



**SEP**

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba

“2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata”

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

OPCIÓN I.- TESIS

TRABAJO PROFESIONAL

“PRODUCCIÓN DE LA ESPECIE

*Saccharomyces cerevisiae* MEDIANTE

LA BIOCONVERSIÓN DE EXCRETAS PORCINAS”.

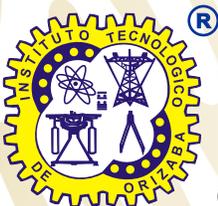
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS  
EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

*Ing. Lucero Herrera Quitl*

DIRECTOR DE TESIS:

*Dr. Juan Manuel Méndez Contreras*



ORIZABA, VERACRUZ, MÉXICO.

JUNIO 2019



**SEP**  
SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

FECHA: 07/06/2019  
DEPENDENCIA: POSGRADO  
ASUNTO: Autorización de Impresión  
OPCIÓN: I

**C. LUCERO HERRERA QUITL**  
CANDIDATO A GRADO DE MAESTRO EN:  
**CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA**

De acuerdo con el Reglamento de Titulación vigente de los Centros de Enseñanza Técnica Superior, dependiente de la Dirección General de Institutos Tecnológicos de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora le hizo respecto a su Trabajo Profesional titulado:

**"PRODUCCION DE LA ESPECIE SACCHAROMYCES CEREVISIAE MEDIANTE LA BIOCONVERSION DE EXCRETAS PORCINAS".**

Comunico a Usted que este Departamento concede su autorización para que proceda a la impresión del mismo.

A T E N T A M E N T E

**DR. RUBEN POSADA GOMEZ**  
**JEFE DE LA DIV. DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



Avenida Oriente 9 Núm. 852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz, México

Tel. 01 (272) 7 24 40 96, Fax. 01 (272) 7 25 17 28 e-mail: orizaba@itorizaba.edu.mx

www.orizaba.tecnm.mx





**SEP**  
SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MEXICO

Instituto Tecnológico de Orizaba

"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

FECHA : 31/05/2019

ASUNTO: Revisión de Trabajo Escrito

**C. DR. RUBEN POSADA GOMEZ**  
JEFE DE LA DIVISION DE ESTUDIOS  
DE POSGRADO E INVESTIGACION.  
P R E S E N T E

Los que suscriben, miembros del jurado, han realizado la revisión de la Tesis del (la) C. :

**LUCERO HERRERA QUITL**

la cual lleva el título de:

**"PRODUCCION DE LA ESPECIE SACCHAROMYCES CEREVISIAE MEDIANTE LA BIOCONVERSION DE EXCRETAS PORCINAS".**

Y concluyen que se acepta.

A T E N T A M E N T E

PRESIDENTE : DR. JUAN MANUEL MENDEZ CONTRERAS

SECRETARIO : DR. ALEJANDRO ALVARADO LASSMAN

VOCAL : M. I. NORMA ALEJANDRA VALLEJO CANTU

VOCAL SUP. : M. C. MARIA ELENA GARCIA REYES

\_\_\_\_\_  
FIRMA

\_\_\_\_\_  
FIRMA

\_\_\_\_\_  
FIRMA

\_\_\_\_\_  
FIRMA

EGRESADO(A) DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS EN INGENIERIA QUIMICA

OPCION: I Tesis



Avenida Oriente 9 Núm. 852, Colonia Emiliano Zapata, C.P. 94320 Orizaba, Veracruz, México

Tel. 01 (272) 7 24 40 96, Fax. 01 (272) 7 25 17 28 e-mail: orizaba@itorizaba.edu.mx

www.orizaba.tecnm.mx



## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios por dotarme de salud y los dones que me hacen ser la mujer que soy y seré.*

*A mi familia por siempre ser el pilar de mi vida, agradezco a mis padres que sin su guía y amor no sería la mujer que han ayudado a formar no existiría, a mi hermano que me ha enseñado a reconocer mis fortalezas y debilidades.*

*A mi abuelo, a tu corazón amoroso que siempre se sintió orgulloso de mis logros y creía en mí.*

*A mi maestro Jair, a mis amigos Marian y Raúl, que me han enseñado a conocerme cada día más y que el trabajar por tus proyectos necesita pasión, paciencia, confianza y sobre todo mucha determinación.*

*A mis colegas del laboratorio, su apoyo y conocimientos fueron de mucha ayuda no solo para la realización de este trabajo, también para mi crecimiento profesional y humano.*

*A mí misma por demostrarte que con algo de positivismo, fe, disciplina y trabajo puedes alcanzar lo que te propongas.*

## RECONOCIMIENTOS

*A mi asesor de tesis, el Dr. Juan Manuel Méndez Contreras, por haberme brindado el apoyo y la confianza de pertenecer a su grupo de investigación.*

*Al Dr. Alejandro Alvarado Lassman, a la M.I.Q. Norma A. Vallejo Cantú y a la Dr. María Elena, por sus aportes y observaciones durante la realización del proyecto de investigación.*

*A cada uno de los profesores de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Química por compartir sus conocimientos y por todas sus enseñanzas.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca no. 817695 otorgada durante el periodo comprendido de 12 de abril del 2016 al 1 de Febrero del 2019.*

## RESUMEN

**Elaborado por:** I.Q. Lucero Herrera Quitl

**Dirigido por:** Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

**Co-asesor:** Dr. Alejandro Alvarado Lassman

Una de las principales problemáticas que sufre la industria porcícola a nivel mundial, es el manejo de las excretas, ya que se producen en gran cantidad y deben ser retiradas diariamente de las instalaciones, usualmente la disposición de estos residuos se destina al mejoramiento de suelos, generación de energía y ensilado.

En promedio en la granja de estudio se generan 2.35 kg de excreta al día. Las cuales se conforman de nitrógeno, fósforo, calcio, potasio, sodio, magnesio, cobre, zinc, manganeso e hierro, de estos elementos el ganado porcino excreta el 60 % de nitrógeno, 80 % de calcio, 80 % fósforo y 95 % potasio, sodio, magnesio, cobre y zinc. Se sabe también que las excretas contienen material patógeno como es la *Salmonella*, *E. Colli* y Helminthos, es por eso que se llevó a cabo un pretratamiento térmico para la remoción de patógenos y garantizar la inocuidad de la biomasa, ya que esta será dispuesta como complemento alimenticio para animales de granja.

Los elementos mencionados en grandes cantidades pueden ser perjudiciales al medio ambiente generando problemas como la eutrofización o contaminación del aire. Pero también representan una gran fuente de nutrientes y por lo tanto se realizó una bioconversión llevada a cabo por levaduras (*Saccharomyces Cerevisiae*), las cuales utilizaron los nutrientes que se encuentran en las excretas porcinas para generar biomasa benéfica. De los experimentos llevados a cabo el experimento H fue óptimo produciendo 15.43 g de levadura en un volumen de 350 ml, presentando 50 g de carbohidratos y 30 % de proteínas, las propiedades de la biomasa obtenida se consideran buenas debido a que se asemejan a las propiedades que las levaduras de marcas comerciales presentan.

