



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**“ELABORACIÓN DE UN ENSILAJE BIOLÓGICAMENTE  
ACCELERADO A PARTIR DE VÍSCERAS DE TILAPIA  
(*Oreochromis mossambicus*) PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**  
**TIPO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL**

**AUTORA:** IRENE ALEXANDRA CALVA QUEZADA

**TUTOR:** Dr. C. BYRON LEONCIO DÍAZ MONROY

Riobamba – Ecuador

2018

©2018, Irene Alexandra Calva Quezada se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

El Tribunal de Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de investigación: **“ELABORACIÓN DE UN ENSILAJE BIOLÓGICAMENTE ACELERADO A PARTIR DE VÍSCERAS DE TILAPIA (*Oreochromis mossambicus*) PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL”**, de responsabilidad de la señorita egresada Irene Alexandra Calva Quezada, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de trabajo de titulación, quedando autorizada su presentación.

**FIRMA**

**FECHA**

Dr. C . Byron Díaz Monroy

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTOR DE TESIS**

Dra. Susana Abdo López

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

Yo, Irene Alexandra Calva Quezada, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos constantes en el documento que proviene de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autora, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación.

Riobamba, 12 de Enero de 2018

Irene Alexandra Calva Quezada

220008056-8

Yo, Irene Alexandra Calva Quezada soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo de Investigación y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Irene Alexandra Calva Quezada

220008056-8

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por haberme permitido culminar exitosamente esta jornada estudiantil.

Mi agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por haberme permitido ser parte de ella, también a los diferentes docentes que me brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Agradezco también a mi Director de Tesis Dr. Byron Díaz y Asesora Dra. Susana Abdo por haberme brindado la oportunidad de recurrir a sus capacidades y conocimientos científicos.

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo de Titulación a mis padres Ruperto y Marlene, quienes con su amor y trabajo me educaron y apoyaron en toda mi formación profesional, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar siendo mi apoyo en todo momento.

A mis hermanas Adriana y Silvana por sus consejos y apoyo incondicional en cada momento de mi vida, quienes con sus palabras de aliento no me dejaron decaer para que siguiera adelante y siempre sea perseverante y cumpla con mis metas.

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Ácido fórmico
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Ácido sulfúrico
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub></b>	Ácido propiónico
<b>C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub></b>	ácido acético
<b>pH</b>	Potencial de hidrógeno
<b>CO<sub>2</sub></b>	Anhídrido carbónico
<b>ATP</b>	Adenosin trifosfato
<b>FES</b>	Fermentación en estado sólido
<b>FEL</b>	Fermentación en estado líquido
<b>CH<sub>3</sub>COOH</b>	Ácido acético
<b>H<sub>2</sub></b>	Hidrógeno
<b>BPAL</b>	Bacterias productoras de ácido láctico
<b>Kg</b>	Kilogramos
<b>UFC</b>	Unidades formadoras de colonias
<b>ml</b>	Mililitros
<b>S3</b>	Simbiótico 3
<b>F1</b>	Formulación 1
<b>F2</b>	Formulación 2
<b>F3</b>	Formulación 3
<b>F1R1</b>	Formulación 1 Repetición 1
<b>F1R2</b>	Formulación 1 Repetición 2
<b>F1R3</b>	Formulación 1 Repetición 3
<b>F2R1</b>	Formulación 2 Repetición 1
<b>F2R2</b>	Formulación 2 Repetición 2
<b>F2R3</b>	Formulación 2 Repetición 3
<b>F3R1</b>	Formulación 3 Repetición 1
<b>F3R2</b>	Formulación 3 Repetición 2
<b>F3R3</b>	Formulación 3 Repetición 3
<b>g</b>	Gramos
<b>%H</b>	Porcentaje de humedad
<b>ELN</b>	Extracto libre de nitrógeno
<b>L</b>	Litros
<b>ml</b>	Mililitros



<b>UFC.g<sup>-1</sup></b>	Unidades formadoras de colonia por gramo
$\bar{x}$	Media
<b>° Brix</b>	Grados brix
<b>° C</b>	Temperatura grados Celsius

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....		<b>xviii</b>
<b>SUMMARY</b> .....		<b>xix</b>
 <b>CAPITULO I</b>		
<b>1.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
<b>1.1</b>	<b>Fermentación</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1.1</b>	<b><i>Tipos de fermentación por el producto que se obtiene</i></b> .....	<b>8</b>
1.1.1.1	<i>Fermentación acética</i> .....	<b>8</b>
1.1.1.2	<i>Fermentación láctica</i> .....	<b>8</b>
1.1.1.3	<i>Fermentación butírica</i> .....	<b>9</b>
<b>1.2</b>	<b>Fermentación en estado sólido (FES)</b> .....	<b>9</b>
<b>1.2.1</b>	<b><i>Ventajas y desventajas de los procesos de fermentación en estado sólido</i></b> .....	<b>10</b>
1.2.1.1	<i>Ventajas</i> .....	<b>10</b>
1.2.1.2	<i>Desventajas</i> .....	<b>11</b>
<b>1.3</b>	<b>Ensilado</b> .....	<b>11</b>
<b>1.3.1</b>	<b><i>Proceso de fermentación del ensilado</i></b> .....	<b>12</b>
<b>1.4</b>	<b>Ensilado de pescado</b> .....	<b>13</b>
<b>1.4.1</b>	<b><i>Clases de ensilado de pescado</i></b> .....	<b>13</b>
1.4.1.1	Ensilado químico .....	<b>13</b>
1.4.1.2	<i>Ensilado biológico</i> .....	<b>14</b>
<b>1.4.2</b>	<b><i>Procesos de acidificación y de hidrolisis del ensilado biológico de pescado</i></b> .....	<b>14</b>
<b>1.4.3</b>	<b><i>Microflora del ensilado</i></b> .....	<b>16</b>
1.4.3.1	<i>Enterobacterias</i> .....	<b>16</b>
1.4.3.2	<i>Bacterias productoras de ácido láctico</i> .....	<b>17</b>
1.4.3.3	<i>Clostridia</i> .....	<b>17</b>
1.4.3.4	<i>Levaduras</i> .....	<b>17</b>
1.4.3.5	<i>Bacilos</i> .....	<b>18</b>
1.4.3.6	<i>Mohos</i> .....	<b>18</b>
1.4.3.7	<i>Listeria</i> .....	<b>19</b>
1.4.3.8	<i>Bacterias productoras de ácido acético</i> .....	<b>19</b>

<b>1.4.4</b>	<b>Aditivos.....</b>	<b>19</b>
1.4.4.1	<i>Aditivos que inhiben el proceso de deterioro aeróbico.....</i>	20
1.4.4.2	<i>Aditivos usados como nutrientes o como absorbentes.....</i>	20
1.4.4.3	<i>Combinaciones de aditivos.....</i>	21
<b>1.4.5</b>	<b>Elaboración del ensilaje.....</b>	<b>22</b>
1.4.5.1	<i>Materia prima.....</i>	22
1.4.5.2	<i>Proceso de ensilaje biológico.....</i>	25
1.4.5.3	<i>Características de un buen ensilaje de pescado.....</i>	25
<b>1.4.6</b>	<b>Ensilado de pescado en la alimentación animal.....</b>	<b>26</b>
<b>1.5</b>	<b>Tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i>).....</b>	<b>27</b>
1.5.1	<i>Biología de la especie.....</i>	28
1.5.1.1	<i>Características de la especie.....</i>	28
1.5.2	<i>Requerimientos del medio ambiente para el cultivo de tilapia.....</i>	28
1.5.3	<i>Ensilaje de vísceras de tilapia roja como alimento para pollos en etapa de engorde.....</i>	29

## CAPITULO II

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>31</b>
<b>2.1</b>	<b>Lugar de estudio.....</b>	<b>31</b>
<b>2.2</b>	<b>Hipótesis y especificación de variables.....</b>	<b>32</b>
2.2.1	<i>Hipótesis general.....</i>	32
2.1.2	<i>Hipótesis específicas.....</i>	32
<b>2.3</b>	<b>Variables.....</b>	<b>32</b>
2.3.1	<i>Variables dependientes.....</i>	32
2.3.2	<i>Variables independientes.....</i>	32
<b>2.4</b>	<b>Tipo y diseño de investigación.....</b>	<b>33</b>
<b>2.5</b>	<b>Unidad de análisis.....</b>	<b>33</b>
<b>2.6</b>	<b>Población de estudio.....</b>	<b>34</b>
<b>2.7</b>	<b>Tamaño de la muestra.....</b>	<b>34</b>
<b>2.8</b>	<b>Selección de la muestra.....</b>	<b>35</b>
<b>2.9</b>	<b>Técnicas de recolección de datos.....</b>	<b>35</b>
2.9.1	<i>Material biológico (inóculo).....</i>	35
<b>2.10</b>	<b>Métodos y técnicas.....</b>	<b>35</b>
2.10.1	<i>Muestreo de la materia prima – vísceras.....</i>	36
2.10.2	<i>Análisis de la materia prima -melaza.....</i>	36

<b>2.10.3</b>	<b><i>Análisis de humedad de la materia prima – afrecho de trigo</i></b> .....	<b>37</b>
<b>2.10.4.</b>	<b><i>Análisis organolépticos de las vísceras de tilapia</i></b> .....	<b>37</b>
<b>2.10.5</b>	<b><i>Análisis microbiológico de vísceras de tilapia y afrecho de trigo</i></b> .....	<b>38</b>
2.10.5.1	<i>Determinación de mesófilos totales en vísceras de tilapia y afrecho de trigo</i> .....	38
2.10.5.2	<i>Determinación de coliformes totales</i> .....	39
2.10.5.3	<i>Determinación de Staphylococcus aureus</i> .....	39
2.10.5.4	<i>Determinación de mohos y levaduras</i> .....	39
2.10.5.5	<i>Determinación de Salmonella sp</i> .....	40
<b>2.10.6</b>	<b><i>Preparación del inóculo microbiano</i></b> .....	<b>41</b>
<b>2.10.7</b>	<b><i>Formulación de los ensilajes a escala de laboratorio (F1-F2-F3)</i></b> .....	<b>42</b>
<b>2.10.8</b>	<b><i>Análisis organolépticos de los ensilajes (F1-F2-F3)</i></b> .....	<b>42</b>
<b>2.10.9</b>	<b><i>Análisis de ácidos orgánicos de los ensilajes (F1-F2-F3)</i></b> .....	<b>43</b>
<b>2.10.10</b>	<b><i>Análisis microbiológicos de los ensilajes (F1-F2-F3)</i></b> .....	<b>44</b>
2.10.10.1	<i>Determinación de mesófilos totales en las formulaciones de los ensilados</i>	44
2.10.10.2	<i>Determinación de coliformes totales</i> .....	45
2.10.10.3	<i>Determinación de Staphylococcus aureus</i> .....	45
2.10.10.4	<i>Determinación de mohos y levaduras</i> .....	45
2.10.10.5	<i>Determinación de Salmonella sp</i> .....	46
2.10.10.6	<i>Determinación de las bacterias ácido lácticas</i> .....	47
<b>2.10.11</b>	<b><i>Análisis bromatológico de los ensilajes (F1-F2-F3)</i></b> .....	<b>48</b>
<b>2.10.12</b>	<b><i>Producción a escala semi- industrial del ensilaje</i></b> .....	<b>48</b>
<b>2.10.13</b>	<b><i>Prueba de campo en pollos en etapa de engorde</i></b> .....	<b>49</b>
<b>2.10.14</b>	<b><i>Beneficio – costo</i></b> .....	<b>50</b>
2.10.14.1	<i>Materiales</i> .....	50
2.10.14.2	<i>Método</i> .....	50

### **CAPITULO III**

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>51</b>
<b>3.1</b>	<b>Resultado de los análisis de la materia prima -melaza</b> .....	<b>51</b>
<b>3.2</b>	<b>Resultado de los análisis de la materia prima – afrecho de trigo</b> .....	<b>51</b>
<b>3.2.1</b>	<b><i>Humedad del afrecho de trigo</i></b> .....	<b>51</b>
<b>3.3</b>	<b>Resultado de los análisis organolépticos de las vísceras de tilapia</b> .....	<b>52</b>
<b>3.4</b>	<b>Resultado de los análisis microbiológico preliminar de la muestra de las vísceras de tilapia y afrecho de trigo</b> .....	<b>53</b>

<b>3.5</b>	<b>pH del inóculo microbiano.....</b>	<b>55</b>
<b>3.6</b>	<b>Formulaciones de ensilajes a escala de laboratorio (F1-F2-F3).....</b>	<b>56</b>
<b>3.7</b>	<b>Análisis organolépticos de los ensilajes (F1-F2-F3).....</b>	<b>57</b>
<b>3.8</b>	<b>Análisis de ácidos orgánicos de los ensilajes (F1-F2-F3).....</b>	<b>63</b>
<b>3.9</b>	<b>Análisis microbiológico de los ensilados (F1-F2-F3).....</b>	<b>59</b>
<b>3.10</b>	<b>Análisis bromatológico los ensilados (F1-F2-F3).....</b>	<b>60</b>
<b>3.11</b>	<b>Producción a escala semi- industrial del ensilaje.....</b>	<b>62</b>
<b>3.12</b>	<b>Prueba de campo en pollos en etapa de engorde.....</b>	<b>62</b>
<b>3.13</b>	<b>Análisis beneficio – costo.....</b>	<b>65</b>
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>69</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Tipos de fermentación de algunos microorganismos.....	9
<b>Tabla 1-2:</b>	Requisitos óptimos de los subproductos de trigo.....	24
<b>Tabla 1-3:</b>	Evaluación organoléptica de los ensilados .....	25
<b>Tabla 1-4:</b>	Evaluación sensorial de la calidad de ensilado biológicos con desechos de atún aleta amarilla ( <i>Thunnus albacares</i> ) y desechos de fileteado de tilapia ( <i>Oreochromis sp</i> ).....	25
<b>Tabla 1-5:</b>	Taxonomía de la tilapia.....	28
<b>Tabla 2-1:</b>	Condiciones meteóricas de la ESPOCH y Francisco de Orellana.....	31
<b>Tabla 2-2:</b>	Formulación y tratamiento del ensilaje de vísceras de tilapia.....	33
<b>Tabla 2-3:</b>	Unidad de análisis de prueba en campo del ensilaje en pollos de engorde en la sexta y séptima semana.....	34
<b>Tabla 2-4:</b>	Series para diluciones.....	38
<b>Tabla 2-5:</b>	Diluciones para formulaciones de ensilaje de vísceras de tilapia roja.....	44
<b>Tabla 3-1:</b>	Peso inicial y final de muestras de afrecho de trigo.....	51
<b>Tabla 3-2:</b>	Análisis organolépticos de las vísceras de tilapia.....	52
<b>Tabla 3-3:</b>	Análisis microbiológico de las vísceras de tilapia y afrecho de trigo....	53
<b>Tabla 3-4:</b>	Mediciones de pH en el inóculo microbiano.....	55
<b>Tabla 3-5:</b>	Formulaciones del ensilaje biológicamente acelerado.....	56
<b>Tabla 3-6:</b>	Resultados de análisis organolépticos de los ensilajes (F1-F2-F3).....	57
<b>Tabla 3-7:</b>	Caracterización de ácidos orgánicos ene las formulaciones (F1-F2-F3)..	58
<b>Tabla 3-8:</b>	Caracterización microbiológica de los ensilados.....	59
<b>Tabla 3-9:</b>	Caracterización bromatológica de los ensilajes (F1-F2-F3).....	60
<b>Tabla 3-10:</b>	Promedio de consumo y desperdicio de raciones alimenticias en etapa de engorde.....	62
<b>Tabla 3-11:</b>	Análisis del beneficio – costo en la producción del ensilaje utilizada en la alimentación de pollos en la etapa de engorde.....	65

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 2-1:</b>	Diagrama general del proceso de ensilaje de vísceras de tilapia.....	35
<b>Figura 3-1:</b>	Análisis microbiológico de las vísceras de tilapia.....	54
<b>Figura 3-2:</b>	Análisis microbiológico del afrecho de trigo.....	54
<b>Figura 3-3:</b>	Variaciones de pH del inóculo microbiano.....	56
<b>Figura 3-4:</b>	Registro de dietas alimenticias y de pesos para pollos broiler en etapa de engorde durante 15 días.....	63
<b>Figura 3-5:</b>	Evaluación del peso en pollos broiler alimentados con F1 .....	64

## INDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1:</b> Beneficio/costo.....	50
<b>Ecuación 2:</b> Porcentaje de humedad.....	51



## RESUMEN

El objetivo del trabajo de titulación fue la elaboración de un ensilaje biológicamente acelerado a partir de vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) para alimentación animal. Se produjeron 3 formulaciones con 3 réplicas de ensilaje con las vísceras de tilapias de la Piscícola Cordero de Francisco de Orellana, siendo F1 la mejor formulación a escala artesanal, la misma que estuvo conformada por: 600 g de vísceras, 100 ml de melaza, 47,5 ml de inóculo, 250 g de afrecho de trigo y 2,5 g de ácido ascórbico. F1 contiene 19,69 % de proteína y 6,12 % de fibra lo que es importante para que el pollo pierda peso e incremente masa muscular; F1 presentó 29.98 % de grasas, esto es beneficioso para evitar la rancidez oxidativa, F1 no presentó microorganismos patógenos *Salmonella sp* en 25 g. Posteriormente se elaboró el ensilaje a escala semi – industrial las cantidades empleadas fueron: vísceras de tilapia 48 Kg, melaza 8 litros, inóculo 4 litros, afrecho de trigo 20 Kg, ácido ascórbico 200 gr, se realizó la mezcla compacta la misma que fue colocada una funda plástica completamente hermética, y esta a su vez en un recipiente plástico de 125 litros durante un periodo de 50 días, a temperatura ambiente de 27.5°C (Francisco de Orellana), y finalmente se realizó la prueba de campo, la ración administrada durante 15 días fue de 6 kg de las dietas 90-10% obteniéndose un 56.6% de consumo y 43.33% de desperdicio, mientras con la otra dieta 80-20% concentrado-ensilaje, respectivamente se evidenció una menor cantidad de desperdicio 26, 6%; claro indicativo de que los pollos broiler se inclinaron más por esta dieta, aceptando 4,4 Kg del suplemento alimenticio, las dietas se aplicaron en la sexta y séptima semana. Se recomienda realizar pruebas con el ensilaje biológicamente acelerado en dietas alimenticias para otras especies zootécnicas.

**Palabras Claves:** <TECNOLOGÍA Y CIENCIAS DE LA INGENIERÍA>, <BIOTECNOLOGÍA>, <ENSILAJE>, <ALIMENTACIÓN ANIMAL>, <PREPARADO MICROBIANO NATIVO>, <MELAZA>, <TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus*)>, <PROTEÍNA>, <FIBRA>.

## SUMMARY

The present investigation was carried out with the objective of elaborating a biologically accelerated silage from viscera of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) for animal feed. Three formulations were produced with 3 replicas of silage with the tilapia viscera in Piscícola Cordero de Francisco de Orellana, with F1 being the best low-artisan formulation, which consisted of: 600 g of viscera, 100 mL of molasses, 47.5 mL of inoculum, 250 g of wheat bran and 2.5 g of ascorbic acid. F1 contains 19.69% protein and 6.12% fiber which is important for the chicken to lose weight and increase muscle mass; F1 presented 29.98% of fats, this is beneficial to avoid oxidative rancidity, F1 did not present pathogenic microorganisms *Salmonella sp* in 25g. Subsequently, the silage was elaborated on a semi-industrial scale the quantities used as: viscera of tilapia 48% Kg mixture 8 liters, inoculum 4 liters, wheat bran 20K., ascorbic acid 200 gr. the compact mixture was made the same as a completely hermetic plastic bag was placed and it was in a plastic container of 125 liters, during a period of 50 days, at room temperature of 27.5<sup>0</sup> C (Francisco de Orellana), and finally, the field test was carried out, the administrative ration for 15 days was 6 kg of the diets 90-10%, obtaining a 56.6% of consumption, and 43.33% of waste; while with the other diet 80-20% concentrate-silage ; a lesser amount of waste was evidenced 26.6%; clear indicative that broiler chickens were more inclined by this diet, accepting 4.4 Kg of dietary supplement, the diets were applied in the sixth and seventh week. It is recommended to carry out tests with the biological silage accelerated in diets for other zootechnical species.

**Keywords:** <TECHNOLOGY AND SCIENCE OF ENGINEERING>, <BIOTECHNOLOGY>, <SILAGE>, <ANIMAL FEEDING>, <NATIVE MICROBIAL PREPARATION>, <MELAZA>, <RED TILAPIA (*Oreochromis mossambicus*) >, <PROTEIN>, <FIBER. >

## INTRODUCCIÓN

Los efectos del impacto de la actividad acuícola y pesquera generan problemas de contaminación directa, produciendo considerables cantidades de efluentes, los cuales tienen efectos indeseables sobre el medio ambiente, la cantidad de desecho está directamente relacionada a la entrada de alimento y su conversión en biomasa y restos no asimilados. La incorporación de nutrientes y materia orgánica produce alteraciones en el recurso hídrico y cambios en la estructura comunitaria.

Desde la antigüedad, la actividad pesquera en los océanos, lagos y ríos constituye una fuente importante de alimentos, además de proveer empleo y otros beneficios económicos para la humanidad. Sin embargo, con el mayor conocimiento y el desarrollo dinámico de la pesca y la acuicultura, ha llegado a ser evidente que los recursos acuáticos vivos, aunque renovables, no son infinitos y necesitan ser administrados adecuadamente, a fin de mantener su contribución al bienestar nutricional, económico y social de la creciente población mundial. (FAO, 2011)

Las actividades que se llevan a cabo en la piscícola Cordero ubicada en el Cantón Francisco de Orellana, donde se utilizan procesos de manipulación, acopio, distribución, procesamiento y comercialización, generan los residuos de pescado (agallas, escamas, huesos, cabeza, cola, piel y vísceras) especialmente en los procesos de manipulación y procesamiento, los mismos que no poseen ningún tipo de tratamiento y su disposición final no es apropiada.

En la piscícola Cordero existen 4 piscinas las mismas que albergan 1000 alevines cada una y al cabo de 11 meses de crianza alcanzan el estado de adultez, llegando a pesar entre 1 y 1,5 libras por tilapia, la cantidad de desperdicio (vísceras) es aproximadamente media libra por cada dos tilapias adultas, semanalmente se venden alrededor de 100 tilapias por lo que se producirían cerca de 50 libras de desperdicio (vísceras).

Los residuos llegan a ocasionar problemas de contaminación en fuentes hídricas, porque estas contienen exceso de nutrientes y pueden generar una floración de algas, reducción de oxígeno, turbiedad progresiva y otros cambios en la calidad del agua, lo que puede afectar negativamente en la producción acuícola originando una mortandad de grandes proporciones en el cultivo, sin embargo pueden estos mismos residuos ser utilizados para ser aplicados en procesos biotecnológicos como es el caso para la producción de ensilado biológico de pescado. (Sanchez, et al., 2008)

La harina de pescado es la más utilizada en la dieta animal debido a su alto valor proteico y a su buena calidad pero en cuanto a la producción resulta un proceso altamente costoso, ocasionando también la sobreexplotación de las especies, se han buscado alternativas que pueden ser económicamente y nutricionalmente más viables sin que perjudiquen la eficiencia alimentaria en animales una de esas alternativas es la producción de ensilado de pescado.

