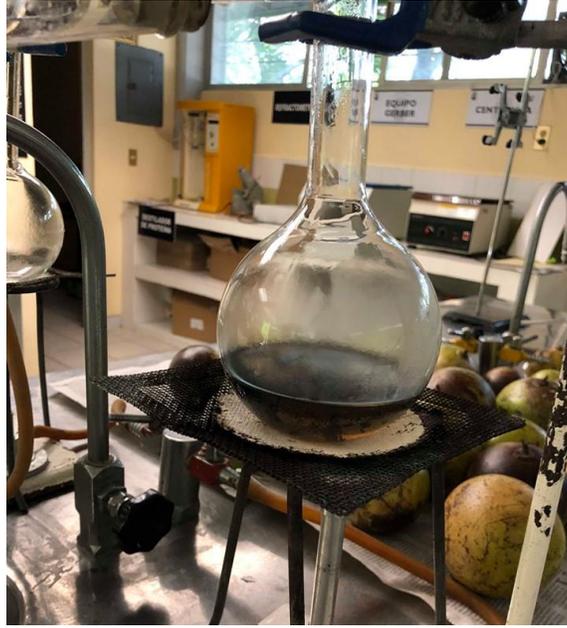


Figura 24 Determinación de proteína (creación propia)



Figura 25 determinación de fibra (creación propia)

ANEXO 16



Figura 26 Molienda del ensilado (Creación propia)



Figura 27 Secado del alimento (Creación propia)



Figura 28 Alimento para tilapia (Creación propia)