## ABSTRACT

**By:** I.Q. Lucero Herrera Quitl

**Advisor:** Dr. Juan Manuel Méndez Contreras

**Co-advisor:** Dr. Alejandro Alvarado Lassman

One of the main problems that the swine industry suffers is the handling of excreta, since they are produced in large quantities and must be removed daily from the facilities, usually the disposition of these residues is destined to the improvement of soils, generation of energy and ensilage.

On average, 2.35 kg of excreta per day are generated. Which are composed of nitrogen, phosphorus, calcium, potassium, sodium, magnesium, copper, zinc, manganese and iron, of these elements the pigs excrete 60 % nitrogen, 80 % calcium, 80 % phosphorus and 95 % potassium, sodium, magnesium, copper and zinc. It is also known that excreta contain pathogenic material such as *Salmonella*, *E.Coli* and Helminths, that is why it is proposed to give a thermal pre-treatment for the removal of said pathogens and ensure the safety of the biomass, since this will be arranged as food supplement for farm animals.

The aforementioned elements in large quantities can be harmful to the environment, causing problems such as eutrophication or air pollution. But they also represent a great source of nutrients and therefore it is proposed to carry out a bioconversion carried out by yeasts (*Saccharomyces Cerevisiae*), which will use the nutrients found in porcine excreta to generate beneficial biomass. Yeasts are a good source of probiotics, which help maintain a healthy intestinal flora and decrease the application of medications which is an interesting benefit of probiotics that are administered in animals, so it guarantees that the animal in question is healthier than those who meditate more frequently.

## ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS	IV
NOMENCLATURA	VI
INTRODUCCIÓN	7
OBJETIVOS	9
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS	11
1.1 Porcinos	11
1.2 Excretas porcícolas	13
1.3 Clasificación de las excretas y sus componentes nutricionales	15
1.4 Pérdida de nutrientes	18
1.5 Alternativas de manejo de residuos en granjas porcinas	18
1.6 Núcleos nutricionales	21
1.7 Levadura <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	21
1.8 <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> en la industria agrícola	23
1.9 Fase de crecimiento de <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	26
1.10 Información Nutricional	27
1.11 Biotransformación mediante el proceso de glucólisis	29
1.12 Proceso de la glucólisis	30
1.12.1 Primera etapa	30
1.12.2 Segunda etapa	32
CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA Y MATERIALES	36
2.1 Metodología	36
2.2 Obtención y Caracterización del residuo porcícola.	37
2.3 Diseño de experimento	37
2.4 pH	38
2.5 Sólidos totales	38
2.6 Sólidos volátiles	39
2.7 Carbohidratos	39
2.8 Proteínas	40
2.9 Grasas y aceites	41
2.10 Coliformes fecales	41
2.11 <i>Salmonella</i> spp	42
2.12 Determinación de parámetros cinéticos de inactivación de microorganismos patógenos a partir del pretratamiento térmico.	42

2.13 Evaluación del efecto de la adición de sustratos sintéticos y orgánicos en el desarrollo de la levadura ( <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> ).	43
2.14 Determinación de parámetros cinéticos de crecimiento de la especie <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> .	45
CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1 Caracterización del residuo porcícola	48
3.2 Inactivación de microorganismos patógenos a partir del pretratamiento térmico.	49
3.3 Evaluación de crecimiento de <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> en excreta porcícola.	55
3.4 Evaluación de sustratos orgánicos en el desarrollo de la levadura <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> .	59
3.5 Diseño experimental	64
3.6 Evaluación de la calidad de la biomasa obtenida con base en su contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas.	65
CONCLUSIONES	68
ANEXO A	72
ANEXO B	76
BIBLIOGRAFÍA	81

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. 1 Excreción anual de nutrientes (Domínguez- Araujo et al., 2014)	17
Tabla 1. 2 Composición nutritiva de excretas porcinas (Salazar., 2013)	17
Tabla 1. 3 Características nutricionales de <i>S. Cerevisiae</i> en cada 100 gramos (Datos nutricionales, base de datos española)	27
Tabla 1. 4 Continuación. Características nutricionales de <i>S. Cerevisiae</i> en cada 100 gramos (Datos nutricionales, base de datos española)	28
Tabla 1. 5 Características nutricionales del sorgo en cada 100 gramos. Fuente: (Datos nutricionales, base de datos española)	29
Tabla 1. 6 Características nutricionales del maíz en cada 100 gramos (Datos nutricionales, base de datos española)	29
Tabla 2. 1 Análisis fisicoquímico	37
Tabla 3. 1 Análisis fisicoquímico de lodo crudo	48
Tabla 3. 2 Análisis fisicoquímico de lodo pretratado térmicamente (NMP: Número Más Probable)	50
Tabla 3. 3 Resultados de lodo pretratado térmicamente a diferentes temperaturas	50
Tabla 3. 4 Continuación de resultados de lodo pretratado térmicamente a diferentes temperaturas	51
Tabla 3. 5 Parámetros cinéticos del pretratamiento térmico	54
Tabla 3. 6 Porcentaje de consumo de cada experimento.	58
Tabla 3. 7 Parámetros cinéticos de los ensayos	59
Tabla 3. 8 Parámetros cinéticos de los experimentos	62
Tabla 3. 9 Proporciones utilizadas para cada experimentación	62
Tabla 3. 10 Proporciones utilizadas para cada experimentación	64
Tabla 3. 11 Proporciones utilizadas para cada experimentación	64
Tabla 3. 12 Prueba de medias para medios de lactosuero y melaza	65
Tabla 3. 13 Prueba de medias para generación de biomasa con sustrato de lactosuero y excreta	65
Tabla 3. 14 Cantidad e información nutricional de la biomasa obtenida	66