El ensilado de pescado es un producto que no ocasiona el apareamiento de vectores, ni genera malos olores (Toledo & LLanes, 2006), el ensilado es un producto rico en proteínas, posee mucha humedad y es fácilmente preservable está definido como un producto líquido o sólido pastoso que se logra obtener a partir de enzimas que actúan sobre el pescado o partes de él y es utilizado como un componente nutricional en varias especies de animales (Balsinde, et al., 2003)

En el proceso de elaboración de ensilado hay una disminución en el pH hasta alcanzar un valor cercano a 4 esto resulta de la producción de ácido láctico siendo activadas las enzimas del pescado produciendo autólisis ocasionando una modificación en las características intrínsecas que tienen la propiedad de inhibir el crecimiento bacteriano patógeno por lo que es posible su conservación por períodos de tiempo largos, y microbiológicamente es un producto seguro. (Copes , et al., 2006)

Uno de los principales inconvenientes que se da en la producción del ensilado de pescado es mantener la estabilidad aeróbica o el deterioro esto sucede al conservarse en condiciones aeróbicas en la etapa de alimentación, se detecta por los niveles de incremento de temperatura, pH como resultado del metabolismo de hidratos de carbono residuales y productos de fermentación por bacterias, hongos y levaduras. (Díaz , 2004)

En el estudio del efecto de la suplementación con ensilaje de residuos de una planta procesadora de tilapia (*Oreochromis niloticus*) sobre el consumo voluntario y la digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas y leguminosas tropicales, no hubieron cambios de pH, temperatura, productos de fermentación, comunidades de hongos y levaduras al utilizar 20% de melaza y el inóculo bacteriano (*Lactobacillus plantarum*), en el ambiente en 7 días, indicando estabilidad del ensilado (Díaz , 2004)

En el trabajo Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado presentado por la Universidad Católica de Perú concluye que la producción de este ensilado puede sustituir a los medios de cultivo masivo basados en fertilizantes agrícolas para producción de microalgas, los beneficios indican una alta producción, bajo costo y una excelente calidad nutricional para la producción de estas.

El estudio del ensilado biológico de pescado como inóculo de bacterias lácticas en la conservación de desechos pesqueros se determinaron diferentes porcentajes de miel final (0, 10 y 15) y ensilado biológico de pescado (20, 30 y 50) siendo el inóculo las bacterias lácticas en la conservación de desechos pesqueros, se pudo evaluar la tecnología de producción continua pescado producido con tres inoculaciones (inóculo bacteriano) y dos porcentajes de miel final (10 y 15). (LLanes, et al., 2007)

Los resultados mostraron que con 10 % de miel final y 30% de ensilado biológico se conservan los desechos pesqueros hasta 10 días y con 10% de miel final y 20 % de ensilado biológico de pescado se logra un producto estable durante dos inoculaciones escalonadas de 72 horas cada una, mientras que con 15% de miel se logran tres inoculaciones con un ahorro de 16,60 USD/Tn. Por lo que se logra demostrar su bajo costo de producción (LLanes, et al., 2007)

En la producción de ensilados biológicos a partir de desechos de pescado, del ahumado de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*), para la alimentación de especies acuícolas, se produjeron ensilados determinándose los cambios químicos y microbiológicos de desechos del ahumado del atún aleta amarilla y del fileteado de tilapia, fermentados con un inóculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa Shirota. (Spanopoulos , et al., 2010)

Fueron empleados métodos rústicos y materiales accesibles para utilizarse como suplemento alimenticio para actividades acuícolas, se determinó el porcentaje de melaza óptimo para la fermentación, la composición proximal y el conteo microbiológico de los ensilados. Los desechos fueron mezclados con melaza de caña de azúcar estos fueron fuente de carbono y el inóculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa shirota. (Spanopoulos , et al., 2010)

Pasados 6 días del proceso fermentativo en los dos ensilados se determinaron las características físicas y químicas las que resultaron aceptables, las acidificaciones con la melaza fueron del 15 al 20%, no se presentaron diferencias significativas, no hubo presencia de microorganismos patógenos por lo que las características presentadas en el ensilado fueron adecuadas para ser utilizadas como suplemento alimenticio para organismos acuáticos. Para los análisis microbiológicos se utilizó el proceso de la Norma Oficial Mexicana (NOM-092-SSA1- 1994). (Spanopoulos , et al., 2010)

En la investigación estabilidad aeróbica y día óptimo de uso de ensilado biológico de pescado para la alimentación animal se aplicaron dos experimentos el primer experimento se realizó con el 10 y 20% de melaza, destapándose al 21 día de experimentación para determinar materia seca, proteína cruda, nitrógeno amoniacal, extracto etéreo, cenizas, pH, crecimiento de mesófilos aerobios, coliformes y salmonella en 0, 3,5 y 10 días después de anaerobiosis. (Belli, 2009)

La segunda experimentación empleo dos tratamientos uno con el 20% de melaza y el otro con el 15% de melaza y con 5% de yogurt de la misma manera que el proceso anterior se realizaron análisis de materia seca, proteína cruda, nitrógeno amoniacal, extracto etéreo, cenizas, pH, crecimiento de mesófilos aerobios, coliformes y salmonella en los días 0, 6, 9, 12, 15, 18, 24 y 30. Dando como resultado la pérdida del ensilaje con 10% de melaza, no cambió el pH. (Belli, 2009)

Para el ensilado de 20% de melaza y 5% de inóculo se conservó hasta el décimo día sin manifestar cambios de pH (4-5) materia seca superior al 30% extracto etéreo como mínimo 16.3% máximo 23.6% y cenizas 7.46 - 8.46%, el nitrógeno amoniacal subió de 174.3 a 226.9 en el día 10, sin signos de contaminación en cuanto a proteína cruda se redujo de 50.8 a 49.2%., el ensilado se puede utilizar desde el tercer día pues el pH está estable. (Belli, 2009)

En la investigación: Desarrollo de ensilaje de residuo de pescado utilizando bacterias lácticas del yogurt se utilizaron bacterias del yogurt (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophylus*) para producir fermento de residuos de pescado con sacarosa (azúcar de caña) a una temperatura de 40 °C por 48 horas o al ambiente de 18 °C a 28 °C por 7 días, fueron suficientes para producir una fuerte acidez (Areche, et al., 1989)

En este estudio se analizó la presencia de histamina, bases volátiles nitrogenadas, recuento de *Lactobacillus*, composición química y se efectuaron pruebas biológicas en cerdos. Valores de pH y acidez titulable de 3.26% permitieron mantener estable el ensilado por 6 meses, concentraciones de sacarosa entre 5% y 10% e inóculo entre 2,5% y 10,0% dieron buenos resultados. Las bacterias lácticas aumentaron de 106 col g-1 (Areche, et al., 1989)

Se encontraron niveles bajos de histamina y bases volátiles. El ensilado de pescado obtenido presentó una humedad 62.30%, proteínas en un 18.74%, grasa total, 11.46%, cenizas 5.17 % y carbohidratos 2.35% y cuando se agrega en la dieta de los cerdos en 10%, 20% o 30% mejora su crecimiento.

## **JUSTIFICACIÓN**

En la actualidad una gran cantidad de residuos se obtienen a partir de la actividad acuícola, dichos residuos generados constituyen: cabeza, cola, vísceras, piel y huesos estos poseen una fuente rica de proteínas, lípidos, minerales y vitaminas, por lo que es un recurso significativo, y una de las alternativas disponibles es la producción de ensilados biológicamente acelerados, siendo un producto de alta calidad nutricional y aceptable desde el punto de vista microbiológico y sensorial.

Desde el punto de vista ambiental el aprovechamiento de los residuos de la industria acuícola, evita la contaminación del medio ambiente por la putrefacción. Utilizando procesos de fermentación estimulada con bacterias lácticas y carbohidratos, se obtiene un producto acidificado estable, con buenas cualidades nutritivas y antimicrobianas y putrefactivas por lo que puede ser de gran utilidad en alimentación animal.

El ensilado puede ser utilizado en la alimentación de pollos, peces, ganado vacuno, cerdos, monos y otras especies de animales ya que estos tienen en su estructura proteínas de alto valor biológico y ácidos grasos, como el Omega 3, los residuos de pescado que son conservados en el ensilaje disminuyen los costos de producción animal, la materia prima para su elaboración es fácil de conseguir (residuos).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Elaborar un ensilaje biológicamente acelerado, a partir de vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) para alimentación animal.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar los residuos de vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) de la piscícola Cordero en el cantón Francisco de Orellana.
- Evaluar diferentes porcentajes de vísceras de tilapia como sustrato para el ensilaje biológicamente acelerado con un preparado microbiano.
- Efectuar una prueba biológica de campo con pollos broiler en etapa de engorde para determinar la aceptabilidad del producto.
- Determinar el Beneficio/Costo de esta tecnología.



# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Fermentación

En microbiología fermentación es un proceso en el que los microorganismos tienen la capacidad de producir metabolitos o biomasa al utilizar sustancias orgánicas en ausencia o presencia de oxígeno, la descomposición de los sustratos es provocada por la acción de las enzimas de los microorganismos. Algunos autores aseveran que no existe diferencia entre fermentación y respiración, ya que los microorganismos hidrolizan un sustrato orgánico, con o sin oxígeno. (Hernández , 2003)

Un proceso de fermentación, se compone básicamente de tres etapas: la preparación del inóculo, la selección del medio de cultivo y la producción de biomasa o de los metabolitos de interés. La numerosa cantidad de procesos y productos que se usan en la fermentación no solo hace dificultoso dar un concepto sino también su clasificación y entre una de ellas se realiza en base al producto final, la presencia (aeróbica) o ausencia de oxígeno (anaeróbica) (Hernández , 2003)

En la fermentación aerobia, el aceptor final de electrones es el oxígeno siendo indispensable su presencia para que el microorganismo pueda desarrollarse y se produzca el metabolito de interés, en este proceso se producen biomasa, CO<sub>2</sub> y agua. Para el caso de la fermentación anaerobia el metabolito se logra desarrollar en ausencia de oxígeno, los productos obtenidos son: ácido láctico, ácido propiónico, ácido acético, butanol, etanol y acetona. (Hernández , 2003)

Sin embargo, en la mayoría de las fermentaciones anaeróbicas, se requiere una pequeña cantidad de oxígeno al iniciar del proceso esto beneficia el crecimiento y la reproducción del microorganismo. En los procesos anaeróbicos, los microorganismos producen menor energía que en los aerobios y para reemplazar sus necesidades de energéticas, metabolizan una mayor cantidad de carbohidratos, por lo que elaboran más metabolitos. (Hernández , 2003)

Mediante la cantidad de oxígeno es posible la manipulación de un proceso fermentativo para aumentar el metabolito de interés. En la fermentación anaeróbica actúan dos sustancias orgánicas que son metabolitos de un mismo sustrato y durante el proceso de fermentación se dividen en dos sustancias orgánicas distintas: Sustancia reductora es la donadora los hidrogeniones por lo que oxida y la sustancia oxidante: acepta los hidrogeniones y por lo que se reduce. (Hernández , 2003)

Para los seres vivos, la fermentación constituye un proceso anaeróbico y en él que no actúa la cadena respiratoria, son proporcionadas por los microorganismos, como las bacterias y levaduras, la fermentación también se produce en el tejido muscular de los animales, cuando la participación de oxígeno a las células musculares resulta insuficiente para el metabolismo y la contracción muscular. (Hernández , 2003)

En la fermentación, los microorganismos oxidan los carbohidratos de la materia orgánica, proporcionando esqueletos carbonados y energía en forma de ATP para su crecimiento y liberan especialmente dióxido de carbono, amonio, nitrógeno y agua cuando es una fermentación aeróbica y cuando es anaeróbica liberan metano, bióxido de carbono, amoniaco, ácido sulfhídrico y nitrógeno e hidrógeno. Los procesos fermentativos se dividen en fermentación líquida (FEL) y fermentación en estado sólido (FES). (Ramírez , 2003)

### ***1.1.1 Tipos de fermentación por el producto que se obtiene***

#### ***1.1.1.1 Fermentación acética***

Es la fermentación bacteriana por *Acetobacter*, un género de bacterias aeróbicas que transforman el alcohol en ácido acético. La formación de ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) se produce por la oxidación de un alcohol por acción de la bacteria del vinagre en presencia de oxígeno. Estas bacterias con respecto a las levaduras productoras de alcohol requieren de abundante cantidad de oxígeno para su funcionamiento. (Paz, 2014)

#### ***1.1.1.2 Fermentación láctica***

La fermentación láctica es una ruta metabólica anaeróbica que se produce a nivel del citosol celular, en el que se oxida la glucosa obteniéndose energía y siendo el ácido láctico un producto de desecho. Este proceso es realizado por las bacterias lácticas, hongos, algunos protozoos. De igual manera se sucede en las células musculares cuando existe una deficiencia de oxígeno en los músculos a partir de ácido pirúvico (Paz, 2014)

### 1.1.1.3 Fermentación butírica

La fermentación butírica, es la transformación de los carbohidratos en ácido butírico mediante la acción bacteriana de la especie *Clostridium butyricum* esto se lleva a cabo en un ambiente anaeróbico. Originándose a partir de la lactosa del cual resultan como productos el ácido butírico y gas. Es característica de las bacterias del género *Clostridium*, es propio el apareamiento de malos olores. (Paz, 2014)

**Tabla 1-1:** Tipos de Fermentaciones de algunos microorganismos

Tipo de fermentación	Productos	Organismos
Alcohólica	Etanol + CO <sub>2</sub>	Levadura ( <i>Saccharomyces</i> )
Ácido láctico	Ácido láctico	Bacterias del ácido láctico ( <i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , etc)
Ácido mixto	Ácido láctico, ácido acético, etanol, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	Bacterias entéricas ( <i>Escherichia Salmonella</i> )
Butanodiol	Butanodiol, ácido láctico, ácido acético, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	Bacterias entéricas ( <i>Aerobacter</i> , <i>Serratia</i> )
Ácido butírico	Acetona butírico, ácido acético, CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub>	Algunos clostridios ( <i>Clostridium butyricum</i> )
Acetona - butanol	Acetona, butanol, etanol	Algunos clostridios ( <i>Clostridium acetobutylicum</i> )
Ácido propiónico	Ácido propiónico	<i>Propionibacterium</i>

Fuente: (Veloz, 2004)

## 1.2 Fermentación en estado sólido (FES)

La fermentación en estado sólido consiste en hacer crecer un microorganismo sobre un sustrato, utilizando una fuente de nitrógeno y sales mineralizadas que sean ricas en macro y micronutrientes, bajo ciertas condiciones de humedad, pH, aireación y temperatura. La fermentación en estado sólido no presenta agua libre en su composición, pero uno de los principales requerimientos es la humedad. (Borrás & Torres, 2016)

En los países desarrollados el avance en los procesos biotecnológicos en productos de alimentos para animales encontramos la FES aplicada para producción de enzimas fibrolíticas. (Onteru, et al., 2010). La FES, es un proceso llevado a cabo desde la antigüedad para la fabricación de pan, queso, y algunas bebidas, las aplicaciones a nivel industrial de los cultivos en estado sólido en las que se producen enzimas, ácidos orgánicos, toxinas, antibióticos y otros metabolitos. (Pastrana , 1996)

Los residuos agrícolas e industriales, constituyen una fuente de biomasa que se utiliza para la alimentación animal, la FES enriquece los residuos y los hace más digestibles para los animales, estos procesos de fermentación eran considerados de baja tecnología, en la actualidad son muy promisorios, no solo para la producción de alimento animal sino que se aplican en otros campos como farmacéuticos, bioremediación, biodegradación de compuestos peligrosos, etc. (Ajila, et al., 2012)

### ***1.2.1 Ventajas y desventajas de los procesos de fermentación en estado sólido***

#### ***1.2.1.1 Ventajas***

- Medios de cultivo simples: los subproductos agroindustriales que poseen un contenido alto de los nutrientes que se requieren para el proceso.
- Fermentadores menos espaciosos: los sustratos son más concentrados y no se ocupan grandes cantidades de agua.
- Baja actividad del agua: se evita contaminación principalmente de bacterias y levaduras
- Más facilidad de obtener y aplicar el inóculo
- Facilidad para el escalado de los procesos.
- Cantidades pequeñas de disolventes para la extracción de los productos.
- Mayor rendimiento comparado con los cultivos sumergidos.
- El proceso es simplificado: varios productos se usan de forma integral como alimento animal
- Poco riesgo de contaminación bacteriana: soportan la baja actividad de agua
- Elevada aireación: lo que hace a esta modalidad de cultivo especialmente adecuada a aquellos procesos que impliquen un metabolismo oxidativo intenso.
- Bajos requerimientos energéticos: no se requiere esterilizar, airear ni agitar.
- Ambiente similar al de los hábitats naturales de los microorganismos utilizados.
- Procesos de tecnologías limpias (Pastrana , 1996)

### 1.2.1.2 Desventajas

- Es necesario un pretratamiento de los sustratos (molienda y prehidrólisis parciales).
- Se aplica para microorganismos que se desarrollan en contenidos de humedad bajos.
- Los niveles de humedad óptimos se mantienen con dificultad
- La extracción del calor metabólico puede ocasionar inconvenientes cuando no hay control del proceso
- Ausencia de métodos analíticos simples para determinar el crecimiento microbiano.
- Agitación dificultosa en procesos que lo demanden.
- Para algunos procesos se requiere de inóculo voluminoso.
- La transferencia de masa es restringida por la difusión.
- Poca información de diseños de reactores y el escalado para la FES. (Pastrana , 1996)

## 1.3 Ensilado

El ensilado es un método que se utiliza para la conservación verde el pasto, desechos agroindustriales o de algunos alimentos como plátano, yuca, cítricos y el pescado. Posee una elevada cantidad de humedad de (65-70%), es una fermentación anaerobia controlada, con ausencia de luz y de la humedad exterior y mediante la acidificación del medio se logra mantener la estabilidad del compuesto del ensilado durante largos periodos de tiempo. (Valencia , et al., 2011)

El alimento que se desea ensilar, es comprimido para poder extraer el oxígeno y evitar su posible descomposición, de esta manera se distinguen una serie de transformaciones bioquímicas que permiten su conservación a través del tiempo gracias a la acción de las enzimas de los sustratos, que actúan en los procesos respiratorios y consecutivamente en el metabolismo bacteriano de los azúcares y proteínas del material ensilado. (Valencia , et al., 2011)

Una adecuada cantidad de bacterias lácticas y de glúcidos (solubles) se requieren para que se produzca una fermentación óptima, pero cuando hay poca cantidad de carbohidratos para evitar que se produzca un ensilaje de baja calidad se emplean algunos agregados para inducir y optimizar el proceso fermentativo entre estos encontramos: la melaza, cítricos (pulpa), el maíz triturado, como fuente de azúcares solubles que la bacteria utiliza para producir ácido láctico, esto produce un descenso del pH estabilizando el medio (Cárdenas, et al., 2004)

La introducción de enzimas para que actúen sobre el sustrato es otra forma de tener una fermentación óptima, lo que se consigue con la inoculación de bacterias lácticas es que aumenten la población bacteriana mejorando así el proceso fermentativo, las bacterias lácticas tienen propiedades antimicrobianas que inhabilitan el desarrollo de otras especies perjudiciales, lo que favorece la conservación del ensilado. (Cárdenas, et al., 2004)

Los azúcares cuando experimentan los efectos de la respiración anaerobia originan ácidos orgánicos los que se encuentran en el ensilado y son los ácidos acético, propiónico, butírico y láctico. Los tres primeros son volátiles y en conjunto son conocidos como ácidos grasos volátiles, mientras que el ácido láctico no se volatiliza sencillamente. El ácido acético es el responsable del olor y sabor a vinagre, y el ácido propiónico tiene propiedades similares. (Cárdenas, et al., 2004)

Mientras que el ácido butírico presenta un olor desagradable y es un indicador de la mala preservación de los ensilados. El ácido láctico posee sabor ácido que lo caracteriza pero es agradable. Al hacer el ensilado es pertinente que se elabore una cantidad considerable de ácido, pero también es importante que prevalezca el ácido láctico, y que el ácido butírico no se manifieste. (Cárdenas, et al., 2004)

### ***1.3.1 Proceso de fermentación del ensilado.***

La producción de ensilaje a través de la fermentación anaeróbica necesita de la presencia de microorganismos que producen ácido láctico y carbohidratos solubles en agua. En la degradación de los glúcidos los microorganismos se originan ácidos orgánicos (acético y láctico) que producen la reducción en el pH. La acidez evita la proliferación de microorganismos indeseables (coliformes, hongos, levaduras) y la pudrición o deterioro del subproducto. (Rodríguez, 2005)

En la fermentación anaeróbica de residuos orgánicos se pueden distinguir cinco fases:

- Consumo del oxígeno que se encuentra en el residuo orgánico mediante los microorganismos aeróbicos presentes en el material fresco.
- Proliferación y actividad de las bacterias que producen ácido acético y el inicio de la acidificación.
- Proliferación y actividad progresiva de las bacterias productoras de ácido láctico hasta estabilizar la biomasa.
- Inhibición del crecimiento de microorganismos no deseables para la fermentación por la acidez ocasionada por la producción continua de ácido láctico.
- Fase de Alimentación

Las tres primeras fases tienen una duración de tres a cuatro días, la cuarta fase dura alrededor de quince días. Cuando se logra obtener un pH menor de 4.5, el producto es almacenado sin alteraciones durante varios años siempre que predominen las condiciones anaeróbicas. En la fase de alimentación se debe realizar una evaluación de la estabilidad aeróbica del producto o el deterioro que sufre al exponerse al aire. (Rodríguez, 2005)

#### **1.4 Ensilado de pescado**

El ensilado de pescado es un producto semilíquido, que se realiza partiendo del pescado entero o de varias partes del mismo, se obtiene por acción de las enzimas proteolíticas su mayor actividad la ejecutan cuando el pH se reduce a valores cercanos a 4, cuando se ha producido o adicionado ácidos evitando la descomposición del producto. El ensilado se mantiene estable a temperatura ambiente, se puede almacenar por períodos mayores a 6 meses sin refrigeración (Bello , 1994)

En general el ensilaje de pescado se produce con residuos de pescado, que se conservan con ácidos (orgánicos o inorgánicos) o a través de la fermentación láctica de un sustrato de azúcares que se les agrega. No obstante en el ensilaje de pescado se produce cierta hidrólisis de las proteínas que forman péptidos y aminoácidos, el valor nutritivo de la materia prima se mantiene y es posible su utilización para suplir fuentes tradicionales de proteínas (Bello , 1994)

##### ***1.4.1 Clases de ensilado de pescado***

En el proceso de elaboración de un ensilado de pescado es indispensable la presencia de sustancias ácidas, éstas son esenciales para mantener buenas condiciones físico-químicas y microbiológicas del producto a obtener y hay dos formas de hacerlo. El ensilado químico que consiste en adicionar inicialmente los ácidos a la mezcla y el ensilado biológico que utiliza la capacidad de algunos microorganismos para producir sustancias ácidas cuando se provee una fuente de carbono que les permita actuar (ensilado biológico).

###### ***1.4.1.1 Ensilado químico.***

El ensilado químico se produce cuando son adicionados ácidos minerales y/o orgánicos al pescado o residuos de pescado. Los ácidos que han sido utilizados de manera individual son: el ácido fórmico  $\text{CH}_2\text{O}_2$ , sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , clorhídrico  $\text{HCl}$ , propiónico  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$  o se pueden agregar en compuestos en mezclas de acético  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ , metanoico y fosfórico  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ; metanoico y sulfúrico o propiónico y sulfúrico.

La materia prima es triturada, se le añade el o los ácidos y se combinan completamente para que las enzimas presentes puedan asimilarlo en las condiciones favorables del que el medio ácido les suministra. Es preferible la utilización de ácido fórmico para asegurar la conservación sin la bajada excesiva del pH, evitando la neutralización del ensilado antes de emplearse en la alimentación animal (Martínez, 2003)

#### *1.4.1.2 Ensilado biológico.*

Para el ensilado biológico o ensilado microbiano al que se agrega al pescado una fuente rica en carbono y un microorganismo que presente la capacidad de usar el sustrato para poder producir ácido láctico. Entre los distintos organismos productores de ácido láctico encontramos a *Lactobacillus plantarum*, *Hansenula montevideo*, que son las bacterias lácticas del yogur y en fermentos biológicos elaborados a partir de frutas y de hortalizas. (Areche, et al., 1989)

Un ensilado debe ser evaluado por su eficiencia y estabilidad mediante análisis físicos, químicos y microbiológicos como: acidez, cenizas, consistencia, presencia de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus.*, grasas, humedad, líquido exudado, nitrógeno no-proteico, número más probable de coliformes totales, coliformes fecales, pH, proteínas, recuento de microorganismos aerobios mesófilos, mohos, levaduras. (Bello , 1994)

#### **1.4.2 Procesos de acidificación y de hidrólisis del ensilado biológico de pescado**

Acidificación: es la reducción del pH por acción de los microorganismos ácido-lácticos, paralelo a esto se da el incremento de ácido láctico, el cual se sigue produciendo paulatinamente alrededor de 60 días, hasta alcanzar estabilidad por su mecanismo de auto control, estando en disponibilidad de continuar produciéndose ácido, cuando el pH aumente por acrecentamiento de compuestos nitrogenados, a causa del desarrollo de organismos distintos a los ácido-lácticos. (Martínez, 2003)

El sistema de auto control comienza con la producción de ácido por parte de los microorganismos cuando se generan bases volátiles o compuestos nitrogenados que incrementen el pH, la producción de ácido mediante los microorganismos hasta que la cantidad de ácido en el medio sea suficiente para reducir el pH a niveles cercanos a 4, y detener y/o controlar el crecimiento de las bacterias y por ende la producción de ácido.



La hidrólisis o licuefacción, producida por las enzimas proteolíticas contenidas en las vísceras del pescado, se puede determinar a través de su consistencia porque que se reduce a medida que aumenta la hidrólisis y el contenido de nitrógeno soluble. Se puede utilizar también de jugo de frutas para acelerar la fermentación. (Bello , 1994) Por esto es importante que la cantidad de azúcares agregada sea suficiente para que las bacterias lácticas puedan producir ácido (Martínez, 2003)

Es importante que el pescado este fresco porque de esta manera la velocidad de reducción del pH dará inicio donde se establece un mecanismo de competitividad entre las bacterias lácticas y los microorganismos descomponedores. Cuando hay mayor carga microbiana inicial de organismos que participan en el deterioro del pescado fresco, mayor debe ser la cantidad de bacterias lácticas que se deben inocular para asegurar un adecuado proceso.

Cuando son utilizadas las vísceras del pescado en la preparación del ensilado, se está beneficiando el fenómeno de hidrólisis, por la presencia de mayor cantidad de enzimas contenidas en las vísceras, pero manera paralela se agregan gran cantidad de microorganismos que son necesarios inhabilitar rápidamente. Por este motivo es recomendable el uso de pescados frescos y con vísceras para favorecer la velocidad del proceso de ensilado (Martínez, 2003)

La presencia de ácidos previenen la oxidación lipídica gracias a su acción antioxidante de vitaminas y de algunos otros nutrientes presentes en los ensilajes, Más del 90% del nitrógeno orgánico se solubiliza en ácido preservando el ensilaje de pescado. En los ensilados biológicos de pescado, podría solubilizarse aproximadamente del 60 a 70 %. El resultado del ensilaje líquido puede ser secado y mezclado con cereales u otras fuentes de carbohidratos. (Agudelo & Ortega , 2010)

De manera fácil se prepara la mezcla en distintas dietas para animales siendo de carácter ácido es posible garantizar la estabilidad del ensilaje, el pH y la temperatura de almacenamiento afectan las proteínas y los lípidos pese a los beneficios del ensilaje, otro factor que interfiere en la calidad del ensilaje es la adición o no de aditivos con esto se logra incrementar el contenido de materia seca y beneficiar la fermentación (Agudelo & Ortega , 2010)

### 1.4.3 Microflora del ensilado

La importancia de la microflora del ensilaje radica en la conservación, la microflora se divide en dos grandes grupos: los microorganismos benéficos y los microorganismos no deseables. Los microorganismos benéficos son las bacterias que producen ácido láctico (BPAL). Los indeseables son aquellos organismos que provocan el deterioro anaeróbico (clostridios y enterobacterias) o deterioro aeróbico (ej. levaduras, bacilos, *Listeria sp.* y mohos).

La microflora que predomina en las etapas iniciales de la fermentación son los de género *Enterobacteriaceae* (coliformes), que luego ante condiciones ideales es sustituido por *Leuconostoc* y *Streptococcus* y posteriormente por BPAL *Lactobacillus* y *Pediococcus*. Uno de los microorganismos más indeseables y cuya población se busca reducir mediante la fermentación ácido láctica es *Clostridia*. (Díaz , 2004)

#### 1.4.3.1 Enterobacterias

Son organismos anaeróbicos facultativos. La mayor parte de la *enterobacterias* que se encuentran en ensilados no son dañinos, sin embargo el crecimiento de estos organismos en el ensilado es perjudicial porque compiten con las BPAL por los carbohidratos, degradan las proteínas reduciendo del valor nutritivo, además producen compuestos tóxicos como aminas biogénicas y ácidos grasos de cadena múltiple teniendo un mal efecto sobre la palatabilidad del ensilaje (Oude, et al., 2001)

Las enterobacterias reducen el nitrato ( $\text{NO}_3$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2$ ), luego degradar el nitrito en amoníaco y óxido de nitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}$ ), y a su vez transformado en monóxido de nitrógeno ( $\text{NO}$ ) y nitrato. Con la presencia de oxígeno, el  $\text{NO}$  es oxidado dando origen a gases, óxidos amarillo-marrones de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}_3$ ,  $\text{N}_2\text{O}_4$ ).  $\text{NO}$  y  $\text{NO}_2$  los mismos que producen daños en el tejido pulmonar causando enfermedades con síntomas similares a la neumonía (enfermedad del ensilaje)

Es recomendable que los animales no se encuentren cerca del lugar de producción de ensilado para que no se expongan a estos gases del nitrógeno especialmente en las primeras semanas de almacenamiento. Pese a estos inconvenientes es de utilidad que exista una mínima reducción de nitritos, ya que los nitritos y el  $\text{NO}$  que se producen son inhibidores contra el desarrollo de los clostridios y de cierta manera mejoran el ensilaje (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.3.2 Bacterias productoras de ácido láctico

Los componentes BPAC asociados con el ensilaje pertenecen a los géneros: *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* *Pediococcus*, y *Streptococcus*. La mayor parte de ellos son mesófilos, crecen en temperaturas que varían de 5° a 50°C, siendo su desarrollo óptimo en temperaturas que van entre 25° y 40°C. Poseen la capacidad de disminuir el pH del ensilaje a valores cercanos a 4. (Oude, et al., 2001)

*Lactococcus* y *Streptococcus*: mayoritariamente son mesófilos, o sea que pueden crecer en un temperaturas que varían entre 5° y 50 °C, siendo su temperatura óptima de 25° y 40 °C. Son reductores del pH del ensilaje a valores entre 4 y 5, dependiendo de las especies y del tipo de forraje. Todos los miembros del BPAL son aeróbicos facultativos, pero prefieren condiciones anaeróbicas (Holzapfel, W. y Schillinger, U. 2002).

#### 1.4.3.3 Clostridia

El crecimiento de estas bacterias anaeróbicas formadoras de endosporas es perjudicial debido a que tiene la capacidad de fermentar carbohidratos para producir ácido butírico y CO<sub>2</sub>. Actúan en contra de la preservación, evitando la producción de ácido láctico, aumentando los niveles de pH y una mayor degradación de aminoácidos a una variedad de productos de poco valor nutricional de la misma manera que las endobacterias crean problemas al producir aminas biogénicas (Díaz , 2004)

Cuando existe la presencia de clostridios en el ensilaje la calidad de los productos animales es alterado como por ejemplo una alteración en la calidad de la leche porque las esporas logran sobrevivir al recorrer el tracto digestivo, esto se evidencia por la presencia de este microorganismo en las heces del animal esto puede terminar contaminando la leche de forma directa o indirecta por un mal aseo de ubres. (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.3.4 Levaduras

Estos microorganismos son aeróbicos obligados, por lo necesitan para su crecimiento la presencia de oxígeno o exposición aeróbica del material fermentado. Las levaduras crecen rápidamente y tienen la capacidad de fermentar carbohidratos, sobreviviendo a condiciones anaeróbicas y pH bajos ya que disponen de una fuente energética, en condiciones anaeróbicas las levaduras fermentan azúcares obteniéndose etanol y CO<sub>2</sub> (Oude, et al., 2001)

En condiciones aeróbicas, las levaduras degradan el ácido láctico transformándolo en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. La degradación del ácido láctico incrementa el pH del ensilaje, por lo que se desarrollan otros organismos no deseados. Su supervivencia en el almacenamiento depende de la fuerza de la anaerobiosis, la concentración de ácidos orgánicos y la presencia de oxígeno, mientras que un contenido elevado de ácido fórmico o ácido acético reducen la supervivencia. (Díaz , 2004)

#### 1.4.3.5 *Bacilos*

Son bacterias de forma cilíndrica, forman esporas son aeróbicos facultativos, producen fermentación en un sinnúmero de azúcares originando compuestos como ácidos orgánicos. Los bacilos son menos eficaces produciendo ácido láctico y acético comparado con el grupo BPAL, algunos *Bacillus spp.* Son capaces de producir sustancias fungicidas, y se los ha usado para inhibir el proceso de deterioro aeróbico en ensilajes. (Oude, et al., 2001)

Una gran cantidad de esporas de *Bacillus* suelen encontrarse en leche fresca, esto se relaciona con la presencia de esporas en heces frescas algunas especies de animales existe la posibilidad que las esporas de *Bacillus* sobrevivan el tracto digestivo y estén presentes en las heces fecales y que al mantener unas malas condiciones de asepsia de forma directa o indirectamente se termina contaminando la leche. (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.3.6 *Mohos*

Son organismos eucarióticos. La presencia de filamentos de diferentes colores son indicadores de que el ensilaje está contaminado. Para el desarrollo de los mohos es necesario que el ensilado se mantenga en contacto con oxígeno, inclusive solo trazas. Cuando se ha elaborado un buen ensilaje esto sucede solo en la fase de iniciación del almacenamiento y se delimita a la masa externa de la masa ensilada.

Las especies que se han identificado más continuamente en el ensilaje son de los géneros: *Absidia*, *Arthrimum*, *Aspergillus*, *Byssochlamys*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Monascus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Scopulariopsis* y *Trichoderma*. Los mohos reducen el valor nutricional y la palatabilidad del ensilaje, constituyen un riesgo para la salud animal y humana por sus esporas se asocian con afecciones pulmonares, alergias, molestias digestivas, daños al hígado y riñones, abortos (Oude, et al., 2001)

Algunos productores de micotoxinas son: *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti*, y *Byssoschlamys nivea*, *P. roqueforti* siendo esta última una especie ácido tolerante que se desarrolla en ambientes con escasez de oxígeno y con alta concentración de CO<sub>2</sub> es una especie que predomina algunos ensilajes. No todos los ensilajes contaminados por mohos tienen micotoxinas, y no todas micotoxinas aparecen en un ensilado contaminado. (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.3.7 *Listeria*

Son organismos aeróbicos o anaeróbicos, relacionados con efectos perjudiciales en la calidad del ensilaje. *L. monocytogenes* es el más importante de esta especie es anaeróbico facultativo y resulta patógeno para algunos animales y el hombre. Los animales que tienen su sistema inmune temporalmente inhabilitado (hembras en gestación y crías) se disponen más a infecciones de *L. monocytogenes*. (Oude, et al., 2001)

El ensilaje que se contamina con *L. monocytogenes* está relacionado con la mortalidad de ovejas y cabras por listeriosis, el uso de ensilaje de mala calidad produce contaminación de la leche cruda, el crecimiento y la sobrevivencia de *Listeria spp.*, en el ensilaje se da cuando no se asegura ambiente sin oxígeno, y por el valor pH del ensilaje ya que tolera pH bajos (3,8 - 4,2) por largos períodos siempre que exista oxígeno, aún a pequeñas cantidades. (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.3.8 *Bacterias productoras de ácido acético*

Estas bacterias son ácido tolerantes y aeróbicas obligatorias. Todas las bacterias productoras de ácido acético que se han encontrado en un ensilaje contaminado son al género *Acetobacter.*, Y su actividad resulta perjudicial puede iniciar una deterioración aeróbica, ya que puede oxidar el lactato y el acetato produciendo CO<sub>2</sub> y agua. Cuando se aplican inhibidores para levaduras se incrementa el crecimiento de bacterias productoras de ácido acético. (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.4 *Aditivos*

La utilización de aditivos en ensilado, tiene como finalidad crear las condiciones óptimas que mejoren su conservación y el valor nutricional del alimento. Un aditivo debe de fácil manejo y segura, no debe incrementar la producción de efluente, optimar la higiene del ensilado impidiendo el crecimiento de microorganismos no deseados, limitar las fermentaciones secundarias, potenciar su estabilidad, incrementar el valor nutritivo.

#### 1.4.4.1 Aditivos que inhiben el proceso de deterioro aeróbico

Es necesario la inhibición de la actividad microbiana aeróbica, y principalmente de aquellos que inician este deterioro (bacterias y levaduras que producen fermentación acética). Algunos aditivos que cumplen estos requisitos son: varios ácidos grasos volátiles, (propiónico y el acético), y otros de tipo biológico, provenientes de microorganismos como lactobacilos y bacilos que son capaces de producir bacteriocinas (McDonald, et al., 1991)

Los ácidos sórbico y benzoico actúan como antibióticos. *Lactobacillus buchneri* es un supresor del deterioro aeróbico, tiene la capacidad de degradar bajo condiciones anaeróbicas, el ácido láctico en ácido acético y 1,2-propanodiol, lo que reduce las colonias de levaduras. Los ácidos grasos volátiles, como propiónico y acético tienen más capacidad de inhibir las colonias de levaduras que el ácido láctico, y que mezclas de ácido láctico y propiónico o acético muestran efectos combinados en su poder inhibidor (Oude, et al., 2001)

#### 1.4.4.2 Aditivos usados como nutrientes o como absorbentes

Algunos cultivos no poseen las cantidades adecuadas de nutrientes para la alimentación animal. Al reemplazar estos déficits con aditivos al momento de realizar el ensilaje se produce un incremento el valor nutritivo. Los aditivos que se emplean para este fin son: amoníaco y urea los que incrementan el contenido en proteínas y dan estabilidad aeróbica, la cal y el MgSO<sub>4</sub> que incrementan el contenido de calcio y magnesio. (McDonald, et al., 1991)

Los absorbentes son empleados para forrajes con bajo contenido en materia seca para evitar pérdidas de nutrientes provocadas por un escurrimiento excesivo del ensilaje. La pulpa seca de remolacha azucarera y la pulpa de varios cítricos han generado excelentes resultados. El uso de paja es de mucha utilidad pero tiene el efecto negativo básicamente en el valor nutritivo del ensilaje. (McDonald et al., 1991)

Los productos azucarados son rápidamente utilizados por las bacterias lácticas que por hidrólisis la transforma en ácido láctico. El azúcar más utilizado es la melaza, 50% de sacarosa; lacto suero en polvo, subproducto de la fabricación de quesos que contiene entre un 50% - 75% de azúcares. La pulpa seca de remolacha es otra opción que posee una alta capacidad de retener líquidos lo que produce un incremento del contenido en materia seca.

#### 1.4.4.3 Combinaciones de aditivos

Entre las combinaciones más utilizadas como aditivos se encuentran las inoculantes que incitan la fermentación láctica. Los inoculantes microbianos para ensilaje son seleccionadas bacterias con capacidad de producir ácido láctico (BPAL), las que se dividen en dos grupos dependiendo de cómo fermentan los hidratos de carbono: BPAL homofermentativas y BPAL heterofermentativas

BPAL homofermentativas producen principalmente ácido láctico y conjuntamente con enzimas liberan algunos carbohidratos, o combinaciones que permiten la fermentación y deterioro de sustancias inhibitoras como el ácido fórmico, sulfitos y ácido propiónico. Entre las BPAL homofermentativas encontramos a: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Pediococcus spp.* y *Enterococcus spp.* (Rider, 1997)

Las bacterias heterofermentativas producen ácido acético, ácido láctico, CO<sub>2</sub>, etanol y, estas bacterias disminuyen el pH, reduciendo las pérdidas de materia seca a un nivel pequeño, reduciendo la proteólisis (ruptura de proteínas) y formación de NH<sub>4</sub>, incrementando ácido láctico y digestibilidad de la materia seca. Una reducción rápida en el pH también puede inhibir bacterias de *Clostridia* que producen ácido butírico. (Contreras & Muck, 2006)

El ácido láctico disminuye el pH con mayor rapidez, y actividad enzimática se reduce, inhabilitando otras bacterias. Sin embargo, el ácido acético es un mayor inhibidor de levaduras y mantiene más estabilidad aeróbica que el ácido láctico. Las bacterias homofermentativas tienen el potencial de optimizar el desempeño animal, entre las BPAL encontramos a *Lactobacillus buchneri*. (Contreras & Muck, 2006)

Los simbióticos son productos alimenticios que están constituidos de una manera combinada por probióticos y prebióticos, estos interactúan simultáneamente regulando la microflora del intestino del consumidor. Un prebiótico es un azúcar (fibra soluble), que no es digerido en el intestino delgado y que en el colon estimula el crecimiento de poblaciones bacterianas beneficiosas de la microflora entre las cuales se encuentran bifidobacteria y lactobacilos. (Gotteland, 2010)

Los probióticos, son microorganismos inofensivos que se seleccionan mediante sus propiedades específicas, los mismos que al ser incorporados en los alimentos y una vez que son ingeridos, poseen la capacidad de subsistir en el tubo digestivo donde su función primordial es la regularización de la microflora intestinal y realizan sus actividades favorables. El uso de probióticos es común en muchos alimentos que mejoran la digestión (Gotteland, 2010)

## **1.4.5 Elaboración del ensilaje**

### **1.4.5.1 Materia prima**

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 según Díaz 2004. Se pueden utilizar diversos tipos de carbohidratos para la producción de ensilado entre los cuales están: mieles de caña, subproductos de cereales y yuca (Bermudez, et al., 1999) , y otros como salvado de arroz, ahechaduras de trigo, papas, harina de maíz, (Bello , 1994)

**Melaza:** conocida también como miel de caña se obtiene del proceso final de refinación de sacarosa originaria de la caña de azúcar, es un líquido denso de gran viscosidad posee una coloración oscura, es una de las fuentes de energía más utilizadas la producción de alimentos concentrados para animales. Su aplicación en la elaboración de ensilajes se debe a que la melaza es una mezcla de azúcares fermentadores como sacarosa, glucosa o dextrosa, fructosa y rafinosa (Leroy & De Vust, 2004)

Los azúcares fermentables de la melaza quedan disponibles para las bacterias lácticas, estos azúcares conforman del 48 al 53,5% o más de azúcares totales, esto va a depender exclusivamente del grado de purificación. La melaza como fuente de carbono se ha utilizado en diversas investigaciones como principal fuente de energía para la aceleración de procesos fermentativos en ensilajes de pescado (Díaz , 2004) La clasificación de melaza según el porcentaje de materia sólida en peso o grados brix que se la lleva a cabo así:

- Melaza Blackstrap: resulta subproducto de elaboración del azúcar, cuyo porcentaje de materia sólida en peso (grados brix), diluido con igual peso de agua es de 42.5 grados brix
- Melaza de caña alimenticia es la mezcla blackstrap diluida con agua hasta una concentración en grados brix, que no es menor a 39.75: a este producto no se le ha especificado un grado de concentración de azúcares
- Melaza high test o jarabe invertido es el producto obtenido por la concentración del jugo clarificado hasta un porcentaje de materia sólida en peso de 85% e invertido con ácido o con invertasa. (Fajardo & Sarmiento, 2007)



Las normas mexicanas ENMX-F-274-1984. DETERMINACIÓN DEL GRADO BRUX EN MUESTRAS DE MELADURA; MASAS COCIDAS; MIELES "A" Y "B" DE REFINERIA Y MIEL FINAL. POR MÉTODO HIDROMÉTRICO señalan que en caso de dilución se debe multiplicar por dos el valor obtenido, para poder calcular el grado Brix corregido a una temperatura de 293K (20°C), de la muestra sin diluir.

**Vísceras de pescado** Las vísceras de pescado de agua dulce constituyen del 5 -11% del peso corporal. Su composición química promedio es 67% agua, 10% proteína, 14% extracto etéreo y 3% minerales. El ensilaje de vísceras de pescado se ha venido utilizando como alternativa para conservar los subproductos del pescado, los cuales tienen uso potencial como fuente de proteína en dietas alimenticias de animales (Bermudez, et al., 1999)

Este proceso consiste en estabilizar desechos de pescado y/o pescados enteros de bajo valor comercial, mediante la adición de ácidos orgánicos, inorgánicos, sal, mezclas de ellos o fermentación bacteriana por medio de una fuente de carbohidratos La presencia de ácidos orgánicos o minerales aumentan la fermentación láctica y desciende del pH, el cual inhibe el crecimiento de bacterias, permitiendo el almacenamiento del ensilado por tiempos prolongados

**Inóculo o fermento.** Resulta ser un preparado microbiano el mismo que se incorpora a un material crudo para producir alimentos fermentados a través de condiciones controladas (Leroy & Vuyst, 2004). Por lo que las bacterias productoras de ácido láctico ocupan un papel importante en la industria, pues se encuentran amplios registros de consumo en la elaboración de alimentos y bebidas fermentadas (Leroy & De Vust, 2004)

En este estudio se utilizó un producto simbiótico el S3 que se obtuvo de una investigación previa denominada “Formulación, producción y caracterización de tres simbióticos nativos destinados para la alimentación animal” puesto que demostró ser el mejor y que posteriormente fue citada por Noboa (2015) en la investigación titulada “Caracterización fermentativa, bioquímica y microbiológica de un preparado microbiano nativo con potencial uso en animales domésticos”

La composición del Simbiótico S3 fue elaborado mediante la combinación de algunas fuentes naturales de microorganismos como son: suero de leche 16%, yogurt 1% y jugo de caña 16%, más la añadidura de cuatro ingredientes urea 1%, sal mineral 1%, sulfato de amonio 0.02% y agua 62.8%. Hubieron variaciones de pH que inició con 6,30 en 24 horas descendió a 5,54, en 48 horas bajó a 4,08 en 72 horas disminuyó a 3,92, y para las 96 horas bajó a 3,90.