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. 1 Sistema integral de producción sostenible (SIPIS).	19
Figura 1. 2 Ciclo de vida de <i>S. Cerevisiae</i> .	25
Figura 1. 3 Fases decrecimiento de <i>S. Cerevisiae</i> (Gíl et al., 2015)	27
Figura 1. 4 Glucosa convertida a glucosa-6-fosfato. (Rosales, 2007)	30
Figura 1. 5 Glucosa-6-fosfato convertida a fructuosa-6-fosfato. (Rosales et al., 2007)	31
Figura 1. 6 Fructuosa-6-fosfato a fructuosa 1,6 bifosfato (Rosales et al., 2007)	31
Figura 1. 7 Culminación de la primera etapa de la glucólisis (Rosales et al., 2007)	31
Figura 1. 8 Gliceraldehido-3-fosfato a ácido 1,3 bifosfoglicérico. (Rosales et al., 2007)	32
Figura 1. 9 Ácido 1,3 bifosfoglicérico a ácido 3 fosfoglicérico. (Rosales et al., 2007)	32
Figura 1. 10 Ácido 3 fosfoglicérico a ácido 2 fosfoglicérico. (Rosales et al., 2007)	33
Figura 1. 11 Ácido 2 fosfoglicérico a ácido fosfoenolpirúvico. (Rosales et al., 2007)	33
Figura 1. 12 Culminación de la etapa 2 de la glucólisis (Rosales et al., 2007)	33
Figura 1. 13 Resumen del proceso de glucólisis. (Rosales et al., 2007)	34
Figura 2. 1 Metodología	36
Figura 2. 2 Recipientes con muestra de desecho porcícola.	43
Figura 2. 3 Metodología para la evaluación del desarrollo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en lacto suero, adaptado de S.M.Carrión.	44
Figura 2. 4 Metodología para la evaluación del desarrollo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en melaza, adaptado de Fajardo Castillo.	44
Figura 2. 5 Metodología para la evaluación del desarrollo de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en el residuo porcícola adicionado con sustrato sintético, adaptado de Castillo Romero.	45
Figura 3. 1 Curva de inactivación de Coliformes fecales	54
<i>Figura 3. 2 Curva de inactivación de Salmonella spp</i>	55
Figura 3. 3 Representación del consumo de sustrato con diferentes cantidades de excreta y levadura por cada experimento establecido como A, B, C, D.	57
<i>Figura 3. 4 Resultados de la cinética para la generación de biomasa, en los experimentos A, B, C y D.</i>	58

Figura 3. 5 Representación del crecimiento de la levadura con concentración celular y consumo de sustrato con respecto al tiempo en un medio de lactosuero 20 % V/V.	60
Figura 3. 6 Representación del crecimiento de la levadura con concentración celular y consumo de sustrato con respecto al tiempo en un medio de melaza 10 % V/V.	61
Figura 3. 7 Concentración celular del sustrato elaborado con lactosuero y excreta	62
Figura 3. 8 Consumo del sustrato elaborado con lactosuero y excreta	63

## NOMENCLATURA

<b>Símbolo</b>	<b>Significado</b>
ST	Sólidos totales
SV	Sólidos volátiles
pH	Potencial de hidrógeno
NMP	Número más probable
% m/m	Porcentaje masa masa
g/ L	Gramo / Litro
Nm	Nanómetros
$\mu$	Velocidad específica de crecimiento
S	Concentración de nutriente limitante
$\mu_{\max}$	Velocidad máxima específica de crecimiento
$K_s$	Constante específica de sustrato

## INTRODUCCIÓN

La carne roja de mayor consumo mundial es la carne de cerdo, cuya demanda en las últimas décadas ha experimentado un fuerte incremento. Esto se debe a los cambios en los patrones de consumo derivados del aumento de ingresos en los países en desarrollo con economías de rápido crecimiento. La producción porcina está distribuida por todo el mundo, con exclusión de algunas regiones que mantienen ciertas reservas culturales y religiosas en relación con el consumo de carne de cerdo (Aceves, 2010).

La industria porcina en el mundo produjo, entre 2005 y 2016, aproximadamente 110,4 millones de toneladas de carne porcina anualmente, de los cuales en 2010 China produjo aproximadamente 650 millones, Europa 260 millones y los EUA 115 millones.

En México esta industria, entre 2000 y 2016, tuvo un crecimiento de aproximadamente 20 %. De acuerdo con la Confederación de porcicultores mexicanos (2016) los principales productores de carne de puerco en el país son Sonora (19 %), Jalisco (19 %), Puebla (10 %), Guanajuato (9 %), Yucatán (8 %), Veracruz (9 %), Michoacán (3 %), Tamaulipas (1 %), Oaxaca (2 %), Chiapas (2 %) y el resto del país (18 %).

Sin embargo, esta importante agroindustria en México presenta problemas ambientales y sociales debido a la contaminación de las aguas y del suelo que se encuentran a su alrededor que, además, son acompañados de malos olores. Esta importante agroindustria genera problemas ambientales debido a que las granjas dedicadas a dicha práctica generan alrededor de 13 toneladas anuales de excretas en todo el país las cuales mayoritariamente no cuentan con sitios apropiados para esta práctica, provocando que los desechos sean confinados a drenajes, mantos acuíferos y suelos.

El exceso de nutrientes de dichas excretas contribuye a la degradación del medio ambiente. Las excretas están compuestas por nitrógeno, fósforo, calcio, potasio, magnesio, cobre, zinc, hierro y manganeso. Asimismo, contienen bacterias patógenas como: *Salmonella*, *Mycobacterium*, *Campylobacter*, *Leptospira*, *Escherichia coli* y *Brucella*. Dichos nutrientes y bacterias afectan al medio ambiente causando daños como son eutrofización, contaminación del aire, contaminación del agua y enfermedades (Dominguez et al. 2014). Para tal fin se llevó a cabo la bioconversión de excreta porcina mediante la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*, la cual presenta propiedades probióticas y valores altamente nutricionales, también representa un ingrediente adecuado para la formulación de núcleos para ganado.

Además, se llevó a cabo la valoración de la adición de dos sustratos sintéticos a la excreta porcina, ya que esta no contaba con los nutrientes necesarios para la generación de la levadura.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Desarrollar un proceso de biotransformación de excretas porcinas mediante tratamientos que propicien el crecimiento de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.

### Objetivos específicos

- Determinar los parámetros de inactivación de microorganismos patógenos presentes en residuos porcícolas mediante tratamiento térmico.
- Evaluación del efecto de adición de sustratos orgánicos en el desarrollo de la levadura.
- Determinar los parámetros cinéticos de crecimiento de la especie *Saccharomyces Cerevisiae*.
- Evaluar la calidad de biomasa obtenida con base en su contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas.

**CAPÍTULO 1**  
**FUNDAMENTOS TEÓRICOS**

## CAPÍTULO 1 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 1.1 Porcinos

El cerdo se cría en casi todo el mundo, con la finalidad de obtener alimento cárnico, por sus buenas características nutricionales y por su buen sabor. Crecen y maduran con rapidez, tienen un periodo de gestación corto (114 días), de las madres se obtienen camadas numerosas, son omnívoros y consumen una gran variedad de alimentos como leguminosas y cereales. En México se contabilizaron más de 979 mil unidades de producción de ganado porcino. De estas unidades de producción porcino un 59.3% se dedica a la engorda. Un 15.0 % mantiene vientres con ciclo completo y un 10.7 % cuenta con sementales.

De acuerdo a la finalidad de crianza de cerdos, las granjas se dividen en cuatro tipos: ciclo completo, productores de pie de cría, productores de lechones y productores de cerdos de engorda.

La granja de ciclo completo es cerrada, hembras y machos ingresan en un determinado tiempo, los lechones nacen, se destetan, crían y se engordan en la misma granja hasta alcanzar el peso de mercado. La granja productores de pie de cría se compone de hembras reproductoras y sementales, donde se establecen programas de genética, las cuales se especializan en la producción de progenitores para su venta a otras granjas comerciales. Las granjas productoras de lechones también se componen de hembras y machos, en donde los lechones nacen y salen a venta, manteniendo a los progenitores en dicho sitio. La granja productores de cerdos de engorda no hay hato reproductor, los destetes se llevan a la granja a los 25-30 kilogramos y se les engorda hasta el peso de mercado (Domínguez et al; 2014).

En los sistemas de producción porcina los aspectos de producción y manejo de la granja son esenciales para la obtención de parámetros productivos idóneos. Aunado a que los cerdos deben ser alojados en instalaciones de acuerdo con el sistema de

producción en que se les explota, es por esto que existen diferentes tipos de instalaciones. Instalaciones tecnificadas: Los porcinos son criados en granjas generalmente grandes que pueden llegar a tener más de 100,000 cerdos de diferentes edades, están ubicados en instalaciones automatizadas, además de que utilizan lo último en tecnología para su producción. Generalmente los animales producidos en este sistema van a los mercados de las grandes ciudades como Guadalajara y el Distrito federal. Los procesos de limpieza y recolección de residuos se rigen por la infraestructura con la que cuentan estos sistemas, siendo en la mayoría de los casos contraproducente, ya que en el proceso de lavado de la granja no se obtiene el máximo de potencial de las excretas, para su transformación.

- Instalaciones tradicionales o semitecnificadas: Los cerdos son criados en explotaciones de diferente tamaño, donde tiene desde 100 animales en adelante y su objetivo es la venta del ganado para abasto. A diferencia de las instalaciones tecnificadas, estas instalaciones son tradicionales y no utilizan tecnología avanzada. Este tipo de producción se ajusta para la implementación de buenas prácticas de manejo dentro de la línea de producción, así como el manejo de residuos, debido a que las instalaciones se prestan para la limpieza y recolección de residuos, aprovechando al máximo su potencial nutritivo para su transformación, resaltando que esta actividad se realiza principalmente en los estados del centro de México como Guanajuato, Michoacán, Jalisco y Estado de México.
- Traspatio: Los porcinos son mantenidos en corrales rústicos construidos sin tecnología alguna con materiales de la región. Este tipo de producción se da principalmente en las zonas rurales de México y son explotaciones de pocos animales, en la mayoría de los casos no pasan de diez cabezas. (Galindo et al., 2013).

Estos animales son puestos en venta por sus dueños cuando hay necesidad de ingreso monetario o son consumidos cuando se realiza alguna celebración.

No existe ningún manejo de los residuos generados en este tipo de sistema, más aún potencializan el grado de contaminación, sin embargo, son candidatos ideales para la implementación de buenas prácticas de manejo de excretas.

En todos los casos anteriores, depende del entorno en proporcionar los insumos para el desarrollo de dicha actividad, y resaltar que en los tres casos anteriores la explotación de cerdos en confinamiento se suma al daño y deterioro que presentan actualmente los recursos naturales, contaminación del aire, suelo y agua, debido a los gases emitidos por los residuos generados en los procesos de producción, lo cual hace necesario poner en práctica acciones de conservación dirigidas a recuperar y manejar dichos residuos adecuadamente con el fin de asegurar su disposición posterior.(Domínguez et al., 2014).

## **1.2 Excretas porcícolas**

Para realizar una mejora en el manejo y utilización de las excretas es necesario conocer a fondo lo que son. Un modo simple de lograrlo es sabiendo dónde, cuánto, cómo y a partir de que se originan. Existen dos formas de considerar las excretas:

- **Desecho de los animales:** Su origen está en los alimentos que se proporcionan a los animales, de los cuales el organismo toma los nutrientes necesarios para su mantenimiento, producción y reproducción; se le agregan elementos de la digestión no utilizados por el metabolismo, los cuales ya mezclados se expulsan fuera del mismo y dan como resultado las heces y orina.

- **Materia prima para procesos de reciclaje:** Tiene como origen las heces y micciones recién expulsados, los cuales están constituidos por el sobrante del alimento ya digerido pero no utilizado por el organismo, aparte se le suman desperdicios como residuos de comida o material añadido de forma deliberada para aumentar la materia seca y así asegurar satisfactoriamente su manejo durante el almacenamiento y transporte, viéndose afectado por el tipo de alimento y por el organismo en el cual se ha formado.

Este último concepto lleva a profundizar más en el tema de las características nutritivas de las excretas y como repercuten algunos factores en su composición, impactando de forma positiva en implementación de alternativas para mejoras o impactando de manera negativa, deteriorando el entorno, debido a su poder contaminante.

Es importante tener en cuenta que la cantidad producida de excretas varía básicamente por los factores ligados al alimento, tipo de animal y a las instalaciones. Los primeros dos factores influyen directamente sobre las cantidad y composición química de las excretas, ya que el animal no utiliza todos los nutrientes contenidos en el alimento; la cantidad que absorbe el animal depende de la composición nutritiva del alimento y de la capacidad del animal por fijar los diferentes nutrimentos, principalmente el nitrógeno y el fósforo. Por lo que la composición química y el poder contaminante de las excretas es variable y depende básicamente de la calidad del alimento y de la capacidad productiva de una granja. Por su parte, los factores ligados a las instalaciones afectan principalmente el contenido de agua de las excretas, así como la emanación de gases (Domínguez et al., 2014).

### 1.3 Clasificación de las excretas y sus componentes nutricionales

Los principales ingredientes de los residuos de una granja son las excretas (heces y orina), agua con excreta, alimento desperdiciado, suelo y otros elementos por lo que, de acuerdo a su forma física se clasifican en:

- **Sólidos:** Que son de forma pastosa, color café oscuro y en promedio con un 60 % de humedad (excreta fresca y sin mucha presencia de orina), considerando en una granja porcina las de mayor volumen debido al gran número de animales, ya que se contabiliza la excreta de las casetas de destete, crecimiento, desarrollo y engorda, sumando la excreta del área de reproductoras (gestación y maternidad), donde las características del residuo es que es más fibrosa, con menor porcentaje de humedad.
- **Semi sólidos:** Es la proporción de 50 % sólido y 50 % orina, considerando una buena fuente de nutrientes y metabolitos, aunque por su forma es complicada de manejar, existen métodos de tratamiento, y de acuerdo al sistema de limpieza de la granja, se puede obtener de diferentes etapas productivas.
- **Líquidos:** Donde el mayor porcentaje lo representa el agua que se mezcla con las excretas de acuerdo al tipo de sistema de lavado que se implementa en la granja porcina, de igual forma se conocen alternativas de manejo, la fuente de este tipo de residuo es basto, ya que puede ser de cualquier área productiva dentro de la misma granja.