Generalmente, el crecimiento bacteriano se da a (pH 7,0), con excepción de las bacterias lácticas que presentan resistencia a pH ácidos. Sin embargo, mayoritariamente los hongos filamentosos y levaduras prefieren pH ácidos, de alrededor de 5,0. La ácido-tolerancia que presentan concede una ventaja con respecto a las fermentaciones con hongos, ya que el riesgo de contaminación bacteriana es bajo.

**Afrecho de trigo** es un coproducto de la industria molinera el grano de trigo. Los subproductos del trigo poseen gran cantidad de proteínas y minerales más que el grano, pero contienen más fibra. El grano se suele moler de manera industrial y se extrae numerosos subproductos que se utilizan en la alimentación animal. Las diferencias entre el afrecho, afrechillo de trigo suele ser el tamaño de la partícula inclusive muchas veces el afrecho y afrechillo se lo mezcla con harina de trigo.

**Tabla 1-2:** Requisitos óptimos de los subproductos de trigo

Requisitos	Unidad	Salvado		Salvadillo		Muyuelo		Germen		Método de ensayo
		Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	Min.	Max.	
Humedad	%	-	13.5	-	13.5	-	13.5	-	13.5	INEN 540
Proteína Cruda	%	14	-	14	-	16	-	22	-	INEN 543
Fibra cruda	%	-	12	-	10	-	6	-	4	INEN 542
Grasa cruda	%	-	-	-	-	-	-	6	-	INEN 541
Cenizas	%	-	8	-	6	-	4	-	10	INEN 544

Fuente: FEDNA 2011

**Ácido ascórbico** es un aditivo alimenticio actúa como antibiótico evita el crecimiento de mohos y levaduras especialmente en la etapa de almacenamiento ya que estos organismos son capaces de desarrollarse en condiciones extremas de pH, el ácido ascórbico también actúa como antioxidante de productos alimenticios (Martínez, 2003)

#### 1.4.5.2 Proceso de ensilaje biológico

El espacio en el que se va realizar el proceso dependerá si se desea elaborar el ensilaje artesanal o el ensilaje industrial, el primer paso es el eviscerado de los pescados y su respectiva molienda o troceado, el tamaño de la partícula debe ser inferior a los 10 mm de diámetro el corte del pescado una vez realizado la molienda y/o el troceo, se procede a mezclarlo con el inóculo y el sustrato en un recipiente adecuado donde se mantiene cerrado durante el proceso fermentativo (Martínez, 2003)

Para el caso de pescados grasos y frescos se hace proceso de licuado rápidamente mientras que los desperdicios tardan mucho más debido a la estructura la temperatura es un factor primordial para acelerar este proceso si hay una temperatura de 25 °C, podrá tardar de 2 días pero si la temperatura es de 15 °C se tardará 5 a 10 días. Cuando se desea acelerar el proceso de producción la temperatura ambiente debe incrementarse para ello se debe proveer de calefactores (Martínez, 2003)

#### 1.4.5.3 Características de un buen ensilaje de pescado

**Tabla 1-3:** Evaluación organoléptica de los ensilados

Atributo	Bueno	Regular	Inaceptable
Olor	Acido suave	Picante penetrante	Pútrido rechazable
Color	Amarronado ó grisáceo claro	Amarronado ó grisáceo claro - oscuro	Gris oscuro negruzco
Consistencia	Líquida	Líquida pastosa o licuada	pastoso

Fuente: (Bertullo, 1989)

**Tabla 1-4:** Evaluación sensorial de la calidad de ensilados biológicos con desechos del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y desechos del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp.*).

Ensilado	Olor	Color	Consistencia
Atún aleta amarilla ( <i>Thunnus albacares</i> )	Dulce acido con suave olor aceite de pescado	Marrón con gris (tono oscuro)	Pastosa con poco líquido en la base de la pasta
Tilapia ( <i>Oreochromis sp.</i> )	Ligeramente picante	Canela (tono gris)	Pastosa con líquido en la base de la pasta

Fuente: (Spanopoulos, et al., 2010)

En cuanto al análisis proximal del ensilado de Tilapia (Spanopoulos , et al., 2010) describe que el porcentaje de humedad de  $66,77 \pm 0,45$ , el porcentaje de proteína cruda  $8,92 \pm 0,76$ , el porcentaje lípidos crudos  $5,93 \pm 0,17$ , el porcentaje de fibra cruda  $0,14 \pm 0,01$ , el porcentaje de cenizas  $3,34 \pm 0,13$ , el porcentaje Extracto Libre de Nitrógeno 15,5 el pH varía de 4.53 a 5, el ácido láctico 1,10 - 2,16 .

#### ***1.4.6 Ensilado de pescado en la alimentación animal***

Uno de los factores de mayor importancia en la producción animal constituye su alimentación la que representa entre el 50 y 80% de los costos variables de producción (Berenz, 1994) el alto costo productivo es causado por el costo de las fuentes proteicas (Díaz , 2004) una de las formas de economizar la productividad es la reutilización de productos que son desechados como es el caso del uso de las vísceras de pescado (Díaz , 2004)

El ensilado de residuos de pescadería ha sido incorporado con grandes ventajas como suplemento proteico en dietas de rumiantes y no rumiantes donde hay poca disponibilidad de fuentes proteicas (Gonzales & Marín, 2005) El uso de ensilaje de pescado como recurso al abastecimiento de proteínas en las dietas de rumiantes, demostraron que los bovinos de carne y leche pueden degradar la proteína que se encuentra en el pescado, y el ensilaje de pescado se puede actuar como sustituto de leche para ovinos sin tener efectos adversos. (Díaz , 2004)

El estudio realizado en Venezuela acerca de la utilización de ensilaje de pescado como un sustituto alternativo de proteína en la dieta de pollos de engorde y este comparó satisfactoriamente con la harina de pescado demuestra que mediante pruebas biológicas de aceptabilidad se observó que los pollos tuvieron mayor acogida a las dietas que contenían hasta el 50% de introducción de ensilaje en su alimento habitual (Bello , 1994).

Díaz (2004) en su estudio concluye que los aves de engorde que han sido alimentados con ensilaje de pescado tuvieron un incremento en su masa corporal cuando se agregó en su dieta alimenticia habitual de un 5 % a un 20% de ensilaje de pescado y en su análisis final manifiesta que el ensilado de pescado puede dar resultados equivalentes a los que se han obtenido con la incorporación de harina.

La evaluación favorable de diferentes subproductos de la actividad pesquera (residuos de pescado y cangrejos) en los ensilados producidos a partir de los restos y que han sido utilizados como suplementos proteicos en corderos alimentados con heno de gramíneas lo que nos muestra su alto potencial en la industria animal, ya que fueron de gran aceptación y se produjo el incremento de peso en los corderos (Samuels , et al., 1991)

El ensilado de vísceras de pescado (*Piaractus brachyponum*) es posible realizarse debido a que resulta beneficioso económicamente y su calidad es buena. Se utiliza a partir del día 15 de maduración hasta el día 70. En dietas de engorde de cerdos a base de aceite crudo de palma, se sustituye de la proteína de la torta de soya, entre 50 y 75% .El sistema peces-cerdos ofrece ventajas de carácter económico, ambiental y social (Bermudez, et al., 1999)

### **1.5 Tilapia roja (*Oreochromis mossambicus*).**

La tilapia roja es un tetrahibrido, resultante del cruce híbrido entre cuatro especies del genero *Oreochromis*: *O. mossambicus*, *O. niloticus*, *O. hornorum* y *O. aureus*. Dentro del Género *Oreochromis*, espontáneamente emerge la tilapia roja como una alteración albina en un cultivo artesanal de tilapia *Oreochromis mossambicus* que usualmente presenta color negro cerca de Taiwán en el año de 1968 (Castillo, 2006)

Las tilapias son peces extravagantes de gran aceptación en la actividad piscícola en todo el mundo, Son excelentes para ser incorporados en la dieta alimenticia, su carne posee textura suave y poca materia ósea, se desarrollan en ambientes naturales y artificiales, la sobrevivencia la pueden realizar en aguas salinas de 0 a 27 partes por millón, es decir desde aguas continentales hasta aguas oceánicas (López, 2002)

La tilapia roja (*Oreochromis sp*), pertenece a la familia de los Ciclidos, su origen es africano y del Cercano Oriente, residen mayoritariamente en las regiones tropicales a nivel mundial. En América su cultivo se extiende desde de los Trópicos de Cáncer en México, el Caribe hasta llegar al Trópico de Capricornio en el río de la Plata en Argentina. Los principales países productores en 2010 fueron China, Egipto, Indonesia, Filipinas, Tailandia y Brasil. (Castillo, 2006)

### 1.5.1 *Biología de la Especie*

**Tabla 1-5: Taxonomía de la tilapia**

<b>Reino</b>	Animal
<b>Phylum</b>	Vertebrata
<b>Subphylum</b>	Craneata
<b>Superclase</b>	Gnostomata
<b>Serie</b>	Piscis
<b>Clase</b>	Teleostomi
<b>Subclase</b>	Actinoptergii
<b>Orden</b>	Peciformes
<b>Suborden</b>	Percoidei
<b>Familia</b>	Cichlidae
<b>Género</b>	<i>Oreochromis</i>
<b>Especie</b>	<i>Oreochromis sp</i>

Fuente: (Pallares & Borbor, 2012)

#### 1.5.1.1 *Características de la especie*

Las tilapias en la adultez pueden pesar 1000 a 3000 g. La edad de madurez sexual en los peces es diferente dependiendo de su sexo, en los machos es de 4-6 meses, en las hembras es de 3-5 meses. La determinación del sexo es sencilla a través de una simple inspección visual se observa que en el macho posee 2 orificios que son la papila urogenital (no se aprecia en ciertos ejemplares) y el ano, en las hembras se presencian 3 orificios que son el urinario, papila genital y ano. (López, 2002)

#### 1.5.2 *Requerimientos del medio ambiente para el cultivo de tilapia.*

La temperatura que requieren las tilapias en un cultivo es del rango 22°C a 33°C sin embargo la temperatura óptima tiene una fluctuación entre 28 a 32°C. Los cambios de temperatura intervienen de forma directa la tasa metabólica, cuando mayor es la temperatura, de igual manera se incrementará la tasa metabólica aumentando el consumo de oxígeno (Poot et al., 2009).

El cultivo requiere un pH que puede variar de 6.5 a 9, el pH se refiere a la concentración de iones de calcio y magnesio. Comúnmente se mide como la concentración de carbonato de calcio del estanque promedio de 7,5 para que favorezca el desarrollo de la productividad natural del estanque mientras tenga una mayor estabilidad el pH, mejores condiciones se propiciarán para la productividad natural, la misma que constituye una fuente importante de alimento en estanques (Poot & Novelo , 2009).

Oxígeno Disuelto que se requiera está por sobre los 4,5 mg/L. razón por la que si se manifiestan en rangos menores de oxígeno se evidenciarían las consecuencias como los peces pequeños sobrevivirían en cortos períodos. 0,3-2,0 Mortal en exposiciones prolongadas. 3,0-4,0 los peces sobreviven pero su desarrollo lo hacen de manera lenta. >4,5 Rango óptimo para el crecimiento del pez. (Poot & Novelo , 2009).

Es necesario tomar en consideración la disponibilidad del agua, el caudal y la calidad de la fuente se recomienda hacer recambios de agua que puede ser continuo o bajando el nivel del agua entre 30 y 40 cm para reponerla con agua nueva, se debe obtener un color verde claro en el agua (Poot & Novelo , 2009). Se refiere a la concentración de iones de calcio y magnesio. Comúnmente es medido como la concentración de carbonato de calcio. El rango de dureza para tilapia es de 20 - 200 mg/lt.

### ***1.5.3 Ensilaje de vísceras de Tilapia roja como alimento para pollos en etapa de engorde***

En el estudio titulado “Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en alimentación de pollos de engorde” presentado por (Gomez , et al., 2014) señala que el mayor costos de producción, se debe a la alimentación por lo que se planteó como objetivo, evaluar el efecto de la inclusión del ensilaje biológico de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp*) en la alimentación de pollos de engorde durante la etapa de iniciación.

Se utilizó un diseño completamente al azar, que incluyó cuatro tratamientos con cuatro réplicas por cada tratamiento y 8 pollos por repetición. Los niveles de inclusión que se agregaron en la dieta alimenticia fueron 0%, 10%, 20% y 30%. Registrándose el consumo alimenticio, incremento de peso, conversión alimenticia y el análisis económico. En la etapa de iniciación, se presentaron diferencias estadísticas ( $p>0,05$ ), para el consumo de alimenticio.

En la etapa de finalización, no se incluyó ensilaje, por lo que no existieron diferencias significativas, en cuanto al análisis económico, se determinó que en la medida que se aumenta el nivel de inclusión de ensilaje, se reducen los costos de producción, hasta en un 22,2%.



## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1 Lugar de estudio

La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Ambiental LABIMA de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicado en el km 1 ½ de la Panamericana sur, ciudad de Riobamba. El trabajo de campo se lo realizó en la Piscícola “Cordero” en el Cantón Francisco de Orellana Provincia Orellana.

Los análisis microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Ambiental LABIMA de la Facultad de Ciencias Pecuarias, los análisis de ácidos orgánicos se realizaron en el laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, los análisis bromatológicos se enviaron a analizar al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP. Estación Experimental Santa Catalina Panamericana Sur Km. 1 vía Tambillo, Cantón Mejía, Provincia de Pichincha

**Tabla 2-1:** Condiciones meteorológicas de la ESPOCH y de Francisco de Orellana

<b>ESPOCH – RIOBAMBA Estación meteorológica ESPOCH (2017)</b>	
<b>PARÁMETRO</b>	<b>PROMEDIO</b>
Altitud	2754 msnm
°Humedad relativa	70,2 %
Precipitación	97,1 mm
Temperatura	14,2 °C
<b>FRANCISCO DE ORELLANA GADPO 2017</b>	
<b>PARÁMETRO</b>	<b>PROMEDIO</b>
Altitud	270msnm
Humedad relativa	70,5%
Precipitación	42,2 mm
Temperatura	27,5°C

Fuente: CALVA Irene (2017)

## **2.2 Hipótesis y Especificación de variables**

### **2.2.1 Hipótesis general**

- Mediante fermentación en estado sólido asistida por un preparado microbiano es factible producir ensilado de vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) apto para alimentación animal

### **2.2.2 Hipótesis Específicas**

- Los análisis de los residuos de vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) de la Piscícola Cordero de la Provincia de Orellana permiten determinar la calidad de la materia prima para elaborar el ensilaje.
- Al utilizar diferentes niveles de vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) como sustrato para el ensilaje biológicamente acelerado con un preparado microbiano permite determinar la cantidad adecuada para la formulación del ensilado.
- La prueba biológica de campo en pollos de engorde determina la aceptabilidad del producto
- Esta tecnología genera un índice beneficio costo mayor a 1.

## **2.3 Variables**

### **2.3.1 Variables dependientes**

- Calidad del ensilado
- Características del proceso
- Aceptabilidad del producto en pollos de engorde
- Costo de producción

### **2.3.2 Variables independientes**

- Niveles de sustrato (vísceras de tilapia) porcentaje utilizado para la elaboración del ensilaje.

## 2.4 Tipo y diseño investigación

Por el tipo de investigación: Aplicada, porque tiene un fin directo el cual plantea elaborar un ensilaje biológicamente acelerado a partir de los residuos pesqueros de la tilapia roja (*Oreochromis mossambicus*) utilizando específicamente las vísceras, dicho producto se utiliza como suplemento para alimentación animal en este caso para alimentación de pollos broiler en etapa de engorde.

Por la temporalidad: Longitudinal, porque a lo largo de la investigación se recolectaron datos en períodos de tiempo determinados, los mismos que favorecen la evaluación de los procesos para hacer inferencias respecto a la reutilización de residuos pesqueros, los niveles de sustrato para elaborar el ensilado, pruebas de campo para determinar la eficiencia del ensilado.

Por el tipo de enfoque: Cualitativo y Cuantitativo. Cualitativo porque se recolecto datos sin medición como cualidades organolépticas. Cuantitativo porque se recolecto datos físicos, químicos, microbiológicos.

Por el diseño de investigación: Experimental. Se empleó el método estadístico Duncan (Test de comparaciones múltiples) para las pruebas de laboratorio en las formulaciones del ensilado y para determinar la aceptación del mejor ensilado elaborado a escala artesanal y en las diferentes dietas aplicadas para alimentación de pollos en etapa de engorde.

## 2.5 Unidad de Análisis.

**Tabla 2-2:** Formulación y tratamientos del ensilaje de vísceras de tilapia

Tratamiento	Formulación	Réplicas
F1 ensilado de pescado	60 % vísceras de tilapia + melaza + de inóculo + afrecho de trigo + ácido ascórbico	Ensilaje F1 R1 Ensilaje F1 R2 Ensilaje F1 R3
F2 ensilado de pescado	70 % vísceras de tilapia + melaza + inóculo + afrecho de trigo + ácido ascórbico	Ensilaje F2 R1 Ensilaje F2 R2 Ensilaje F2 R3
F3 ensilado de pescado	80 % vísceras de tilapia + melaza + inóculo + afrecho de trigo + ácido ascórbico	Ensilaje F3 R1 Ensilaje F3 R2 Ensilaje F3 R3

Realizado por: CALVA Irene (2017)

En la tabla 2-2: Formulación y tratamientos del ensilaje se describe la cantidad de vísceras de tilapia utilizadas en el proceso de elaboración del ensilado, se realizaron 3 réplicas para cada tratamiento con la finalidad de determinar mediante análisis la mejor formulación, para posteriormente realizar una prueba biológica en campo con pollos en etapa de engorde.

**Tabla 2-3:** Unidad de análisis de prueba en campo del ensilaje en pollos de engorde en la sexta y séptima semana

Formulación	Proporción	Unidades
Testigo	-	30 unidades separados en bloques de 10 unidades
F1	90:10	30 unidades separados en bloques de 10 unidades
F1	80:20	30 unidades separados en bloques de 10 unidades
<b>Total</b>		90 unidades pollos broiler en etapa de engorde

Realizado por: CALVA Irene (2017)

En la tabla 2-3: Unidad de análisis de prueba en campo se describen las unidades de especies avícolas que se utilizaron para determinar el incremento de peso en el período de 15 días (etapa de engorde), aplicando una prueba testigo, y dos pruebas de F1 (el mejor ensilaje) utilizando las proporciones de 90:10 siendo: el 90% de balanceado comercial y 10 % de ensilaje y 80:20 siendo: el 80% de balanceado comercial y 20 % de ensilaje.

## 2.6 Población de Estudio

En este proceso se elaboraron 3 tratamientos en los que se utilizaron diferentes porcentajes de vísceras de tilapia, melaza, ácido ascórbico, afrecho de trigo, inóculo. Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento tomando muestras de cada tratamiento respectivamente, se utilizaron 90 pollos broiler de los cuales se dividieron 30 para aplicar cada dieta y divididos en bloques de 10 unidades.

## 2.7 Tamaño de Muestra

Muestras de 500 g por cada tratamiento para los análisis bromatológicos, 200 g para análisis microbiológicos y organolépticos, y 200 g para análisis fisicoquímicos

## 2.8 Selección de Muestra

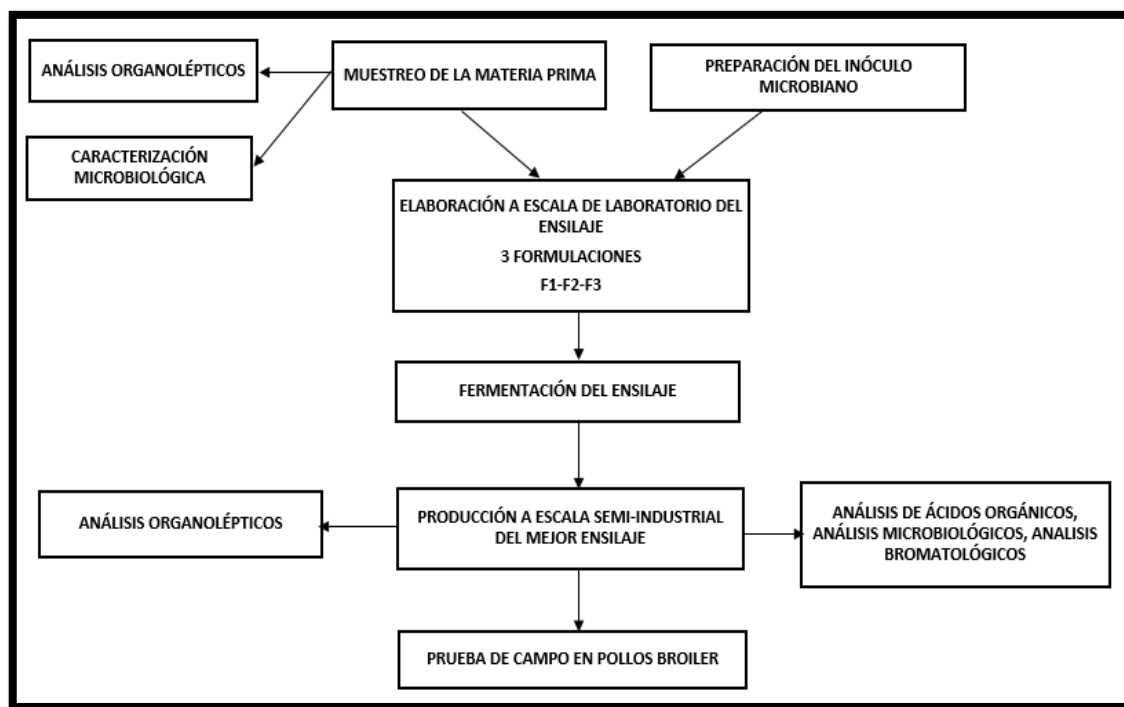
Una vez elaborado el ensilaje se procedió a abrir las bolsas plásticas y se tomó una muestra desde el centro de la bolsa, este procedimiento se aplicó para las 9 fundas que contenían el ensilaje y las muestras que se tomaron fueron colocadas en fundas ziploc previamente rotuladas, obteniéndose un total de 9 muestras las mismas que fueron trasladadas al laboratorio en una caja refrigerada para su respectivo análisis.