Los residuos sólidos son los que permanecen por más tiempo dentro de las instalaciones de la granja y son los que tardan más en degradarse por la materia sólida que contienen y se clasifican en:

- Orgánicos: Representando el 90 %, compuesto de microorganismos, los cuales pueden beneficiar o perjudicar al residuo, con tratamiento y sin tratamiento respectivamente. Además, contienen enzimas y aminoácidos, tanto los microorganismos como estos últimos, son considerados como materia volátil la cual afecta los recursos naturales.
- Inorgánicos: Representan el 10 % de algunos metales (arsénico, cobre, boro, etc.) y materia inerte (cenizas), que sin tratamiento pueden llegar a acumularse afectando a cuerpos de agua, suelo y aire.

Cualquier aspecto físico, forma y estados, las excretas generan residuos gaseosos (amoníaco, sulfuro de hidrógeno, metano y dióxido de carbono) representando riesgos directos de salud a los mismos cerdos de la explotación.

Dos son los elementos principales a considerar en las excretas, como lo es el nitrógeno y el fósforo. Desde que el animal ingiere alimento, hasta que es excretado. El nitrógeno es un elemento esencial en la producción animal, interviniendo en el crecimiento y desarrollo del mismo y más aún este nutriente es indispensable para la mayoría de las plantas o cultivos forrajeros, la mayoría de este nutriente es excretado en el estiércol, siendo esto último relevante para la agricultura, convirtiéndose en problema cuando grandes cantidades de nitrógeno saturan el suelo y contribuyen a la degradación del ambiente (Ruvalcaba, 2012) .

El fósforo en el animal actúa en el sistema óseo, siendo parte esencial en moléculas, ácidos nucleicos, fosfoproteínas, coenzimas y ligadura de gran contenido energético, los cerdos solo pueden digerir de forma natural un tercio del fósforo contenido en plantas; el resto lo excretan mediante las heces, esto contribuye de forma significativa al aumento de la carga contaminante de las deyecciones porcinas.

En la Tabla 1.1 se muestra la excreción anual de nutrientes conforme al uso del animal.

Tabla 1. 1 Excreción anual de nutrientes (Domínguez- Araujo et al., 2014)

<b>Animal</b>	<b>N kg/año</b>	<b>P kg/año</b>	<b>K kg/año</b>
<b>Lechón</b>	2.6	0.9	1.7
<b>Crecimiento</b>	5.0	1.6	3.2
<b>Engorda</b>	11.3	3.7	7.3
<b>Hembra gestante</b>	10.4	3.5	6.8
<b>Hembra lactante</b>	38.1	12.7	24.9
<b>Semental</b>	12.7	4.3	8.6

Las fracciones más importantes que se pueden encontrar en los reportes son el Extracto Libre de Nitrógeno (ELN) y la Proteína Cruda (PC) debido a su posibilidad de rehúso como nutrientes para el ganado y para el suelo; también es importante la Fibra Cruda (FC) como nutrimento animal o como mejorador de suelo, véase la Tabla 1.2. (Salazar, 2013).

Tabla 1. 2 Composición nutritiva de excretas porcinas (Salazar., 2013)

<b>Concepto</b>	<b>Porcentaje</b>
Materia seca	26.43
Proteína cruda	15.87
Extracto etéreo	4.69
Fibra cruda	17.52
Cenizas	12.05
Extracto libre de nitrógeno	49.87
Calcio	0.61
Fósforo	1.36
Nutrientes digestibles totales	71.20

#### **1.4 Pérdida de nutrientes**

Existen tres caminos por los cuales los nutrientes en el estiércol se pierden:

- Lavado: La mayoría de las pilas o fosas que contienen estiércol en las granjas porcinas, se encuentran al aire libre, permitiendo que la lluvia disuelva los nutrientes solubles.
- Pérdida de gases: En esta se pierde casi el 10 % en forma amoniacal y nitrógeno gas.
- Filtración: Este tipo de pérdidas ocurren desde la excreta en su fracción líquida hacia el suelo.

En realidad, estas pérdidas no se pueden prever, pero se sugiere que pueden minimizarse mediante:

- Almacenamiento del estiércol en una plataforma de hormigón.
  - Formar una pila profunda y compacta.
  - Cubrir el residuo para protegerlo de lavados por lluvia.
- (Salazar, 2013).

#### **1.5 Alternativas de manejo de residuos en granjas porcinas**

Galindo Consideró la clasificación y características nutritivas de las excretas como materia prima para procesos de reciclaje en granjas porcinas, se toma como tema primordial el manejo y aprovechamiento integral de residuos orgánicos bajo un enfoque sostenible, el manejo que se haga de las excretas es primordial, ya que un

mal manejo representa un mayor grado de contaminación, la elección de los sistemas alternativos de manejo de excretas es acorde a las características de las explotaciones, considerando la integración de alternativas.

El sistema integral de producción sostenible (SIPIS), toma como base la porcicultura. Para obtener el 100 % de los residuos, depende de los sistemas de lavado utilizados y las instalaciones de las granjas.

De acuerdo al sistema utilizado de limpieza se obtendrá cierta cantidad de excreta, reduciendo en lo posible el uso de recurso hídrico.

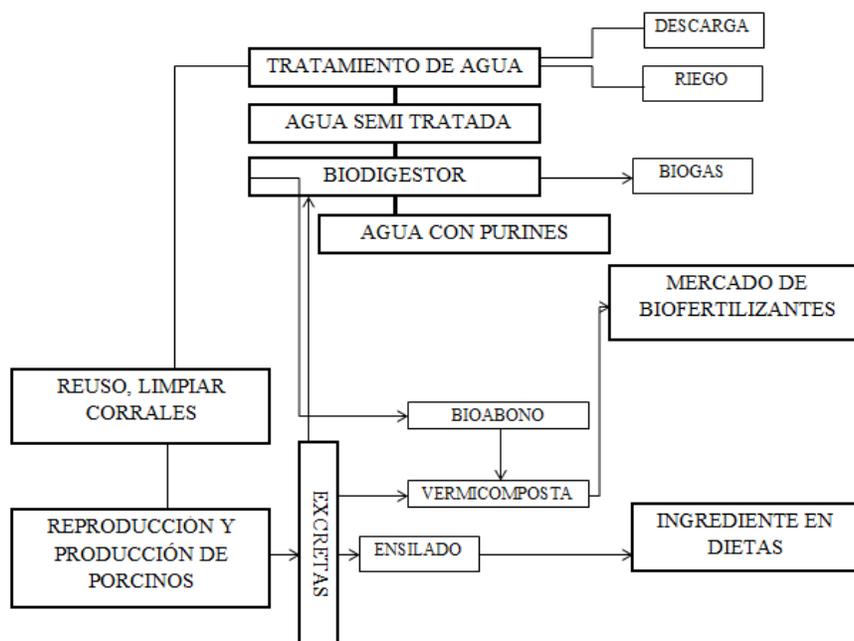


Figura 1. 1 Sistema integral de producción sostenible (SIPIS).

De la línea de producción porcina (destete), la característica del residuo es sólido de consistencia pastosa, lo que es ideal para el proceso de fermentación anaerobio denominado ensilado de cerdaza, resultando en un ingrediente para la alimentación animal.

Otro residuo sólido pero de consistencia fibrosa, es la que se genera en la línea de producción, gestación y reproducción, sometiendo dicho residuo al proceso de composta y vermicomposta, obteniendo bio-fertilizantes, ya sea para comercialización o autoconsumo y usado en actividades agrícolas, actuando como mejorador de suelos.

Implementando estas alternativas de manejo para residuos sólidos, se ha demostrado la disminución de gastos de recurso hídrico. Para los residuos de condición líquida se considera el proceso de sistema de generación de biogás, del cual los beneficios son tres subproductos:

- Biogás: Utilizado normalmente para generación de energía eléctrica
- Lodos: Debido al proceso de digestión es una buena fuente de bacterias benéficas que sirven como promotor para acelerar procesos de compostaje.
- Agua tratada: Que puede ser reutilizada en las mismas instalaciones y para el riego de cultivos.

Estas prácticas en su conjunto derivan en diferentes impactos:

- Concientización de que los residuos son materia prima que generan utilidades, cumpliendo a la par con la mejora del medio ambiente.
- Asignación de un valor agregado a los residuos.
- Incremento en la rentabilidad en su conjunto al expandir la difusión y adopción de SIPIS.
- Ampliar las buenas prácticas de producción y la diversificación de los ingresos por la generación de subproductos.

- Disminución real del potencial contaminante de los residuos, integrándolos a un manejo racional, considerando la disminución de su impacto al ambiente. (Domínguez et al., 2014).

## **1.6 Núcleos nutricionales**

La eficiencia zootécnica depende de varios factores, como un aporte adecuado de nutrientes, la salud del tracto digestivo animal, la capacidad digestiva pero también condiciones de estrés e inestabilidad inmunológica, por ello la nutrición porcina ha ido evolucionando para adecuarse a las exigencias del mercado como a los avances científicos, desarrollando núcleos nutricionales, los cuales son mezclas de productos de diferente origen que se enriquecen con vitaminas y minerales, se desarrollan para periodos productivos muy concretos en los que se unen los micronutrientes con combinaciones de ácidos, agentes probióticos y aportes enzimáticos.

El control de la flora intestinal es una de las premisas que forma parte de este tipo de productos, ya que la presencia de una flora saprófita correcta implica a largo plazo una tranquilidad en los problemas digestivos de estos animales y por ello un aprovechamiento máximo de los nutrientes de la ración que se traduce en una mejora en cuanto a crecimiento y transformación de la dieta con el consecuente ahorro económico posterior. (Douss, 2009)

## **1.7 Levadura *Saccharomyces Cerevisiae***

Las levaduras son hongos que forman sobre los medios de cultivo colonias pastosas, constituidas en su mayor parte por células aisladas que suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoideas o alargadas. Las dimensiones pueden oscilar de 1 a 9 micrómetros de ancho y 2 a más de 20 micrómetros de longitud según la especie, nutrición, edad y otros factores.

Pueden pertenecer a dos clases de hongos ascomicetos o basidiomicetos. Las levaduras son organismos aerobios y aunque muchas especies son fermentadoras, otras no lo son, Las levaduras suelen fermentar unos pocos glúcidos, principalmente hexosas y disacáridos. El género *Saccharomyces* son fermentadores de los azúcares bajo condiciones anaeróbicas. En *Saccharomyces* una célula madre da lugar a la formación de yemas en diferentes puntos de la superficie produciendo en cada uno sólo una célula hija (blastoconidio o blastoespora).

Las levaduras se encuentran con frecuencia en las hojas y las flores, aunque en número muy pequeño, siendo los insectos un importante vector de diseminación de las mismas. Están sobre la epidermis de las frutas y pueden penetrar a los tejidos subyacentes como resultado de un daño mecánico. El suelo es un importante reservorio, desde el cual pueden llegar a los alimentos, pero también suelen hallarse en el agua de lagos y ríos. Su presencia depende de la temperatura, pH, humedad y disponibilidad de azúcares simples. (Carrillo, 2007)

Dentro del género *Saccharomyces*, la especie *cerevisiae* constituye la levadura y el microorganismo eucariote más estudiado (*S. cerevisiae*). Este organismo se conoce también como la levadura de panadería.

En 1897, los hermanos Hans y Edward Buchner obtuvieron extractos libres de células moliendo levadura para pan con granos de arena, a los cuales adicionaron grandes cantidades de azúcar de caña para evitar su posible contaminación. Para su sorpresa, encontraron que el azúcar se fermentaba rápidamente. Este descubrimiento atrajo la atención de los bioquímicos, que decidieron analizar cada uno de los pasos que conducían a la producción de etanol y bióxido de carbono a partir de la glucosa. Este trabajo implicó el esfuerzo de muchos científicos y dio como resultado el descubrimiento y descripción del metabolismo del carbono; algunas de las vías metabólicas que conocemos actualmente, llevan los nombres de los científicos que participaron en este trabajo, como Embden y Meyerhof. La vía metabólica que permite

la utilización de glucosa fue la primera ruta metabólica descrita, y la metodología empleada para lograrlo se utilizó para el estudio posterior de otras vías que constituyen el metabolismo celular.

Así, desde fines del siglo XIX se reconocieron algunas de las ventajas que ofrece el uso de la levadura de pan, *S. cerevisiae*, como modelo biológico en la investigación, por un lado, la facilidad con la que se obtienen grandes cantidades de este microorganismo; y por otro, el hecho de que *S. cerevisiae* posee un ciclo de vida que, al incluir una fase sexual, permite abordar estudios con las herramientas que provee la genética formal.

Otra característica de esta levadura es el tamaño de su genoma, que por ser pequeño facilitó su secuenciación; y muchas otras virtudes que se han ido haciendo evidentes conforme se han desarrollado nuevos enfoques y métodos de estudio. (Dickinson et al., 2014).

### **1.8 *Saccharomyces Cerevisiae* en la industria agrícola**

El concepto de "comida funcional", "comodidad animal", "salud intestinal" y "suplemento funcional", están cada vez más presentes en la producción animal actual. La base de estos conceptos es que la digestibilidad y una buena absorción de nutrientes son factores clave para mantener la salud del animal. Estos factores dependen de una mucosa intestinal completa y un microbiota intestinal saludable. Los suplementos funcionales son importantes debido a la capacidad de mantener una salud microbiota activa. La levadura *Saccharomyces Cerevisiae* se puede utilizar como suplemento funcional porque proporciona vitaminas y aminoácidos, y tiene el uso potencial como probiótico.

En el campo actual de la producción de alimentos, los agricultores buscan tecnologías naturales y compuestos para mejorar la salud animal. Afortunadamente existen alternativas naturales a los antibióticos promotores del crecimiento que producen

efectos similares en el rendimiento y la salud, así como en el bienestar animal en general.