## 2.9 Técnicas de recolección de datos

### 2.9.1 Material biológico (inóculo)

El material biológico estuvo conformado por el simbiótico 3 que se obtuvo en el laboratorio de biotecnología animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, se utilizó un preparado microbiano nativo que se obtuvo en una investigación realizada por Noboa (2015) titulada “CARACTERIZACIÓN FERMENTATIVA, BIOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE UN PREPARADO MICROBIANO NATIVO CON POTENCIAL USO EN ANIMALES DOMÉSTICOS”.

## 2.10 Métodos y técnicas.



**Figura 2-1:** Diagrama general del proceso de ensilaje de vísceras de tilapia

Realizado por: CALVA Irene (2017)

### ***2.10.1 Muestreo de la materia prima – vísceras***

#### **Materiales**

- Caja térmica
- Guantes de látex
- Mascarilla
- Funda ziploc
- Pala de jardín
- Gel refrigerante
- Red

#### **Método**

Utilizando una red se obtuvo una cantidad representativa de tilapia roja de la piscícola Cordero para posteriormente realizar el proceso de eviscerado colocando dichos residuos en un plástico para su homogenización, se tomó dos muestras de 1 kg, una para el análisis físico y la otra para el análisis microbiológico respectivamente, las cuales fueron almacenadas en una caja térmica a una temperatura de 4 °C.

Con un marcador indeleble en cada una de las muestras se colocó información necesaria como el lugar de muestreo, personal responsable del muestreo y la hora del muestreo. Las muestras de las vísceras de tilapia recolectadas fueron trasladadas al Laboratorio LABIMA en la Facultad de Ciencias Pecuarias, en un tiempo de 5 horas luego de su muestreo, para su respectivo análisis.

### ***2.10.2 Análisis de la materia prima – melaza***

#### **Materiales**

- 1 pipeta plástica de 3 ml
- 1 vaso de precipitación de 50 ml
- 1 vaso plástico
- 1 refractómetro
- Agua destilada
- Melaza
- Balanza analítica

## **Método**

Se realizó una dilución de la melaza para lo cual se pesó 1g de melaza y 1 g de agua destilada en un vaso de precipitación, agitando hasta disolverla completamente, se tomó una muestra de la disolución con una pipeta plástica, se colocó una gota de la dilución en el lente del refractómetro y posteriormente se realizó la lectura en el refractómetro expresada en grados brix.

### ***2.10.3 Análisis de humedad de la materia prima - afrecho de trigo***

#### **Materiales**

- 1 libra de afrecho de trigo
- Papel aluminio
- Balanza analítica
- Estufa

#### **Método**

Por triplicado se pesaron 10 g de afrecho de trigo sobre el papel aluminio, las muestras fueron colocadas en una estufa a 80°C durante 72 horas, posteriormente se sacaron las muestras de la estufa y se dejaron enfriar por lapso de 5 minutos, se tomaron los pesos de cada una de las muestras (ver ecuación 2)

### ***2.10.4 Análisis organolépticos de las vísceras de tilapia***

#### **Materiales**

- Cuchara plástica.
- Cajas Petri de vidrio.
- Balanza.

#### **Método**

Se pesaron 20 g de muestra de vísceras de tilapia las cuales se colocaron en una caja Petri de vidrio para determinar el aspecto, color, olor mediante los órganos de los sentidos

## 2.10.5 Análisis microbiológico de vísceras de tilapia y afrecho de trigo

### Materiales

- Tubos de 20 ml.
- Balanza.
- Gradilla.
- Autoclave.
- Pipeta de 1 ml.
- Pera de succión.
- Incubadora.
- Agua destilada.
- Placas Petri film 3M para Mesófilos totales Coliformes totales, *Staphylococcus aureus*, Mohos y levaduras.

#### 2.10.5.1 Determinación de Mesófilos s totales en vísceras de tilapia y en afrecho de trigo

### Método

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-4: Series para diluciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo, en los tubos V1  $10^{-1}$ , V2  $10^{-1}$  , V3  $10^{-1}$  se colocaron 1 g de vísceras en cada uno de ellos mientras que en el tubo A  $10^{-1}$  se colocó 1 g de afrecho de trigo y se realizaron las diluciones, de los tubos hasta : V1  $10^{-3}$ , V2  $10^{-3}$  , V3  $10^{-3}$  y A  $10^{-3}$  se tomó 1 ml de la solución de estos tubos para sembrar en las placas petri previamente rotuladas dejando incubar a 37 °C por 48 horas, finalmente se realizó el conteo de cada placa petrifilm.

**Tabla 2-4:** Series para diluciones

Serie	Diluciones
1 vísceras	V1 $10^{-1}$ hasta V1 $10^{-3}$
2 vísceras	V2 $10^{-1}$ hasta V2 $10^{-3}$
3 vísceras	V3 $10^{-1}$ hasta V3 $10^{-3}$
4 afrecho de trigo	A $10^{-1}$ hasta A $10^{-3}$

Realizado por: CALVA Irene



#### 2.10.5.2 *Determinación de Coliformes totales*

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-4: Series para diluciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo, en los tubos V1  $10^{-1}$ , V2  $10^{-1}$  , V3  $10^{-1}$  se colocaron 1 g de vísceras en cada uno de ellos mientras que en el tubo A  $10^{-1}$  se colocó 1 g de afrecho de trigo y se realizaron las diluciones, de los tubos hasta : V1  $10^{-3}$ , V2  $10^{-3}$  , V3  $10^{-3}$  y A $10^{-3}$  se tomó 1 ml de la solución de estos tubos para sembrar en las placas petri previamente rotuladas dejando incubar a 37 °C por 48 horas, finalmente se realizó el conteo de cada placa petrifilm.

#### 2.10.5.3 *Determinación de Staphylococcus aureus*

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-4: Series para diluciones, se colocaron 9 mL de agua destilada en cada tubo, en los tubos V1  $10^{-1}$ , V2  $10^{-1}$  , V3  $10^{-1}$  se colocaron 1 g de vísceras en cada uno de ellos mientras que en el tubo A  $10^{-1}$  se colocó 1 g de afrecho de trigo y se realizaron las diluciones, de los tubos hasta : V1  $10^{-3}$ , V2  $10^{-3}$  , V3  $10^{-3}$  y A $10^{-3}$  se tomó 1 ml de la solución de estos tubos para sembrar en las placas petri previamente rotuladas dejando incubar a 37 °C por 48 horas, finalmente se realizó el conteo de cada placa petrifilm.

#### 2.10.5.4 *Determinación de Mohos y levaduras*

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-4: Series para diluciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo, en los tubos V1  $10^{-1}$ , V2  $10^{-1}$  , V3  $10^{-1}$  se colocaron 1 g de vísceras en cada uno de ellos mientras que en el tubo A  $10^{-1}$  se colocó 1 g de afrecho de trigo y se realizaron las diluciones, de los tubos hasta : V1  $10^{-3}$ , V2  $10^{-3}$  , V3  $10^{-3}$  y A $10^{-3}$  se tomó 1 ml de la solución de estos tubos para sembrar en las placas petri previamente rotuladas dejando incubar a 27 °C por 96 horas, finalmente se realizó el conteo de cada placa petrifilm.

#### 2.10.5.5 *Determinación de Salmonella sp.*

##### **Materiales**

- Tubos de 20 ml.
- Balanza.
- Gradilla.
- Autoclave.
- Pipeta de 1 ml.
- Pera de succión.
- Incubadora.
- Agua destilada.
- Agar MIO
- Agar MacConkey
- Agar BBL Salmonella Shigella

##### **Método**

Se prepararon los medios de cultivo para lo cual se rotularon 3 frascos con capacidad para 400 ml:

- MIO: se colocaron 50 ml de agua destilada con agar Mio
- Mac Conkey : se colocaron 50 ml de agua destilada con agar Mac Conkey
- BBL Salmonella Shigella: se colocaron 50 ml de agua destilada con agar BBL Salmonella Shigella

En cada frasco se colocaron las varillas de agitación y se homogenizaron los medios en el agitador magnético durante 5 minutos. Posteriormente se introdujeron en el autoclave el agar MIO y Mac Conkey a 121°C durante 15 minutos, una vez esterilizado el material se colocó en una cámara de flujo laminar se dejó en reposo durante 10 minutos, se destaparon los dos frascos y se colocaron 15 ml del medio Mac Conkey en tres cajas Petri y con la ayuda de un hisopo se tomó una muestra representativa de las vísceras de tilapia.

Con el asa estéril y fría se procedió a realizar la siembra en cada una de las cajas aplicando la técnica de la siembra por agotamiento por estrías también se colocaron 8 ml de la solución MIO en tubos de ensayo se esperó que los tubos solidifiquen el medio de forma inclinada, con la ayuda de un hisopo se tomó una muestra representativa de las vísceras de tilapia y con el asa estéril y fría se procedió a realizar la siembra en cada una de los tubos aplicando la técnica de la siembra de estrías del tubo inclinado después se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Homogenizado el agar BBL Salmonella Shigella se colocó 15 ml en 3 cajas petri Se espero de 5 a 10 minutos para que se solidifique el medio, con la ayuda de un hisopo se tomó una muestra representativa de las vísceras de tilapia y con el asa estéril y fría se procedió a realizar la siembra en cada una de las cajas aplicando la técnica de la siembra por agotamiento por estrías. Se rotularon cada una de las cajas y luego se colocaron en la estufa a 37°C por un lapso de 24 horas y se procedió a realizar el análisis de las colonias presentes

#### ***2.10.6 Preparación del inóculo microbiano***

##### **Materiales**

- Balde plástico de 2 litros
- Agua
- Sulfato de amonio
- Sal mineral
- Urea
- Jugo de caña
- Yogurt natural
- Suero de leche

##### **Método**

Se utilizó un balde plástico con un volumen de dos litros, en el que se procedió a agregar agua, sulfato de amonio, urea, sal mineral, hasta conseguir una mezcla homogénea posteriormente se agregó jugo de caña, suero de leche y yogurt natural. Esta preparación líquida permaneció en reposo por un período de 96 horas logrando una fermentación ácido láctica, mediante un proceso aeróbico y se registraron mediciones de pH.

### **2.10.7 Formulación de los ensilajes a escala de laboratorio (F1-F2-F3)**

#### **Materiales**

- Vísceras de tilapia
- Inóculo
- Melaza
- Afrecho de trigo
- Ácido ascórbico
- Una cuchara de madera
- recipientes plásticos
- Fundas plásticas negras
- pH-metro
- Balanza

#### **Método**

Se midió el pH del inóculo diariamente y cuando alcanzó sus características de acidez, se procedió a elaborar los ensilajes a escala de laboratorio, con diferentes formulaciones. Se añadió una parte del inóculo humedeciendo poco a poco el afrecho de trigo con las vísceras de tilapia, para lograr una mezcla homogénea, luego se colocó la melaza y finalmente el ácido ascórbico hasta obtener una mezcla compacta.

La mezcla fue colocada en fundas plásticas negras, completamente herméticas, mediante un periodo de 65 días para luego ser evaluados, y seleccionar la mejor formulación mediante análisis bromatológicos realizados por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, microbiológicos, organolépticos, análisis fisicoquímicos realizados en los diferentes laboratorios de la ESPOCH

### **2.10.8 Análisis organolépticos de los ensilajes (F1-F2-F3)**

#### **Materiales**

- Cuchara plástica.
- Cajas Petri de vidrio.
- Balanza.

## **Método**

Se pesaron 20 g de los ensilajes con las formulaciones F1, F2 y F3 las cuales se colocaron en cajas Petri de vidrio previamente rotuladas para determinar el aspecto, color, olor mediante los órganos de los sentidos.

### **2.10.9 Análisis de ácidos orgánicos de los ensilajes (F1-F2-F3)**

#### **Materiales**

- Agitador.
- Bomba de vacío.
- HPLC.
- Balanza.
- Embudo de vidrio.
- Vasos de precipitación.
- Papel filtro.
- Filtro de 0.4  $\mu\text{m}$ .
- Tubos de ensayo.
- Agua bi-destilada.
- Agua destilada.
- Ácido fosfórico 0.2 M.
- Ácido sulfúrico 0.25 M.
- Ácido láctico.
- Ácido acético.
- Ácido butírico.

#### **Método**

Se tomó 1 g de muestra de cada uno de los ensilajes y se agregó 25 ml de ácido sulfúrico, se agitó hasta homogenizar todos los componentes. La mezcla fue hervida en un baño de agua por 10 min, luego se dejó enfriar y se filtró (papel filtro), y luego se pasó por el filtro de 0.4  $\mu\text{m}$ . Se corrieron cada uno de los estándares (ácido láctico, ácido acético, ácido butírico) en las celdas del HPLC, los resultados de las muestras analizadas se compararon con los tiempos de retención de cada uno de los estándares y se calculó la concentración de cada una de las muestras.

### 2.10.10 Análisis microbiológicos de los ensilados (F1-F2-F3)

#### Materiales

- Tubos de 20 ml.
- Balanza.
- Gradilla.
- Autoclave.
- Pipeta de 1 ml.
- Pera de succión.
- Incubadora.
- Agua destilada.
- Placas Petri film 3M para Mesófilos totales, Coliformes totales, *Staphylococcus aureus* y Mohos y levaduras.

#### 2.10.10.1 Determinación de Mesófilos totales en las formulaciones de los ensilados

#### Método

**Tabla 2-5:** Diluciones para formulaciones de ensilaje de vísceras de tilapia roja

Serie	Tratamiento	Diluciones
F1	F1R1	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
	F1R2	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
	F1R3	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
F2	F2R1	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
	F2R2	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
	F2R3	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
F3	F3R1	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
	F3R2	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>
	F3R3	10 <sup>-1</sup> hasta 10 <sup>-3</sup>

Realizado por: CALVA Irene (2017)

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-5: Dilución de formulaciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo y en la dilución  $10^{-1}$  se colocó 1 g de ensilaje biológicamente acelerado y se realizaron las diluciones hasta  $10^{-3}$  para cada formulación, se tomó 1 ml de la dilución  $10^{-3}$  para realizar la siembra en cada una de las placas previamente rotuladas se dejó incubar a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48 horas y se realizó el conteo de UFC.

#### *2.10.10.2 Determinación de Coliformes totales*

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-5: Dilución de formulaciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo y en la dilución  $10^{-1}$  se colocó 1 g de ensilaje biológicamente acelerado y se realizaron las diluciones hasta  $10^{-3}$  para cada formulación, se tomó 1 ml de la dilución  $10^{-3}$  para realizar la siembra en cada una de las placas previamente rotuladas se dejó incubar a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48 horas y se realizó el conteo de UFC.

#### *2.10.10.3 Determinación de Staphylococcus aureus*

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-5: Dilución de formulaciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo y en la dilución  $10^{-1}$  se colocó 1 g de ensilaje biológicamente acelerado y se realizaron las diluciones hasta  $10^{-3}$  para cada formulación, se tomó 1 ml de la dilución  $10^{-3}$  para realizar la siembra en cada una de las placas previamente rotuladas se dejó incubar a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 48 horas y se realizó el conteo de UFC.

#### *2.10.10.4 Determinación de Mohos y levaduras*

Se rotularon los tubos de ensayo para cada serie como se ve en la tabla 2-5: Dilución de formulaciones, se colocaron 9 ml de agua destilada en cada tubo y en la dilución  $10^{-1}$  se colocó 1 g de ensilaje biológicamente acelerado y se realizaron las diluciones hasta  $10^{-3}$  para cada formulación, se tomó 1 ml de la dilución  $10^{-3}$  para realizar la siembra en cada una de las placas previamente rotuladas se dejó incubar a  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 96 horas y se realizó el conteo de UFC.

#### 2.10.10.5 Determinación de *Salmonella* sp.

##### **Materiales**

- Tubos de 20 ml.
- Balanza.
- Gradilla.
- Autoclave.
- Pipeta de 1 ml
- Pera de succión.
- Incubadora.
- Agua destilada.
- Agar MIO
- Agar Mac Conkey
- Agar BBL *Salmonella* Shigella

##### **Método**

Se prepararon medios de cultivo para lo cual se rotularon 3 frascos con capacidad para 400 ml:

- MIO: se colocaron 50 ml de agua destilada con agar Mio
- Mac Conkey : se colocaron 50 ml de agua destilada con agar Mac Conkey
- BBL *Salmonella* Shigella : se colocaron 50 ml de agua destilada con agar *Salmonella*

En cada frasco se colocaron las barras de agitación y se homogenizaron los medios en el agitador magnético durante 5 minutos. Posteriormente se introdujeron en el autoclave el agar MIO y Mac Conkey a 121°C durante 15 minutos, una vez esterilizado el material se colocó en una cámara de flujo laminar se dejó en reposo durante 10 minutos, destapamos los dos frascos y se colocaron 15 ml de la solución Mac Conkey en tres cajas Petri y con la ayuda de un hisopo se tomó una muestra representativa del ensilaje biológicamente acelerado.



Con el asa estéril y fría se procedió a realizar la siembra en cada una de las cajas aplicando la técnica siembra de estrías también se colocaron 15 ml de la solución MIO en tubos de ensayo se esperó que los tubos solidifiquen de forma inclinada, con la ayuda de un hisopo se tomó una muestra representativa del ensilaje biológicamente acelerado y con el asa estéril y fría se procedió a realizar la siembra en cada una de los tubos aplicando la técnica siembra de estrías del tubo inclinado.

Homogenizado el agar BBL Salmonella Shigella. se colocó 15 ml en 3 cajas petri Se esperó de 5 a 10 minutos para que se solidifique el medio, con la ayuda de un hisopo se tomó una muestra representativa del ensilaje biológicamente acelerado y con el asa estéril y fría se procedió a realizar la siembra en cada una de las cajas aplicando la técnica de la siembra estriada. Se rotularon cada una de las cajas, los tubos y luego se colocaron en la estufa a 37°C por un lapso de 24 horas y se procedió a realizar el conteo de las colonias presentes

#### *2.10.10.6 Determinación de las bacterias ácido lácticas*

##### **Materiales**

- Cajas Petri.
- Autoclave.
- Pipeta de 1 ml.
- Pera de succión.
- Incubadora.
- Caja de anaerobiosis.
- Agua destilada.
- Agar MRS.

##### **Método**

Se diluyó 1 g del ensilaje biológicamente acelerado en 9 ml de agua destilada, en el centro de las cajas Petri previamente esterilizadas y rotuladas se colocó 1 ml de la dilución obtenida. En un frasco se preparó el medio de cultivo MRS, se homogenizó, se esterilizó en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C, se colocó el medio en la cámara de flujo laminar, se esperó 3 minutos hasta que se enfríe, se distribuyó el medio sobre las cajas 15 ml.

Posteriormente se introdujeron las cajas Petri en una caja de anaerobiosis, las cuales se incubaron en una estufa a 37° C durante 24 horas finalmente se realizó el conteo a las placas correspondientes y la tinción gram para la identificación de las bacterias ácido lácticas

#### ***2.10.11 Análisis Bromatológicos de los ensilajes F1-F2-F3***

##### **Materiales**

- Fundas ziploc
- Caja térmica
- Gel hielo
- Una cuchara plástica
- Marcador tinta indeleble
- Balanza

##### **Método**

De cada formulación del ensilaje se tomaron 500 g y se colocaron en fundas herméticas previamente rotuladas, se ubicaron las muestras en la caja térmica y se enviaron para analizar en el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias INIAP estación experimental Santa Catalina

#### ***2.10.12 Producción a escala semi-industrial del ensilaje***

##### **Materiales**

- Vísceras de tilapia
- Inóculo
- Melaza
- Afrecho de trigo
- Ácido ascórbico
- Una cuchara de madera
- recipientes plásticos
- Fundas plásticas negras
- pH-metro
- Balanza

## **Método**

Se procedió a elaborar el ensilaje biológicamente acelerado, con la formulación 1, se añadió una parte del inóculo humedeciendo poco a poco el afrecho de trigo con las vísceras de tilapia, para lograr una mezcla homogénea, luego se colocó la melaza y finalmente el ácido ascórbico hasta obtener una mezcla compacta. La mezcla fue colocada en una funda plástica completamente hermética, y esta a su vez en un recipiente plástico de 125 litros durante un periodo de 50 días.

### ***2.10.13 Prueba de campo en pollos en etapa de engorde***

## **Materiales**

- Balanceado de engorde “Avipaz”
- Ensilaje de pescado
- Comederos plásticos
- Bebederos plásticos
- Antibióticos
- Balanza
- Aserrín
- Formol
- Botas
- Yodo
- Bomba para fumigar
- Tinas plásticas
- Agua

## **Método**

En un galpón de 12.5 m<sup>2</sup> 2.5 m de ancho, 5 m de largo, con paredes de malla y el piso de cemento se realizó la fase prueba de campo, se efectuó la desinfección del galpón con una bomba de mochila mezclando 50 mililitros de formol por cada litro de agua, para posteriormente recibir los nueve bloques de pollos, cada bloque estuvo conformado por diez unidades de aves.

Se colocó aserrín con un espesor de 8cm de altura desde el piso, para evitar que la cama no se moje, se instalaron dos tinas para la respectiva desinfección de las botas antes de entrar al galpón, en una tina se colocó agua limpia para eliminar el exceso de tierra en las botas, en la tina dos se colocó una solución de Yodo (3 ml de Yodo por litro de agua), también se instalaron dos comederos y un bebedero por bloque de pollos, se puso diariamente tetraciclina como antibiótico en cada uno de los bebederos.

En cuanto a los estudios realizados en pollos de engorde se trabajó con 90 pollos Broiler de la sexta y séptima semana en etapa de engorde. Hubo tres tratamientos (dietas con 20 y 10% de ensilaje de pescado) y una prueba testigo formándose nueve bloques de diez aves, tres replicas por tratamiento, se realizó la prueba en campo alimentando a las aves a las 10:00 am y a las 3:00 pm (6kg/bloque/día). Se evaluó el incremento del peso en cada pollo y el consumo de alimento se determinó por diferencia entre la cantidad suministrada y la cantidad sobrante, actividad que se realizó diariamente, hasta el final del periodo de evaluación.

#### **2.10.14 Beneficio – costo**

##### *2.10.14.1 Materiales*

- Libreta de apuntes
- Calculadora

##### *2.10.14.2 Método*

Realizar la cotización de los materiales, reactivos, el transporte, mano de obra, que implica la producción a escala industrial con la finalidad evaluar la rentabilidad del producto y los beneficios económicos que obtuvieron de la venta de los pollos broiler calculado con la ecuación 1.

$$B/C = \frac{VPi}{VPe} \qquad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

VPi: Valor presente de los ingresos

VPe: Valor presente de los egresos

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Resultado de los análisis de la materia prima – melaza

Se recolectaron 3 mediciones de los grados brix de la melaza en el refractómetro cada medición se la realizó cada 24 horas obteniéndose: 38, 39, 39 °Brix. Siendo el valor más alto 39 °Brix y el más bajo 38 °Brix, dado como resultado una media de 39 °Brix de la muestra de melaza y se efectuó el cálculo para la obtención de los grados Brix total .  $39^{\circ}\text{Brix} * 2 = 78$  grados Brix total puesto que se realizó una dilución 1:1 con agua destilada

Cuando se calcula los grados brix en diluciones 1:1 para la melaza debido a su viscosidad es necesario multiplicar por dos el valor obtenido, dando como resultado el grado Brix corregido a 29°K (20°C), de la muestra sin diluir. Según las Normas Mexicanas NMX-F-274-1984 (Ver anexo A). Según Fajardo & Sarmiento (2007) la melaza de caña alimenticia debe ser diluida en agua y si adquiere un valor no menor a 39.75 resulta ser favorable para garantizar una adecuada actividad de los microorganismos, la melaza al tener un costo económico bajo es apropiado para la elaboración de ensilajes ya que es una fuente principal de carbohidratos.

#### 3.2 Resultado de los análisis de materia prima – afrecho de trigo

##### 3.2.1 Humedad del afrecho de trigo

$$\%H = \frac{P1-P2}{P1} * 100$$

Ecuación 2

**Tabla 3-1:** Pesos inicial y final de muestras de afrecho de trigo

AFRECHO DE TRIGO	PESO INICIAL	PESO FINAL
M1	10 g	9 g
M2	10 g	9,2 g
M3	10 g	9 g
$\bar{x}$		9.06 g

Realizado por: CALVA Irene (2017)

$$\%H = \frac{10gr - 9,06gr}{10gr} * 100 = 9,4\%$$

En la tabla 3-1: Pesos inicial y final de las muestras de afrecho trigo se pueden observar los pesos correspondientes a la M1 nos dio un peso inicial de 10 g un peso final de 9 g, para M2 se obtuvo un peso inicial de 10 g y un peso final de 9.2 g, para M3 se obtuvo un peso inicial de 10 g y un peso final de 9 g, dando como resultado la media del peso final 9.06 g la media del peso inicial es 10 g, mediante el uso la ecuación 2 se obtuvo el porcentaje de humedad de 9.4%, cuyo valor se encuentra dentro de los requisitos óptimos de los subproductos de trigo según la FENA (2011) ya que el valor máximo es de 13.5 % de humedad, el bajo costo económico del afrecho de trigo es beneficioso para la producción de ensilado, además de que el afrecho posee un alto valor proteínico que aporta positivamente para mejorar la dieta alimenticia de los animales.

### 3.3 Resultado de los análisis organolépticos de las vísceras de tilapia

**Tabla 3-2:** Análisis organolépticos de las vísceras de tilapia

ANÁLISIS ORGANOLÉPTICOS			
Atributo	Grado (1-5)	Definición	Aceptación
Aspecto	1	Presencia de gas indefinido	
	2	Vísceras rotas	
	3	Ligeramente rotas	
	4	Opacas sin rompimiento	
	5	Vísceras lisas	X
Color	1	Negrusco	
	2	Oscuro	
	3	Sin brillo	
	4	Ligeramente brillante	
	5	Brillante de vísceras frescas	X
Olor	1	Putrefacto	
	2	Ligeramente desagradable	
	3	Desagradable	
	4	Ligeramente agradable	
	5	Olor agradable típico a tilapia fresca	X

Realizado por: CALVA Irene (2017)

El análisis organoléptico está determinado por los órganos de los sentidos, la valoración del aspecto se realizó observando la presencia de vísceras lisas que está calificado con el valor más alto 5, en cuanto al color se observó brillantez, lo que indica que las vísceras son frescas, en cuanto al olor se pudo percibir un olor agradable a tilapia fresca calificado siendo un claro indicativo de que las vísceras se encontraban en óptimas condiciones para su uso.

Según Durazno (2006) el pescado cuando está en mal estado presenta un olor putrefacto, una coloración marrón y su consistencia es demasiado blanda. Según Martínez (2003) La frescura inicial del pescado cumple un rol fundamental en la velocidad de disminución del pH inicial, por el mecanismo de competencia existente entre las bacterias lácticas y microorganismos descomponedores.

Cuando hay mayor cantidad de carga microbiana inicial de organismos que deterioran el pescado fresco, mayor será la cantidad de bacterias lácticas a inocularse, al utilizar las vísceras del pescado, se está ayudando al proceso de hidrólisis por la presencia de mayor cantidad de enzimas que se encuentran en las vísceras, pero paralelamente se agregan una gran cantidad microorganismos que se deben inhibir velozmente.

### 3.4 Resultados de los Análisis microbiológico preliminar de la muestra de vísceras de tilapia y afrecho de trigo

**Tabla 3-3:** Análisis microbiológico de las vísceras de tilapia y afrecho de trigo

<b>ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO</b>		
<b>Vísceras de tilapia</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
Mesófilos totales	UFC.g <sup>-1</sup>	7,7x10 <sup>3</sup>
Coliformes totales	UFC.g <sup>-1</sup>	3x10 <sup>3</sup>
<i>Staphyococcus aureus</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	4,5x10 <sup>3</sup>
Mohos y levaduras	UFC.g <sup>-1</sup>	1,8x10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella sp.</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	80
<b>Afrecho de trigo</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Valor</b>
Mesófilos totales	UFC.g <sup>-1</sup>	3x10 <sup>3</sup>
Coliformes totales	UFC.g <sup>-1</sup>	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	1x10 <sup>3</sup>
Mohos y levaduras	UFC.g <sup>-1</sup>	3x10 <sup>3</sup>

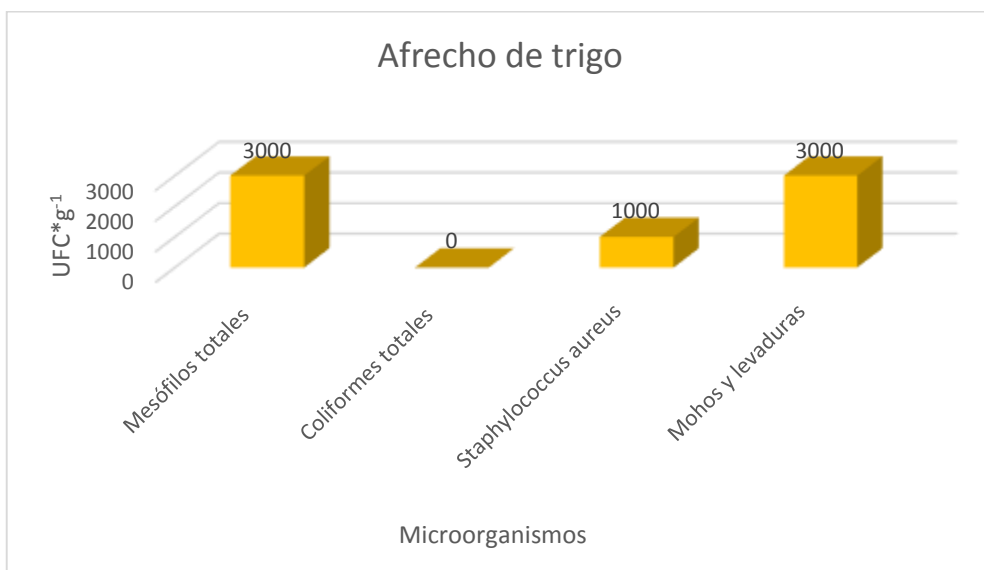
Realizado por: CALVA, Irene, (2017)

Se indica en la Tabla 3-3: Los análisis microbiológicos de las vísceras de tilapia y afrecho de trigo los cuales fueron: Mesófilos totales  $7,7 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, Coliformes totales  $3 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, *Staphylococcus aureus*  $4,5 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, Mohos y levaduras  $1,8 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, *Salmonella sp.* 80 UFC.g<sup>-1</sup> estos valores se encuentran por encima de los límites de la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-027-SSA1-1993 donde se expresa que los límites máximos de Mesófilos totales es  $1 \times 10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> *Staphylococcus aureus* 1000 UFC.g<sup>-1</sup>, *Salmonella spp* en 25 g ausente, para el caso de los análisis microbiológicos del afrecho de trigo se encontró la presencia de Mesófilos totales  $3 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, Coliformes totales 0 UFC.g<sup>-1</sup>, *Staphylococcus*  $1 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, Mohos y levaduras  $3 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>



**Figura 3-1:** Análisis microbiológico de las vísceras de Tilapia

Realizado por: CALVA Irene (2017)



**Figura 3-2:** Análisis microbiológico del afrecho de trigo

Realizado por: CALVA Irene (2017)



### 3.5 pH del inóculo microbiano

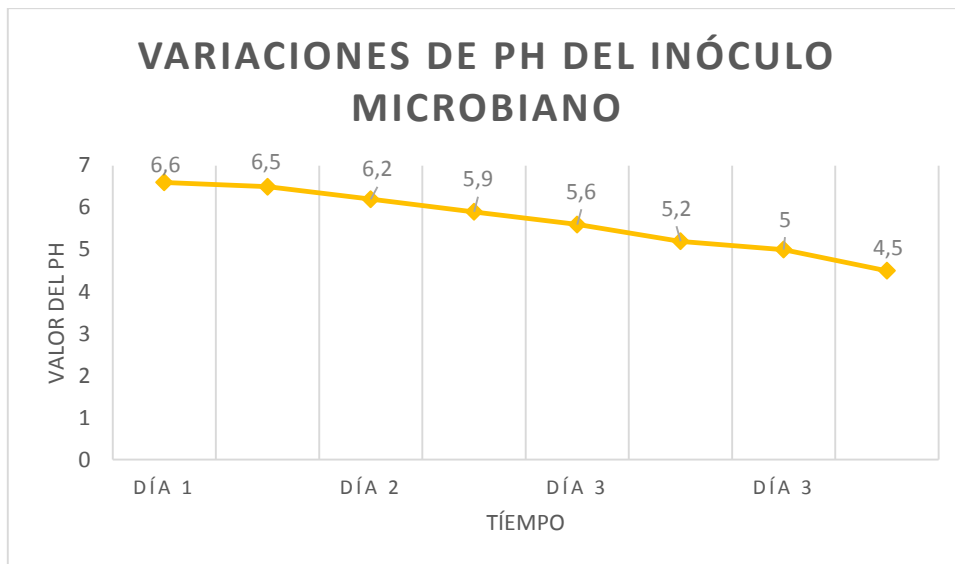
**Tabla 3-4:** Mediciones de pH en el inóculo microbiano

Días	Horas	pH
Lunes 08/05/2017	9:00 am	6,6
	15:00 pm	6,5
Martes 09/05/2017	9:00 am	6,2
	15:00 pm	5,9
Miércoles 10/05/2017	9:00 am	5,6
	15:00 pm	5,2
Jueves 11/05/2017	9:00 am	5
	15:00 pm	4,5

Realizado por: CALVA Irene (2017)

Como se indica en la tabla 3-4: Las mediciones de pH en el inóculo microbiano se tomaron los datos de pH durante 4 días dos mediciones diarias, obteniéndose un pH inicial de 6,6 un pH intermedio de 5,6 y un pH final de 4,5 a este pH se garantiza la inocuidad de preparado ya que mueren los patógenos y sobreviven las bacterias lácticas. En la investigación “Evaluación de un simbiótico nativo formulado a base de jugo de caña, yogurt natural y suero de leche en la alimentación de pollos broiler realizada por Jaque (2015). Las variaciones pH, durante las 96 horas se registraron cambios notorios, es así inicialmente tuvo una media de 6,30, para las primeras 24 horas tuvo un descenso a 5,54, a las 48 horas se registró el mayor descenso de pH a 4,08, para las 72 hora siguientes disminuyo a 3,92, y para las 96 horas se registró el pH más bajo que fue de 3,90

Las bacterias lácticas BAL tienen la capacidad de desarrollarse y crecer en medios con un pH que puede variar de 3.2 – a 9.6, y mayoritariamente crecen en pH de 4 y 4.5, lo cual les permite sobrevivir de forma natural en medios donde otras bacterias no resistirían al aumento de actividad que se produce por la acción de los ácidos orgánicos. En la figura 3-3: Variaciones de pH del inóculo microbiano se puede observar el descenso de pH en 96 horas que se registró en la presente investigación.



**Figura 3-3:** Variaciones de pH del inóculo microbiano

Realizado por: CALVA Irene (2017)

### 3.6 Formulaciones de ensilajes a escala de laboratorio (F1-F2-F3)

**Tabla 3-5:** Formulaciones del ensilaje biológicamente acelerado

Tratamiento	Formulación	Réplicas
F1 ensilado de pescado	600 g vísceras de tilapia + 100 ml de melaza + 47,5 ml de inóculo + 250 g de afrecho de trigo + 2,5 g de ácido ascórbico	Ensilaje formulación 1 R1 Ensilaje formulación 1 R2 Ensilaje formulación 1 R3
F2 ensilado de pescado	700 g vísceras de tilapia + 100 ml de melaza + 47,5 ml de inóculo + 150 g de afrecho de trigo + 2,5 g de ácido ascórbico	Ensilaje formulación 2 R1 Ensilaje formulación 2 R2 Ensilaje formulación 2 R3
F3 ensilado de pescado	800 g vísceras de tilapia + 100 ml de melaza + 47,5 ml de inóculo + 50 g de afrecho de trigo + 2,5 g de ácido ascórbico	Ensilaje formulación 3 R1 Ensilaje formulación 3 R2 Ensilaje formulación 3 R3

Realizado por: CALVA Irene (2017)

Se observa en la tabla 3-5: Las formulaciones del ensilaje biológicamente acelerado, donde se describen las cantidades utilizados en cada una de las 3 formulaciones F1-F2-F3. En F1 600 g vísceras de tilapia + 100 ml de melaza + 47,5 ml de inóculo + 250 g de afrecho de trigo + 2,5 g de ácido ascórbico con sus respectivas réplicas F1R1, F1R2, F1R3. En F2 700 g vísceras de tilapia + 100 ml de melaza + 47,5 ml de inóculo + 150 g de afrecho de trigo + 2,5 g de ácido ascórbico con las réplicas F2R1 F2R2 F2R3.

F3 estuvo compuesta por: 800 g vísceras de tilapia + 100 ml de melaza + 47,5 ml de inóculo + 50 g de afrecho de trigo + 2,5 g de ácido ascórbico con sus réplicas F3R1, F3R2, F3R3. Las formulaciones F1, F2 y F3 se fermentaron durante 65 días a temperatura ambiente en la ciudad de Riobamba, teniendo una mejor apariencia física al final del proceso con sus respectivas replicas proceso de fermentación la primera formulación.

Según la formulación presentada por Martínez (2003) la Composición de la mezcla para elaboración del ensilado de pescado fue de vísceras de pescado 78.75% Melaza 15.00% Sacarosa 1.00% Inóculo 5.00% Acido sórbico 0.25%, mientras que en la presente investigación se realizó una variación en cuanto a sustratos energéticos (melaza – afrecho de trigo) y en cuanto al aditivo ácido ascórbico como antioxidante de alimentos, al igual que el ácido sórbico.

### 3.7 Análisis organolépticos de los ensilajes (F1-F2-F3)

**Tabla 3-6:** Resultados de análisis organolépticos de los ensilajes F1-F2-F3

Formulación	Olor	Color	Consistencia
F1	Dulce ácido suave	Marrón	Pastosa – semisólida
F2	Dulce ácido suave	Marrón grisáceo oscuro	Pastosa – semisólida
F3	Dulce ácido suave	Marrón grisáceo claro	Semilíquida

Realizado por: CALVA Irene (2017)

En la tabla 3-6: Resultados de análisis organolépticos de los ensilajes F1-F2-F3 se pudo determinar que F1 presentó un olor dulce ácido suave y su coloración amarronada, con consistencia pastosa semisólida, F2 presentó un olor a ácido suave y coloración amarronada grisácea oscura con consistencia pastosa semisólida y F3 presentó un olor dulce ácido suave, coloración amarronada grisácea clara con consistencia semilíquida.

Las cualidades presentadas por F1 y F2 tienen buena apariencia según la referencia de Bertullo (1989) donde las características obtenidas son evaluadas como buenas mientras que F3 presentó una consistencia semilíquida es un indicativo que ensilaje es considerado como regular mientras

que (Spanopoulus , et al., 2010) determina que en la consistencia del ensilaje de Tilapia si es pastoso con ligero contenido líquido en la base de la pasta es considerado también como aceptable, en cuanto olor los dos autores mencionados anteriormente señalan que el olor debe ser agradable no a comida descompuesta en el caso F1, F2 y F3 presentaron un olor dulce ácido suave debido a que para su elaboración se agregó melaza lo que le da el olor dulce.

### 3.8 Análisis de ácidos orgánicos de los ensilajes (F1-F2-F3)

**Tabla 3-7:** Caracterización de ácidos orgánicos en las formulaciones F1-F2-F3

DETERMINACIÓN DE ACIDOS ORGÁNICOS			
Formulaciones	A. láctico	A. acético	A. butírico
F1	8%	0	0
F2	5%	0	0
F3	4%	0	0

Realizado por: CALVA, Irene (2017)

La caracterización de los ácidos orgánicos se indican en la tabla 3-7: F1 obtuvo 8% de ácido ácido láctico siendo el porcentaje más elevado en cuanto a la producción de ácido láctico, F2 se representó en un 5% , y F3 se obtuvo un 4% de ácido láctico siendo esta formulación la que < % de ácido láctico presentó, en F1,F2 y F3 se evidenció la ausencia de ácido acético y butírico ya que son el resultado de fermentaciones inducidas que ocurren por la presencia de bacterias Coliformes que transforman el láctico en acético y de gérmenes butíricos pues deben estar ausentes o pueden aparecer en pequeñas cantidades para evitar la descomposición del producto final (De la Roza, 2005)

La F1 presentó un mayor porcentaje de ácido láctico (8%) según De la Roza (2005) el ácido láctico resulta de la conversión de los azúcares que se encuentran presentes en la fermentación del ensilado de vísceras, favoreciendo a una reducción de pH y brinda una mayor estabilidad al mismo. Es importante que la cantidad de melaza sea suficiente como para conservar una pequeña reserva que le permita a las bacterias lácticas producir suficiente ácido en el momento que sea necesario. (Martínez, 2003)

Según Martínez (2009) existe un sistema de auto control, cuando se forman bases volátiles o compuestos nitrogenados las mismas que aumentan el pH, se da inicio a la producción de ácido a través de los microorganismos hasta que la cantidad de ácido en el medio sea suficiente para disminuir el pH a niveles alrededor de 4, y suspender o controlar el crecimiento de las bacterias y por tal motivo la producción de ácido.

### 3.9 Análisis microbiológicos de los ensilados (F1-F2-F3)

**Tabla 3-8:** Caracterización microbiológica de los ensilados

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO			
Identificación	Parámetro	Unidad	Valor
F1	<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Coliformes totales	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Mesófilos totales	UFC.g <sup>-1</sup>	11
	Mohos y levaduras	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	<i>Salmonella sp.</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Bacterias ácido lácticas	UFC.ml <sup>-1</sup>	> 200.000 UFC.ml <sup>-1</sup>
F2	<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Coliformes totales	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Mesófilos totales	UFC.g <sup>-1</sup>	12
	Mohos y levaduras	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	<i>Salmonella sp.</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Bacterias ácido lácticas	UFC.ml <sup>-1</sup>	> 200.000 UFC.ml <sup>-1</sup>
F3	<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Coliformes totales	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Mesófilos totales	UFC.g <sup>-1</sup>	5
	Mohos y levaduras	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	<i>Salmonella sp.</i>	UFC.g <sup>-1</sup>	0
	Bacterias ácido lácticas	UFC.ml <sup>-1</sup>	> 200.000 UFC.ml <sup>-1</sup>

Realizado por: CALVA Irene (2017)

La Caracterización microbiológica de los ensilados se indican en la tabla 3-8: Donde se observó colonias de Mesófilos totales para las 3 formulaciones, registrándose más UFC.g<sup>-1</sup> en F2, en el conteo de bacterias ácido lácticas se determinó que en F1, F2 y F3 existió gran presencia de colonias de bacterias ácido lácticas mayores a 200.000 UFC.ml<sup>-1</sup> logrando alcanzar un pH de 4.6 y no existió la presencia de *Staphylococcus sp.*, Coliformes totales, Mohos y levaduras ni de *Salmonella sp.* Se registró la presencia Mesófilos totales en F1 11 UFC.g<sup>-1</sup>, F2 12 UFC.g<sup>-1</sup>, F3 5 UFC.g<sup>-1</sup>.

Es posible la reducción de los microorganismos patógenos a través de la reducción del pH del medio y por las sustancias antibacterianas que se producen gracias a la acción de las bacterias ácido lácticas presentes en la fermentación (Bello, 1994), en el ensilaje elaborado se produjo una reducción del pH por lo que existió una adecuada actividad de las bacterias ácido lácticas. Comparando con la norma INEN 1829 para alimentos zootécnicos se registra la ausencia de

*Salmonella sp.*, para Coliformes totales se establece un máximo de  $1 \times 10^4$  UFC.ml<sup>-1</sup> por lo que microbiológicamente las 3 formulaciones son aceptables.

En el trabajo realizado por Martínez (2009) en los análisis realizados a los ensilados de vísceras de pescados se registran NMP Coliformes <3, Mesófilos totales  $4,5 \times 10^3$ , ausencia de *Salmonella sp.* en 25 g, y la presencia de Bacterias lácticas de >300000 este ensilado estuvo elaborado a 29 °C, no se registraron presencia de microorganismos patógenos y se vieron reflejados en las excelentes características organolépticas que presentó, puesto que no existieron olores desagradables, similares características presentó el ensilado elaborado en este trabajo investigativo.

### 3.10 Análisis Bromatológicos de los ensilajes F1-F2-F3

Los análisis bromatológicos completos realizados por el INIAP se encuentran en el ANEXO C.

**Tabla 3-9:** Caracterización bromatológica de los ensilajes F1-F2-F3

ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS								
Formula	pH	Temperatura	Humedad	Cenizas	Grasa	Proteína	ELN	Fibra
	$\bar{X}$	° C $\bar{X}$	% $\bar{X}$	% $\bar{X}$	% $\bar{X}$	% $\bar{X}$	% $\bar{X}$	% $\bar{X}$
$\bar{X}$ F1	4.3a	21.33 <sup>a</sup>	49.77 <sup>a</sup>	12.14 <sup>a</sup>	29.98 <sup>a</sup>	19.69 <sup>a</sup>	32.08 <sup>c</sup>	6.12 <sup>c</sup>
$\bar{X}$ F2	4.4a	21.00 <sup>a</sup>	53.37 <sup>b</sup>	12.67 <sup>a</sup>	35.31 <sup>b</sup>	20.00 <sup>a</sup>	26.92 <sup>b</sup>	4.72 <sup>b</sup>
$\bar{X}$ F3	4.5a	21.67 <sup>a</sup>	58.77 <sup>c</sup>	10.43 <sup>b</sup>	49.21 <sup>c</sup>	18.76 <sup>b</sup>	19.37 <sup>a</sup>	2.24 <sup>a</sup>

Realizado por: CALVA Irene (2017)

La Caracterización bromatológica de los ensilajes F1-F2-F3 se indican en la tabla 3-9: Todos los datos obtenidos se trabajaron con las medias de las réplicas para cada formulación, existen diferencias significativas al 5% es diferente el análisis bromatológico debido a la composición de cada formulación, se observó que el ensilado el pH promedio de las formulaciones F1- F2- F3 y sus réplicas dieron como resultado para  $\bar{X}$  F1 pH de 4,3.  $\bar{X}$  F2 que fue de 4.4 y  $\bar{X}$  F3 con un pH de 4,5 dados estos valores no se encontró diferencia significativa entre en las formulaciones en cuanto al pH.