Los productos alternos son levaduras vivas y productos derivados de la pared celular de levadura de *S. cerevisiae*, utilizados como suplementos para mejorar el rendimiento, así como brindar beneficios generales para la salud y el bienestar de los animales.

Muchos subproductos de la industria alimentaria y la agricultura se utilizan para la producción de biomasa de levadura de grado alimentario que posteriormente es utilizada en la alimentación animal (residuos lácteos, subproductos de la industria del azúcar, etanol, productos pesqueros y subproductos de panadería). El uso de varios subproductos de bajo costo es extremadamente importante, ya que proporciona una solución para el manejo de estos desechos y a la contaminación ambiental producida por su elaboración. Estos subproductos además de proporcionar nuevas alternativas para la alimentación animal y reducir la contaminación, se utilizan para la producción de levaduras que son utilizadas en la alimentación animal.

Las propiedades farmacéuticas y los factores nutricionales significativos producidos por *S. Cerevisiae* ha merecido que esta levadura sea aprobada como un microorganismo generalmente seguro para uso en alimentación animal por la Unión europea, farmacopea japonesa Nitta y Kobayashi y la FDA (Poloni, 2017).

Vohra et al. (2016) informa que el aumento de los sistemas de producción ganadera ha dado lugar a graves problemáticas debido a la emisión de gases de efecto invernadero y la posibilidad de transferencia de enfermedades zoonóticas a humanos.

Inicialmente, los fármacos antimicrobianos utilizados como aditivos alimentarios para superar estos desafíos condujeron a la aparición de patógenos resistentes y ahora han sido prohibidos. La tendencia en la nutrición animal es proporcionar piensos que

satisfagan las necesidades nutricionales, y disminuir las posibilidades de infección. Los probióticos han sido descritos por muchos Investigadores a ser una estrategia natural eficaz para mejorar la salud. Los probióticos son microorganismos vivos que confieren beneficios para la salud en el huésped modificando la microflora intestinal y las levaduras probióticas se han utilizado durante décadas como aditivos alimentarios microbianos. Esta revisión se centra en la influencia positiva de la suplementación de levadura en la alimentación animal y algunos de los mecanismos mediante los cuales se logran estos beneficios.

Gil et al. (2015) mencionaron las posibles propiedades beneficiosas de los alimentos y microorganismos asociados para la salud humana y animal se Ciclo de vida

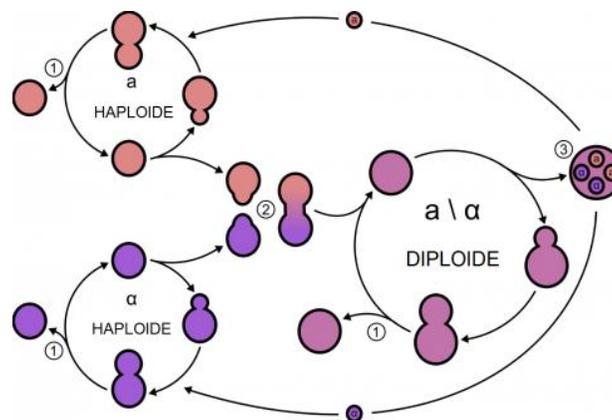


Figura 1. 2 Ciclo de vida de *S. Cerevisiae*.

*S. cerevisiae* puede existir tanto como haploide como como diploide. Los haploides como los diploides pueden experimentar repetidas rondas de crecimiento y mitosis. La levadura tiene un número considerable de alternativas de desarrollo; las señales para todos estos (excepto el apareamiento) son nutricionales. Los haploides existen en uno de dos tipos de apareamiento llamados a y α. Los haploides del tipo de apareamiento a producen una feromona (factor a) y los haploides del tipo de apareamiento α producen una feromona (factor α). Cada tipo de célula tiene una superficie para la feromona producida por células del tipo de apareamiento opuesto.

Consecuentemente, cuando están en presencia del otro los haploides de tipo de apareamiento opuesto cesan la proliferación y comienzan el desarrollo de protuberancias entre sí. La forma resultante se llama shmoo. Finalmente, hay contacto celular y una subsecuente fusión, culminando en la formación de un diploide.

Cuando los nutrientes se agotan, tanto los haploides como los diploides se detienen como fase estacionaria. Éstas son morfológicamente y bioquímicamente distintas de las células de levadura proliferantes. Se encuentran deshinchados, redondos, de fase brillante y contienen niveles mucho más altos de almacenamiento de carbohidratos trehalosa y glucógeno que las células proliferantes. En comparación con la proliferación de células estacionarias también tienen una mayor resistencia a un gran número de tensiones y condiciones ambientales adversas.

Las células diploides carecen de nitrógeno y en presencia de una pobre fuente de carbono tal como acetato, experimentará mediación y formación de esporas. Se forman cuatro esporas haploides que son contenido dentro de las ascas. Las esporas tienen una resistencia aún mayor al medioambiente a diferencia de que las células de fase estacionaria. Si las esporas son devueltas a condiciones nutritivamente ricas germinarán y comenzarán el crecimiento como haploides (Dickinson et al., 2014).

### **1.9 Fase de crecimiento de *Saccharomyces Cerevisiae***

Cuando se cultiva la levadura para elaboración de cerveza, las células de las levaduras en un cultivo siguen un comportamiento muy predecible, el cual se divide en cuatro fases: lag, log, desaceleración y estacionario.

Durante la fase lag, no ocurre crecimiento ya que la levadura tiene que madurar y aclimatarse en el nuevo ambiente, esto es seguido por la fase log, donde las células rápidamente crecen y se dividen, lo que lleva a la meiosis y esporulación. Los nutrientes se encuentran en exceso en relación con el número de células y el residuo empieza a estar suficientemente diluido para considerarse insignificante. La tasa de

crecimiento en esta fase seguirá la cinética de primer orden. Mientras el número de células incrementa, el crecimiento celular empezará a desacelerar, así como el número de parámetros (sustrato y residuo). Eventualmente la célula alcanza la fase estacionaria, en la cual no ocurre crecimiento debido a la alta concentración de residuo o consumo completo del sustrato (Gil et al., 2015).

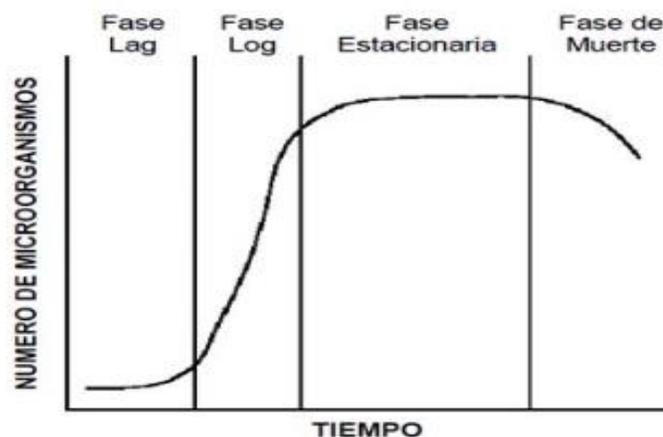


Figura 1. 3 Fases de crecimiento de *S. Cerevisiae* (Gíl et al., 2015)

### 1.10 Información Nutricional

En la Tabla 1.3 se muestra las características nutricionales de *S. Cerevisiae*.