En el parámetro temperatura para  $\bar{X}$  F1 dió 21,33 ° C , para  $\bar{X}$  F2 21,00 ° C, y para  $\bar{X}$  F3 21,67 ° C tampoco se registra diferencias significativas , en cuanto a humedad para  $\bar{X}$  F1 49,77 %, para  $\bar{X}$  F2 53,37 % y para  $\bar{X}$  F3 58,77 % tampoco se registran diferencias significativas, en cuanto al parámetro cenizas para  $\bar{X}$  F1 dio 12,14 %, para  $\bar{X}$  F2 12,67 % y para  $\bar{X}$  F3 10,43% encontrándose

diferencias significativas entre  $\bar{X}$  F1 -  $\bar{X}$  F3 y de  $\bar{X}$  F2 -  $\bar{X}$  F3 pero no se presentó diferencias significativas entre  $\bar{X}$  F1 y  $\bar{X}$  F2.

En cuanto al parámetro a grasa se encontró  $\bar{X}$  F1 29,98 %, para  $\bar{X}$  F2 35,31 % y para  $\bar{X}$  F3 49,21 encontrándose diferencias significativas entre las 3 formulaciones, en cuanto al parámetro proteínas se determinó para  $\bar{X}$  F1 19,69 %, para  $\bar{X}$  F2 20,00 % y para  $\bar{X}$  F3 18,76 % sin que existan diferencias significativas entre  $\bar{X}$  F1 y  $\bar{X}$  F2 sin embargo existieron diferencias significativas entre  $\bar{X}$  F1 -  $\bar{X}$  F3 y  $\bar{X}$  F2 -  $\bar{X}$  F3.

Para el caso del ELN se determinó para  $\bar{X}$  F1 32,08 %, para  $\bar{X}$  F2 26,92 % y para  $\bar{X}$  F3 19,37 se presentó diferencias significativas entre  $\bar{X}$  F1,  $\bar{X}$  F2 y  $\bar{X}$  F3 en fibra se registró para  $\bar{X}$  F1 6,12 %, para  $\bar{X}$  F2 4,72 % y para  $\bar{X}$  F3 2,24 % encontrándose diferencias significativas para las 3 formulaciones. En cuanto al análisis proximal según Spanopoulos (2010) describe que % de humedad de  $66,77 \pm 0,45$ , el % de proteína cruda  $8,92 \pm 0,76$ , el % lípidos crudos  $5,93 \pm 0,17$ , el % de fibra cruda  $0,14 \pm 0,01$ , el % de cenizas  $3,34 \pm 0,13$ , el % Extracto Libre de Nitrógeno 15,5 el pH varía de 4.53 a 5, el ácido láctico 1,10 - 2,16.

En los análisis de ensilaje de vísceras de pescado elaborado a 29 °C en base húmeda presentado por Martínez (2009) se señala que contiene humedad 62.35%, grasa 25.66% y proteína 10,26%, mientras que en base seca contiene 27.22 % de proteínas, 68.08% de grasa. Los valores obtenidos en esta investigación F1, F2 y F3 con respecto a humedad son altos sin embargo son menores a los presentados por Martínez (2009),

Los valores de grasa son mayores y tienen diferencias significativas entre ellos, esto se debe posiblemente a la calidad de alimento de las tilapias probablemente acumulaban grasa en su tracto digestivo, con respecto a la cantidad de proteínas resultó ser inferior al presentado por Martínez (2009) y F1 y F2 no presentan diferencias significativas al respecto. Los valores difieren de los análisis del presente estudio ya que fueron realizados en materia húmeda mientras que los análisis de presentados en esta investigación se realizaron en base seca según el reporte del INIAP.

### **3.11 Producción a escala semi - industrial del ensilaje**

Por las cualidades obtenidas en los análisis organolépticos, los valores registrados en los análisis proximales, los análisis estadísticos, las características organolépticas y análisis microbiológicos, se determinó que la mejor formulación fue F1 puesto que tiene 19,69 % de proteína y 6,12 % de fibra lo que es importante para que el pollo pierda peso pero incrementa masa muscular; F1

presentó menor % de grasas, esto es beneficioso para evitar la rancidez oxidativa, F1 no presentó microorganismos patógenos, el ensilado F1 estuvo catalogado como bueno por su apariencia, olor y consistencia.

Una vez que se escogió la formulación 1 como la mejor a escala de laboratorio, se realizó una prueba de palatabilidad para pollos broiler en etapa de engorde. Las cantidades empleadas para la elaboración de ensilaje biológicamente acelerado fueron: vísceras de tilapia 48 kg, melaza 8 litros, inóculo 4 litros, afrecho de trigo 20 kg, ácido ascórbico 200 g, se realizó la mezcla compacta la misma que fue colocada en una funda plástica completamente hermética, y esta a su vez en un recipiente plástico de 125 litros durante un periodo de 50 días, a temperatura ambiente de Francisco de Orellana.

### 3.12 Prueba de campo en pollos en etapa de engorde

**Tabla 3-10:** Promedio de consumo y desperdicio de raciones alimenticias en etapa de engorde

Formulaciones	Consumo del ensilaje		Desperdicio del ensilaje		Total (kg)
	kg	%	kg	%	
Prueba testigo	-	-	-	-	180
F1 dieta 90-10%	3.40 <sup>a</sup>	56.6	2.60 <sup>a</sup>	43.33	180
F1 dieta 80-20%	4.4 <sup>b</sup>	73.33	1.6 <sup>b</sup>	26.6	180

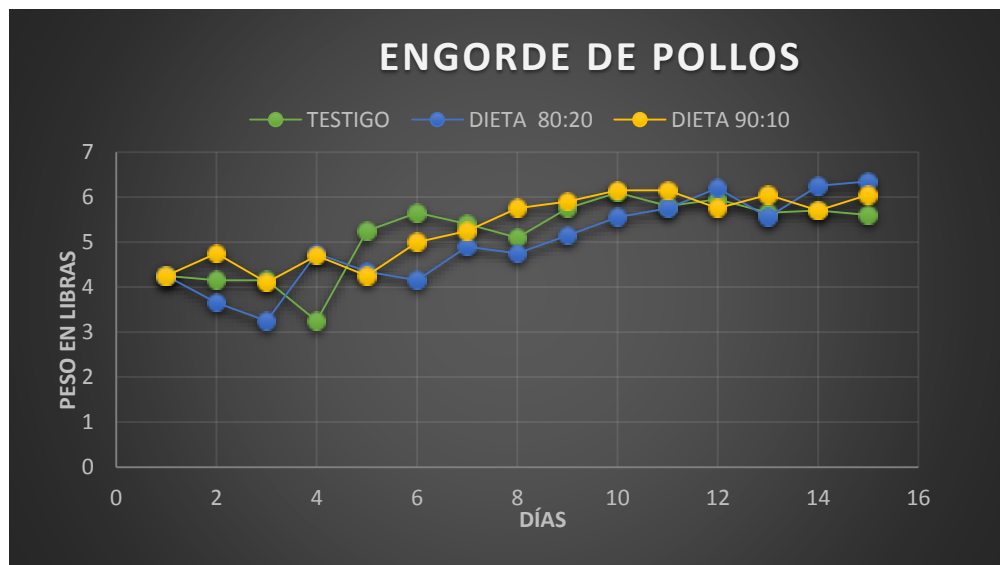
\*a y b establecen diferencias estadísticamente entre tratamientos

**Realizado por:** CALVA Irene (2017)

En la tabla 3-10: El promedio de consumo y desperdicio de raciones alimenticias en etapa de engorde se detalla la cantidad consumida y la cantidad desperdiciada por las aves. La ración alimenticia fue administrada durante siete días de adaptación y 15 días en etapa de engorde, la cantidad de 6 kg de las dietas F1 dieta 90-10% obteniéndose un 56.6% de consumo lo que representó 3,40 kg y se desperdició 43,33 % siendo 2,60 kg y la F1 dieta 80-20% por las mañanas y 6 kg de las mismas dietas por las tardes.

Se evidenció una menor cantidad de desperdicio en la F1 dieta 80-20% encontrándose diferencias estadísticas significativas entre los dos tratamientos evaluados (Según Duncan  $P \leq 0.05$ ) lo que indica que los pollos broiler en etapa de engorde prefirieron esta dieta, la aceptación de una dieta por los animales es importante, porque así éstos la ingieren en cantidades que se traducen en un mayor rendimiento productivo, antes y después de aplicar las dietas alimenticias se tomaron los pesos de los pollos (Ver anexo D), registrándose un mayor incremento de masa en los pollos que se alimentaron con la dieta F1 dieta 80-20%





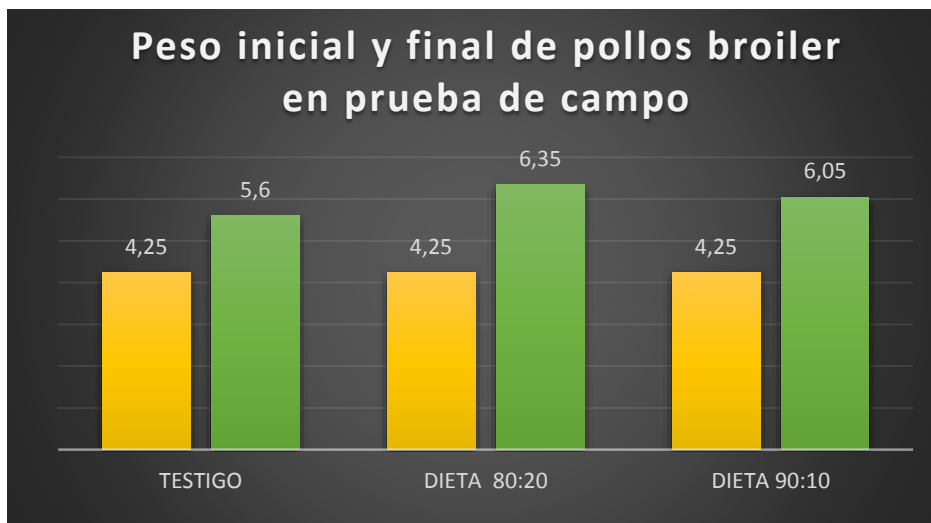
**Figura 3-4:** Registro de dietas alimenticias y de pesos para pollos broiler en etapa de engorde durante 15 días

Realizado por: CALVA Irene (2017)

El registro de dietas alimenticias durante 15 días para pollos broiler en etapa de engorde se observa en la figura 3-4: La formulación que finalmente presenta un mayor crecimiento en pollos broiler es F1 aplicada en una dieta de 80:20 es decir 80% balanceado comercial y 20% ensilaje de vísceras de tilapia roja, la dieta 90:10 90% de balanceado comercial y 10% de ensilaje de pescado registra un menor crecimiento en los pollos frente a la dieta 80:20 y un mayor crecimiento en los pollos frente a la dieta alimenticia del testigo.

Bello (1994) en sus estudios realizados en pollos de engorde se trabajó con 128 pollos del cruce Cobb x Cobb, de un día de nacidos, en un ensayo de 6 semanas. Se probaron 4 tratamientos (dietas con 2.5 y 5% de ensilado de pescado, harina de pescado 5% y control sin pescado), se formaron 4 grupos de 8 animales por tratamiento. Se valoró el incremento de peso por pollo y el consumo de alimentos, para obtener el índice de conversión.

Como resultado se obtuvo que no existen diferencias significativas entre los incrementos de peso desarrollado por las aves que se alimentaron con los distintos tratamientos, sin embargo se observó que el mejor índice de conversión lo presentó la dieta con 5% de ensilado de pescado. Al terminar el ensayo se hizo la autopsia de los pollos para realizar la evaluación de las vísceras, donde no se observaron lesiones. Posteriormente se realizó una prueba sensorial en la carne de los pollos alimentados con los dos niveles de los ensilados de pescado y se compararon con pollos adquiridos de manera comercial, no se registraron diferencias significativas. El ensilaje biológicamente acelerado a partir de vísceras de tilapia es un suplemento alimentario no se utiliza como única fuente de alimentación.



**Figura 3-5:** Evaluación del peso en pollos broiler alimentados con F1

**Realizado por:** CALVA Irene (2017)

En la figura 3-5: Evaluación de peso en pollos broiler alimentados con F1, se puede observar que hubo un incremento de peso en los pollos con todas las dietas aplicadas, con la prueba testigo el peso inicial fue de 4,25 libras y el peso final fue de 5.6 libras, para prueba con la dieta 80:20 se registró un peso inicial de 4,25 libras a 6.36 libras, para la prueba con la dieta 90:10 se registró un peso inicial de 4,25 libras a 6,05 libras, por lo que la dieta con más aceptabilidad y la más adecuada fue la dieta 80:20.

Según Gilma M (2014) las dietas con inclusiones de ensilaje biológico de vísceras de pescado, no afectan el consumo de alimento por parte del animal, como tampoco la palatabilidad.

### 3.13 Análisis beneficio - costo

**Tabla 3-11:** Análisis del Beneficio - costo en la producción del ensilaje utilizada en la alimentación de pollos en etapa de engorde

<b>Rubro</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Unidad</b>	<b>Costo por unidad (\$)</b>	<b>Costo total</b>
<b>Insumos</b>				
Pollos Broiler	90		0,8	72
Balanceado	180	kg	0,64	115,2
Afrecho de trigo	20	Kg	0,45	9
Suero de leche	800	ml	0,00125	1
Jugo de caña	800	ml	0,00125	1
Yogurt	50	ml	0,03	1,5
Urea	50	g	0,1	5
Sal mineral	50	g	0,04	2
Sulfato de amonio	10	g	0,3	3
Agua	3,5	L	1	3,5
Melaza	800	ml	0,0125	10
Ácido ascórbico	200	g	0,3	60
Vísceras de tilapia	48	kg	0,104	5
<b>Subtotal 1</b>				288,2
<b>Manejo</b>				
Análisis de Laboratorio				64
Recipientes	27		5	135
Transportes	8		5	40
Mano de obra	5			5
<b>Subtotal 2</b>				244
<b>Egresos</b>				
venta de pollos	90		7,8	702
Ingresos	702			
Egresos	532,2			
<b>B/C</b>	<b>1,32</b>			

Realizado por: CALVA Irene

En la tabla 3-11: análisis del beneficio costo en la producción del ensilaje a escala industrial se observa que los egresos para la elaboración del ensilaje son de 532,2 dólares americanos mientras que los ingresos representan 702 dólares americanos el beneficio costo se calcula dividiendo los ingresos para los egresos dando como resultado 1,32, cuando  $B/C > 1$  indica que los beneficios son superiores a los costos, por consiguiente el proyecto fue viable o económicamente factible.

## CONCLUSIONES

- Se elaboró un ensilaje biológicamente acelerado a partir de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus*) para alimentación animal la cual fue evaluada mediante una prueba de campo para pollos broiler en etapa de engorde.
- Se caracterizaron las vísceras de tilapia (*Oreochromis mossambicus*) provenientes de la piscícola Cordero en el cantón Francisco de Orellana, las cuales presentaron en su análisis organoléptico un aspecto liso, su coloración fue brillante esto es característico de las vísceras frescas, en cuanto al olor fue agradable de igual manera característico de vísceras frescas, los análisis microbiológicos reflejaron  $7,7 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> de Mesófilos totales, Coliformes totales  $3 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, *Staphylococcus aureus*  $4,5 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup>, Mohos y levaduras  $41,8 \times 10^3$  UFC.g<sup>-1</sup> y de *Salmonella sp* 80 UFC.g<sup>-1</sup>
- Se realizaron 3 formulaciones con porcentajes de vísceras de tilapia, F1 se compuso con el 60% de vísceras de tilapia, F2 con el 70% de vísceras de tilapia, y F3 con el 80% de vísceras de tilapia, se utilizó como sustrato para el ensilaje biológicamente acelerado un preparado microbiano de acuerdo a las características organolépticas, análisis bromatológicos y análisis estadísticos se determinó que la mejor formulación fue F1 la que presentó mayor estabilidad y mayor aceptabilidad de los pollos broiler. Los ácidos orgánicos presentes en F1 el ácido láctico con 8%, ácido acético 0%, ácido butírico 0% registrándose mayor concentración de ácido láctico, en análisis microbiológicos Mesófilos totales 11 UFC.g<sup>-1</sup>, Coliformes totales 0 UFC.g<sup>-1</sup>, *Staphylococcus aureus* 0 UFC.g<sup>-1</sup>, para Mohos y levaduras 0 UFC.g<sup>-1</sup>, *Salmonella sp.* 0 UFC.g<sup>-1</sup> bacterias lácticas más de 200.000 UFC.g<sup>-1</sup>
- La prueba biológica de campo se llevó a cabo para determinar la aceptabilidad del producto. La ración alimenticia administrada durante 15 días fue de 6 kg de las dietas 90-10% obteniéndose un 56.6% de consumo y 43.33% de desperdicio, mientras con la otra dieta 80-20% concentrado-ensilaje, respectivamente se evidenció una menor cantidad de desperdicio 26, 6% claro indicativo de que los pollos broiler se inclinaron más por esta dieta, aceptando 4,4 kg del suplemento alimenticio.

- Mediante el análisis económico se determinó que el ensilaje biológicamente acelerado a partir de vísceras de tilapia se obtuvo un mayor grado de rentabilidad, determinándose índice de Beneficio - Costo de 1,32 USD, lo que quiere decir que por cada dólar de inversión hay una rentabilidad de 32 centavos de dólar.

## **RECOMENDACIONES**

- Realizar pruebas con el ensilado biológicamente acelerado a partir de vísceras de tilapia en las dietas alimenticias con otras especies zootécnicas.
- Utilizar variaciones en la formulación del ensilaje tomando en cuenta otras fuentes de carbohidratos como frutas.
- Usar el salvado de arroz como sustrato para remplazar al afrecho de trigo debido a que el arroz es una fuente energética que tiene alto valor nutritivo y uso potencial.
- Utilizar otras especies de pescados y sus vísceras para la elaboración del ensilaje biológicamente acelerado.

## BIBLIOGRAFÍA

**AJILA C., et. al.** "Bio-processing of agro-byproducts to animal feed". *Critical Reviews in Biotechnology*. [En línea] 2012 32(4), pp. 382-400. [Consulta: 16 mayo 2017]. Disponible en : [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612014000100013](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612014000100013)

**AGUDELO STERLING, Claudia Marcela. & ORTEGA TORO, Rodrigo.**, "*Estandarizacion del proceso de fermentación de ensilado biológico a partir de residuos y visceras de tilapia roja (oreochromis spp) producidas en el embalse La salvajina*" [En línea] (Tesis) (Grado), Universidad del Cauca, Popayán. 2010, pp. 19-82. [Consulta: 23 noviembre 2017]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/315612796\\_Estandarizacion\\_del\\_proceso\\_de\\_fermentacion\\_de\\_ensilado\\_biologico\\_a\\_partir\\_de\\_residuos\\_y\\_visceras\\_de\\_tilapia\\_roja\\_oreochromis\\_spp\\_producidas\\_en\\_el\\_embalse\\_la\\_salvajina\\_Departamento\\_del\\_Cauca\\_Colombia](https://www.researchgate.net/publication/315612796_Estandarizacion_del_proceso_de_fermentacion_de_ensilado_biologico_a_partir_de_residuos_y_visceras_de_tilapia_roja_oreochromis_spp_producidas_en_el_embalse_la_salvajina_Departamento_del_Cauca_Colombia)

**ARECHE, Nancy., BERENZ, Ziska. & LEÓN, Gabriel.**, "*Desarrollo de ensilado de residuo de pescado utilizando Bacterias Lacticas del Yogurt*". En: Segunda consulta de expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en America Latina. Roma: FAO. 1989. p. 51.

**BALSINDE , Mayra del Pilar., FRAGA Ileana . & GALINDO, José.** "Inclusión de ensilado de pescado como alternativa en la elaboración de alimento extruido para el camarón de cultivo (*Litopenaeus schmitti*)". *Civa*, [En línea] 2003, (Cuba). pp. 303-309. [Consulta: 14 mayo 2017]. Disponible en: <https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/2078/Balsinde%2c%20Fraga%2c%20Galindo%5b1%5d.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**BELLI, Jorge .,** *Estabilidad biológica y día óptimo de uso del ensilado biológico de pescado para la alimentación animal*, Veracruz. 2009. FAO. pp. 5-19.

**BELLO , Rafael.**, Experiencias con Ensilado de Pescado en Venezuela. En: *Tratamiento y Utilizacion de Residuos de origen animal, pesquero y alimenticio en la alimentación animal*. La Habana. 1994. FAO, p. 4.

**BERENZ, Ziska.**, *Utilizacion del ensilado de residuos de pescado en pollos*, La Habana. FAO. 1994. pp.15-28.



**BERMUDEZ, J., et.al.** "Ensilaje de vísceras de pescado Cachama blanca (*Piaractus brachyponum*) como fuente de proteína para la alimentación de cerdos de engorde en una dieta con aceite crudo de palma (*Elaeis guineensis* - *Elaeis oleifera*)". *Livestock Research for Rural*, [En línea], 1999, Colombia 11(19). p.1. [Consulta: 03 junio 2017], Disponible en: <http://www.lrrd.org/lrrd11/2/ocam112.htm>

**BERTULLO, Enrique.,** Segunda Consulta de expertos sobre tecnología de productos pesqueros en America Latina. Desarrollo del ensilado de pescado en America Latina, FAO: 1989. p. FII 819/RLAC/2..

**BORRÁS, Luis. & TORRES, Giovanni;** "Producción de alimentos para animales a través de fermentación en estado sólido". *Revista orinoquia*. Meta. 2016, Cali, pp. 48-53.

**CÁRDENAS, José; SOLORIO, Francisco; & SANDOVAL, Carlos.,** *Ensilaje de forraje alternativa para la alimentación de rumiantes en el trópico*. De las Universidades . Mérida . 2004. pp. 13-26.

**CASTILLO, Luis;** "Tilapia roja", *arizonaedu*. [En línea] 2006. Colombia, 1(1) p.14 [Consulta: 19 mayo 2017]. Disponible en: <https://ag.arizona.edu/azaqua/ista/Colombia/TILAPIAROJA2006.pdf>

**CONTRERAS, Francisco; MUCK, Richard.,** "Inoculantes microbiales para ensilajes". *Focus on forage*, [En línea] 2006. (Wisconsin). 8 (4), pp. 1-4. [Consulta: 19 mayo 2017]. Disponible en: <https://fyi.uwex.edu/forage/files/2014/01/Microbial-Inoculants-for-Silage-Espanol.pdf>

**COPEZ J., PELLICER K., DEL HOYO G., & GARCÍA .,** Producción de ensilado de pescado en baja escala para el uso de emprendimientos artesanales. *Analecta Veterinaria*, [En línea] 2006. (Argentina). 26, pp. 5-8. [Consulta: 20 mayo 2017]. SSN: 0365-5148. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11184/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/11184/Documento_completo.pdf?sequence=1)

**CRUEGER, Wulf. & CRUEGER, Annaliese;** *Biología: manual de microbiología industrial*. Zaragoza, Acribia. 1993. pp. 220-230

**DE LA ROZA Begoña.**, IV Jornadas de alimentación animal, laboratorio de Mouriscade. [En línea]. 2005. (Pontevedra), pp. 5. [Consulta: 08 Noviembre 2017] Disponible en: [http://www.mouriscade.com/doc\\_ponencias/oct2005/ensilado\\_zonas\\_humedas\\_e\\_indicadores\\_calidad.pdf](http://www.mouriscade.com/doc_ponencias/oct2005/ensilado_zonas_humedas_e_indicadores_calidad.pdf)

**DÍAZ RÍOS, Héctor Luis.** *Efecto de la suplementación con ensilaje de residuos de una planta procesadora de tilapia (*Oreochromis niloticus*) sobre el consumo voluntario y la digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas y leguminosas tropicales suplementadas con ensilaje de residuos de pescadería.*, [En línea] (Tesis) (Maestría) Universidad de Mayaguez, (Puerto Rico). 2004. pp. 12-25. [Consulta: 19 mayo 2017]. Disponible en: [http://www.unipaz.edu.co/ojs/index.php/revcitecsa/article/view/40/pdf\\_2](http://www.unipaz.edu.co/ojs/index.php/revcitecsa/article/view/40/pdf_2)

**FAJARDO CASTILLO Erika., SARMIENTO FORERO Sandra.**, “Evaluación de la melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*”, [En línea] (Tesis) (Pregrado), Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Básicas, Microbiología Industrial, Bogotá- Colombia, 2007, pp. 23-27. [Consulta: 12 julio 2017]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf>

**Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO.** [En línea] *Desarrollo de la acuicultura.* [Consulta: 19 mayo 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/014/i1750s/i1750s.pdf>

**GOMEZ Gilma, et.al.** Evaluación del ensilaje de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en alimentación de pollos de engorde. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* [en línea]. 2014 (Perú) 12 (1), pp. 106-114. [Consultado 10 de septiembre 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n1/v12n1a13.pdf>

**GONZALES , Deokie. & MARÍN, Mamerto.**, "Obtención de ensilados biológicos a partir de desechos del procesamiento de sardinas". *Revista Científica.* [En línea]. 2005, (Venezuela) 12(6). pp. 560-567. [Consulta: 25 mayo 2017]. SSN 0798-2259. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/959/95915611.pdf>

**GOTTELAND Martín,** Alimentos simbióticos. Salud [en línea]. 2010 [Consultado 15 octubre 2017]. 2010, (Chile) 12(1) 5-6 páginas. Disponible en: <http://www.dinta.cl/wpcontent/uploads/alimentos-simbioticos1.pdf>

**JAUQUE PUCA, Silvia Elizabeth.**, *Evaluación de un simbiótico nativo formulado a base de jugo de caña, yogurt natural y suero de leche en la alimentación de pollos broiler* (Tesis), (Grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Riobamba-Ecuador. 2015, pp. 22-35

**JUSCAMAITA Juan, et.al.** "Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado" *Ecología Aplicada*, [En línea]. 2008, (Perú) 7(1,2). pp. 149-158. [Consulta: 25 mayo 2017]. SSN 1726-2216. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=34111584018>

**LLANES José., TOLEDO José., FERNÁNDEZ Ibrain. & LAZO DE LA VEGA, José.** "Estudio del ensilado biológico de pescado como inóculo de bacterias lácticas en la conservación de desechos pesqueros". *Revista de veterinaria*, [En línea]. 2007, (Cuba) 7(9) pp. 1-6. [Consulta: 25 mayo 2017]. SSN 1695-7504. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090728.pdf>

**LEROY Frédéric, DE VUYST Luc.**, "Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry". *Trends in Food Science & Technology*. [En línea]. 2004, (Canadá) 15(2) pp. 67-68. [Consulta: 25 mayo 2017]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224403002085>

**LÓPEZ Fausto.**, Seminario "Cultivo Industrial de Tilapia". Quito-Ecuador., 2002. pp 72.

**MARTÍNEZ PRADA Renson.** *Producción de un ensilado biológico a partir de vísceras de pescado de las especies *prochilodus mariae* (coporo), *Pseudoplatystoma fasciatum* (bagre rayado) y *Phractocephalus hemiliopterus* (cajaro)*, [En línea]. (Trabajo de grado) (Pasantías) Universidad Nacional de Colombia sede Arauca, Arauca. 2003. pp. 24-83. [Consulta: 25 mayo 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/10518/1/PRODUCCION%20DE%20UN%20ENSILADO%20BIOLOGICO%20A%20PARTIR%20DE%20VISCERAS%20DE%20PESCADO%20DE%20LAS%20ESPECIES%20Prochilodus%20mariae%20%28coporo%29%2C%20Pseudoplatystoma%20fasciatum%20%28bagre%20rayado%29%20y%20Phractocephalus%20hemiliopterus%20%28cajaro%29.pdf>

**MCDONALD, Peter., HENDERSON Nancy., HERON Shirley.**, *The biochemistry of silage*. 2<sup>da</sup> ed. Londres. Chalcombe publicatons. 1991. pp 323-340

**NOBOA ABDO, Tamia Elizabeth.**, *Caracterización fermentativa, bioquímica y microbiológica de un preparado microbiano nativo con potencial uso en animales domésticos* (Tesis), (Grado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias. Riobamba-Ecuador. 2015, pp. 24-30.

**ONTERU, Suneel., AMPARIE, Agatha. & ROTHSCHILD, Max.**, "Biotechnology developments in the livestock". *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 2010. [En línea]. (USA), 27. pp. 217-228. [Consulta: 22 julio 2017]. SSN: 0264-8725. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/02648725.2010.10648151>

**OUDE, Stefanie., DRIEUHUIS, Frank., GOTTSCHAL, Jam. & SPOELSTRA, Sierk.**, *Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación*. Roma: FAO, 2001, pp.17-30.

**PALLARES, Paúl. & BORBOR, Wilson.**, *Efectos del ácido omega 3 y la combinación omega 3 - omega 6 en la alimentación de la Tilapia roja (Oreochromis spp.) en la finca el porvenir; preparroquia San Gabriel del Baba Km 9 vía a Julio Moreno, en la zona de Santo Domingo, (Informe técnico)(Proyecto de Investigación) Ecuador. 2012. p 24*

**PASTRANA L.**, "Fundamentos de fermentación en estado sólido".[En línea]. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 1996. (México) 3(1), pp. 4-12. [Consulta: 25 julio 2017]. SSN: 1135-8122. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/11358129609487556>

**PAZ, Luis.**, "Fermentación" 2014. [Blog] . [Consulta : 16 Mayo 2017] Disponible en: <http://lepq7496.blogspot.com/2014/01/capitulo-i-1.html>.

**POOT, Carlos. & NOVELO, Rafael.**, *ABC Cultivo integral de tilapia*. [En línea] Tilapia 2012. (Campeche), 1, pp. 5-12. [Consulta: 19 Mayo 2017]. Disponible en: <http://www.scribd.com/doc/20458321/ABC-en-El-Cultivo-Integral-de-LaTilapia>

**RIDER, S.** "Forage additives". *Farmers weekly, Forage additives Forage additive*. n°1 (1) (1997). Massachusets. pp. S1-S16.

**RODRÍGUEZ, Abner.** "Técnicas de procesamiento biológico de producción agrícola". *Integrando producción animal y medio ambiente*, n°1 (1) (2005). pp. 5-6.

**SAMUELS , W., FONTENOT, V. & ABAZINGE, M.** "Seafood processing wastes ensiled with straw: utilization and intake by sheep". *Dl.sciencesocieties*, [En línea] 1991 (USA), 1(1), pp. 4983-4992. [Consulta: 16 Mayo 2017]. Disponible en: <https://dl.sciencesocieties.org/publications/jas/abstracts/69/12/4983?access=0&view=pdf>

**SPANOPOULUS M., et.al.** "Producción de ensilados biológicamente a partir de desechos de pescado, del ahumado de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*) para la alimentación de especies acuáticas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, , [En línea], 2010. (Iztapalapa) 9(2). pp. 167-178. [Consulta: 16 Mayo 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/620/62016248004.pdf>

**TOLEDO , José. & LLANES, José.,** Estudio comparativo de los residuos de pescado por vías bioquímica y biológica. *Revista AquaTIC*. [En línea]. 2006. (La Habana). 1(25). pp. 28-33. [Consulta: 02 Junio 2017]. Disponible en: [http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/25\\_05.pdf](http://www.revistaaquatic.com/aquatic/pdf/25_05.pdf)

**VALENCIA Alberto., HERNÁNDEZ Antonio. & LÓPEZ Lorena.,** "Ensilado para que es y para que sirve". *Revista de divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana* [En línea]. 2011. (Veracruz), 2(24). pp. 1-20. [Consulta: 26 Septiembre 2017]. Disponible en: <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/ensilaje/>

**VELOZ, Nancy.,** *Enriquecimiento proteico de residuos de pescado mediante fermentación sólida*, 2004.

**ANEXOS.**

**ANEXO A: NORMA MEXICANA NMX-F436-SCFI-2011**



**NORMA MEXICANA**

**NMX-F-436-SCFI-2011**

**INDUSTRIA AZUCARERA Y ALCOHOLERA -  
DETERMINACIÓN DE GRADOS BRIX EN JUGOS DE  
ESPECIES VEGETALES PRODUCTORAS DE AZÚCAR Y  
MATERIALES AZUCARADOS - MÉTODO DEL  
REFRACTÓMETRO  
(CANCELA A LA NMX-F-436-1982)**

**SUGAR AND ALCOHOL INDUSTRY - BRIX DEGREES  
DETERMINATION IN PLANT JUICE - PRODUCING SUGAR AND  
SUGARS MATERIALS - REFRACTOMETER METHOD**



## 6 PROCEDIMIENTO

6.1 De ser necesario, colar la muestra de la solución que contenga principalmente sacarosa.

**NOTA 2:** En caso de muestras con alta densidad, se deben diluir con agua y la lectura refractométrica debe multiplicarse por el factor de dilución.

6.2 Enjuagar el prisma con agua.

6.3 Tomar una gota de la solución y colocarla en el refractómetro.

6.4 Observar la escala del refractómetro y anotar la lectura indicada.

**NOTA 3:** La temperatura se corrige automáticamente, de acuerdo con el refractómetro. La limpieza del equipo debe hacerse atendiendo el instructivo del mismo.

## 7 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

La lectura indicada por el refractómetro es igual al ° Brix de la muestra.

## 8 REPETIBILIDAD



La diferencia entre los valores extremos de una serie de determinaciones efectuadas a una misma muestra por un mismo analista, no debe ser mayor de 0,01 % del valor promedio de todas las determinaciones.

## 9 VIGENCIA

La presente norma mexicana entrará en vigor 60 días naturales después de la publicación de su declaratoria de vigencia en el **Diario Oficial de la Federación**.

## ANEXO B. ANALISIS BROMATOLÓGICOS DE LAS FORMULACIONES F1-F2-F3

MC-LSAIA-2201-04

	<p><b>INSTITUTO NACIONAL AUTÓNOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</b>  <b>ESTACION EXPERIMENTAL SANTA CATALINA</b>  <b>DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y CALIDAD</b>  <b>LABORATORIO DE SERVICIO DE ANALISIS E INVESTIGACION EN ALIMENTOS</b>                  Panamericana Sur Km. 1, Cubagagua Tels. 2990991-3267134. Fax 3267134                  Casilla postal 17-01-340</p>	
---	--	---

INFORME DE ENSAYO No: 17-112

<b>NOMBRE PETICIONARIO:</b> Srta. Irene Calva <b>DIRECCION:</b> El Coca <b>FECHA DE EMISION:</b> 15/06/2017 <b>FECHA DE ANALISIS:</b> Del 31 de mayo al 14 de junio de 2017	<b>INSTITUCION:</b> Particular <b>ATENCION:</b> Srta. Irene Calva <b>FECHA DE RECEPCION:</b> 30/05/2017 <b>HORA DE RECEPCION:</b> 14H25 <b>ANALISIS SOLICITADO:</b> Proximal	
--	--	--

ANÁLISIS	HUMEDAD	CENIZAS <sup>Ω</sup>	E.E. <sup>Ω</sup>	PROTEÍNA <sup>Ω</sup>	FIBRA <sup>Ω</sup>	E.L.N. <sup>Ω</sup>	IDENTIFICACIÓN
METODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-01.02	MO-LSAIA-01.03	MO-LSAIA-01.04	MO-LSAIA-01.05	MO-LSAIA-01.06	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	U. FLORIDA 1970	
UNIDAD	%	%	%	%	%	%	
17-0679	50,53	11,56	30,62	19,57	6,51	31,74	Ensayo Formulación 1 T1
17-0680	48,94	11,69	31,10	19,71	5,64	31,67	Ensayo Formulación 1 T2
17-0681	49,48	13,16	28,21	19,80	6,21	32,62	Ensayo Formulación 1 T3
17-0682	52,93	13,21	36,79	19,74	4,57	25,69	Ensayo Formulación 2 T1
17-0683	55,33	13,10	33,11	20,86	4,79	28,14	Ensayo Formulación 2 T2
17-0684	51,87	11,71	36,03	20,51	4,81	26,94	Ensayo Formulación 2 T3
17-0685	65,81	11,09	50,86	19,51	2,89	15,87	Ensayo Formulación 3 T1
17-0686	66,00	10,61	52,70	19,11	2,32	15,26	Ensayo Formulación 3 T2
17-0687*	44,51	9,58	44,08	17,67	1,71	26,97	Ensayo Formulación 3 T3

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

\*: Muestra calculada sin humedad

RESPONSABLES DEL INFORME

  
 Dr. Iván Samaniego MSc.  
 RESPONSABLE TÉCNICO



Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo

NOTA DE DESCARGO: La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra estrictamente prohibida. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error, por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información.



## ANEXO C. RESULTADOS EXPERIMENTALES

### Prueba de homogeneidad de varianzas

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
HUMEDAD	12,525	2	6	,007
CENIZAS	,122	2	6	,888
EE	3,448	2	6	,101
PROTEINA	4,386	2	6	,067
FIBRA	1,667	2	6	,266
ELN	11,241	2	6	,009
pH	2,667	2	6	,148
TEMPERATURA	,857	2	6	,471

### ANOVA de un factor

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
HUMEDAD	Inter-grupos	127,376	2	63,688	1,222	,359
	Intra-grupos	312,773	6	52,129		
	Total	440,149	8			
CENIZAS	Inter-grupos	8,295	2	4,148	5,906	,038
	Intra-grupos	4,214	6	,702		
	Total	12,509	8			
EE	Inter-grupos	593,787	2	296,893	33,276	,001
	Intra-grupos	53,533	6	8,922		
	Total	647,320	8			
PROTEINA	Inter-grupos	3,876	2	1,938	4,554	,063
	Intra-grupos	2,553	6	,426		
	Total	6,429	8			
FIBRA	Inter-grupos	23,214	2	11,607	76,790	,000
	Intra-grupos	,907	6	,151		
	Total	24,121	8			
ELN	Inter-grupos	243,389	2	121,694	8,100	,020
	Intra-grupos	90,147	6	15,024		
	Total	333,536	8			
pH	Inter-grupos	,009	2	,004	,667	,548
	Intra-grupos	,040	6	,007		
	Total	,049	8			
TEMPERATURA	Inter-grupos	,667	2	,333	,375	,702
	Intra-grupos	5,333	6	,889		
	Total	6,000	8			

### HUMEDAD

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
1	3	49,600	
2	3	53,367	
3	3	58,767	
Sig.			,183

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### CENIZAS

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
3	3	10,427	
1	3		12,167
2	3		12,667
Sig.		1,000	,492

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### EE

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
1	3	29,967	
2	3	35,300	
3	3		49,233
Sig.		,071	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### PROTEÍNA

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
3	3	18,767	
1	3	19,700	19,700
2	3		20,367
Sig.		,130	,257

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### FIBRA

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
3	3	2,2367		
2	3		4,7233	
1	3			6,1200
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### ELN

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
3	3	19,400	
2	3	26,900	26,900
1	3		32,067
Sig.		,056	,154

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## pH

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
1	3	4,4667
2	3	4,4667
3	3	4,5333
Sig.		,370

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## TEMPERATURA

Duncan<sup>a</sup>

FORMULACION	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
2	3	21,000
1	3	21,333
3	3	21,667
Sig.		,434

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

**ANEXO D. INCREMENTO DE PESO EN POLLOS BOILE DURANTE LA PRUEBA  
DE CAMPO**

<b>PROMEDIO DE INCREMENTO DE PESO DIARIO EN LAS AVES DURANTE EL ENSAYO</b>									
<b>DIAS</b>	<b>Prueba testigo</b>			<b>Dieta 90:10</b>			<b>Dieta 80:20</b>		
	<b>MAÑANA</b>	<b>TARDE</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>MAÑANA</b>	<b>TARDE</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>MAÑANA</b>	<b>TARDE</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
1	4	4,5	4,25	4	4,5	4,25	4	4,5	4,25
2	4	4,3	4,15	3,5	3,8	3,65	4,5	5	4,75
3	3	3,5	3,25	3	3,5	3,25	4,2	4	4,1
4	5	5,5	5,25	4,5	5	4,75	4,4	5	4,7
5	5,5	5,8	5,65	4,2	4,5	4,35	4	4,5	4,25
6	5,2	5,6	5,4	4	4,3	4,15	4,8	5,2	5
7	5	5,2	5,1	4,8	5	4,9	5	5,5	5,25
8	5,5	6	5,75	4,5	5	4,75	5,5	6	5,75
9	5,9	6,3	6,1	5	5,3	5,15	6	5,8	5,9
10	5,6	6	5,8	5,3	5,8	5,55	6,3	6	6,15
11	6,4	5,5	5,95	5,5	6	5,75	6	6,3	6,15
12	6	5	5,5	6	6,4	6,2	5,5	6	5,75
13	5,9	5,4	5,65	5,3	5,8	5,55	5,9	6,2	6,05
14	5,4	6	5,7	6,5	6	6,25	5,5	5,9	5,7
15	6,2	5	5,6	6,2	6,5	6,35	6,1	6	6,05
			5,27			4,99			5,32

## ANEXO F. FOTOGRAFÍAS

**Fotografía 1.** Piscícola Cordero



**Fotografía 2.** Selección de las tilapias para el proceso de eviscerado.



**Fotografía 3.** Eviscerado de la tilapia roja.



**Fotografía 4.** Identificación de la materia prima – vísceras



**Fotografía 5.** Ingredientes para la preparación del inóculo.



**Fotografía 6.** Mezcla de los Ingredientes para la preparación del inóculo.





**Fotografía 7.** Medición inicial pH del inóculo.



**Fotografía 8.** Elaboración del ensilaje.



**Fotografía 9.** Fermentación del ensilaje



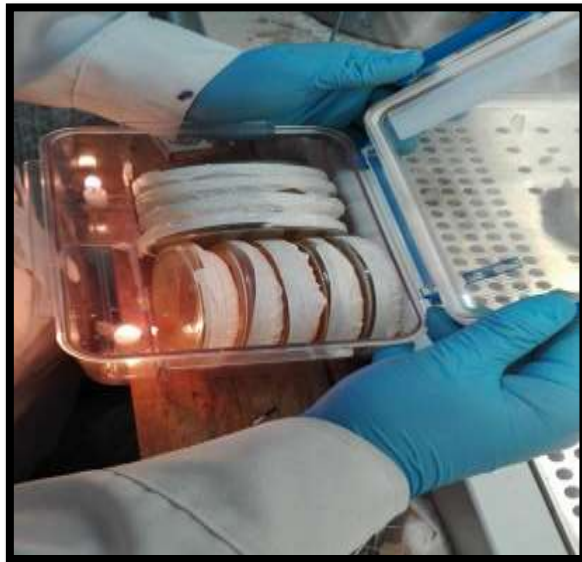
**Fotografía 10.** Ph Final del ensilaje biológicamente acelerado.



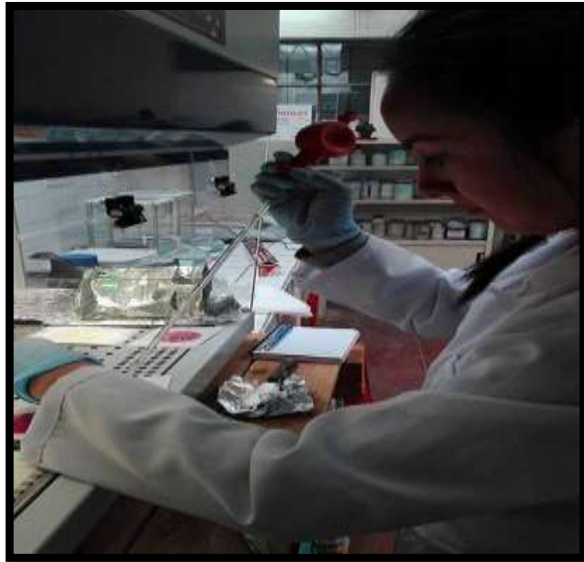
**Fotografía 11.** Preparación de los medios de cultivo



**Fotografía 12.** Caja de anaerobiosis para determinación de BAL



**Fotografía 13.** Análisis microbiológicos del ensilaje biológicamente acelerado



**Fotografía 15.** Presencia de bacterias ácido lácticas



**Fotografía 16.** Tinción Gram para la identificación de bacterias



**Fotografía 17.** Identificación de bacterias tenidas



**Fotografía 18.** Aplicación del ensilaje biológicamente acelerado en pollos broiler en etapa de engorde



**Fotografía 19.** Resultado final de la prueba biológica en campo



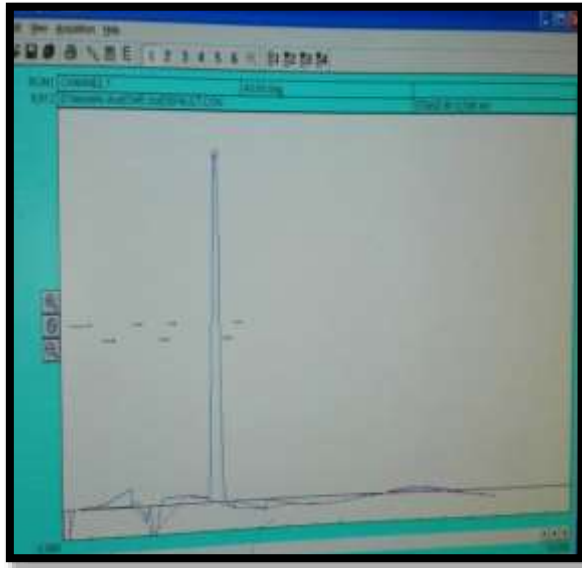
**Fotografía 20.** Análisis de ácidos orgánicos del ensilaje.



**Fotografía 21.** Muestras de los ácidos a analizarse en el equipo PHLC.



**Fotografía 22.** Tiempo de retención del ácido láctico 5,36 min.



**Fotografía 23.** Análisis microbiológico final del ensilaje biológicamente acelerado





**Fotografía 24.** Obtención de resultados de la tinción Gram.