Tabla 1. 3 Características nutricionales de *S. Cerevisiae* en cada 100 gramos (Datos nutricionales, base de datos española)

Composición	Mg
<b>Carbohidratos</b>	18.1
<b>Fibra</b>	8.1
<b>Proteínas</b>	8.4
<b>Sodio</b>	30
<b>Calcio</b>	19
<b>Hierro</b>	3.3
<b>Fósforo</b>	336
<b>Potasio</b>	601

Tabla 1. 4 Continuación. Características nutricionales de S. Cerevisiae en cada 100 gramos (Datos nutricionales, base de datos española)

<b>Vitamina B1</b>	1.9
<b>Vitamina B2</b>	1.1
<b>Vitamina B3</b>	12.3
<b>Vitamina C</b>	0.1

Se presentan características de otros ingredientes en las Tablas 1.4 y 1.5, como son el sorgo y maíz, los cuáles son los ingredientes más populares en la formación de núcleos nutricionales.

A diferencia del sorgo y el maíz la levadura contiene considerables cantidades de nutrientes que favorecen al adecuado desarrollo del ganado porcino.

Para estar sanos, tener energías, crecer y reproducirse, el ganado porcino necesita en su alimento nutrientes constituidos por carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas y minerales, si los animales no obtienen suficiente cantidad de cada nutriente, disminuye su rendimiento y pueden llegar a desarrollar enfermedad carencial, la carencia de minerales origina problemas como falta de celo, crecimiento insuficiente de los huesos y pérdida de pelaje. Por otra parte, la falta de vitaminas esenciales puede causar problemas, como ceguera e inflamaciones articulares.

Tabla 1. 5 Características nutricionales del sorgo en cada 100 gramos. Fuente: (Datos nutricionales, base de datos española)

<b>Composición</b>	<b>Mg</b>
<b>Carbohidratos</b>	138.41
<b>Fibra</b>	12.9
<b>Proteínas</b>	0
<b>Sodio</b>	0
<b>Calcio</b>	25
<b>Hierro</b>	6.45
<b>Fósforo</b>	0
<b>Potasio</b>	697
<b>Vitamina B1</b>	0.637
<b>Vitamina B2</b>	0
<b>Vitamina B3</b>	0
<b>Vitamina C</b>	0

Tabla 1. 6 Características nutricionales del maíz en cada 100 gramos (Datos nutricionales, base de datos española)

<b>Composición</b>	<b>Mg</b>
<b>Carbohidratos</b>	123
<b>Fibra</b>	12.1
<b>Proteínas</b>	0
<b>Sodio</b>	58
<b>Calcio</b>	12
<b>Hierro</b>	4.50
<b>Fósforo</b>	349
<b>Potasio</b>	476
<b>Vitamina B1</b>	0.639
<b>Vitamina B2</b>	0
<b>Vitamina B3</b>	0
<b>Vitamina C</b>	0

### 1.11 Biotransformación mediante el proceso de glucólisis

La glucólisis, es una antigua vía utilizada por una gran cantidad de organismos dentro de ellos *S. cerevisiae*. Es la secuencia de reacciones que convierten una molécula de

glucosa en dos moléculas de piruvato con la producción neta concomitante de dos moléculas de ATP. Este proceso es anaerobio puesto que evolucionó antes de la acumulación de cantidades considerables en la atmósfera. El piruvato se puede convertir posteriormente de forma anaeróbica en lactato (fermentación láctica) o etanol (fermentación alcohólica). En condiciones aeróbicas, el piruvato puede oxidarse completamente a dióxido de carbono generando mucho más ATP.

El conocimiento del metabolismo de la glucosa, especialmente de la glucólisis, tiene una larga historia. El desarrollo de la bioquímica y el trazado de la glicólisis han ido de la mano. Hans Buchner y Eduard Buchner realizaron en 1897 un descubrimiento clave, por accidente. Los Buchner estaban interesados en comercializar extractos de levadura libres de células para un posible uso terapéutico. Estos extractos debían preservarse sin utilizar antisépticos como el fenol, así que decidieron probar con sacarosa, un conservante utilizado comúnmente en la química culinaria. Obtuvieron un resultado asombroso: la sacarosa se fermentó rápidamente hasta alcohol en el jugo de levadura. El punto de vista aceptado en aquel tiempo, establecido por Louis Pasteur en 1860, era que la fermentación estaba inseparablemente ligada a células vivas. El descubrimiento de los Buchner refutó este dogma vitalista y abrió la puerta a la bioquímica moderna (Engelkin,2011).

## 1.12 Proceso de la glucólisis

### 1.12.1 Primera etapa

La glucosa se convierte en glucosa-6-fosfato por acción de la hexoquinasa. En esta reacción se consume ATP. Esta reacción es fuertemente exergónica e irreversible (Figura 1.4).

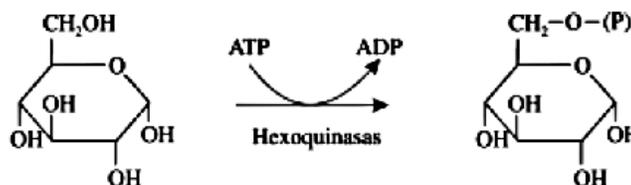


Figura 1. 4 Glucosa convertida a glucosa-6-fosfato. (Rosales, 2007)

La glucosa-6-fosfato se convierte en fructuosa-6-fosfato por acción de la enzima fosfoglucoisomerasa, esta reacción es reversible (Figura 1.5).

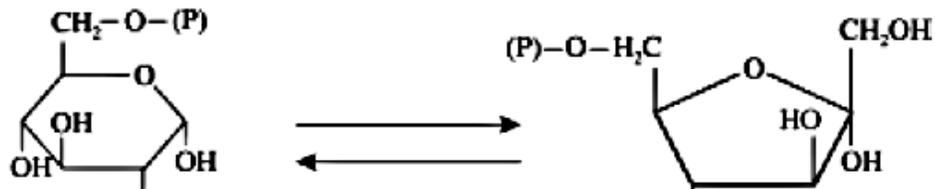


Figura 1. 5 Glucosa-6-fosfato.convertida a fructuosa-6-fosfato.( Rosales et al., 2007)

Seguidamente la fructuosa-6-fosfato es fosforilada de nuevo y se convierte en fructuosa 1,6 bifosfato, en esta reacción se consume el segundo ATP y la reacción es catalizada por la enzima fosfofructoquinasa 1 que es la principal enzima reguladora del proceso como se verá más adelante. Reacción también irreversible y exergónica (Figura 1.6).

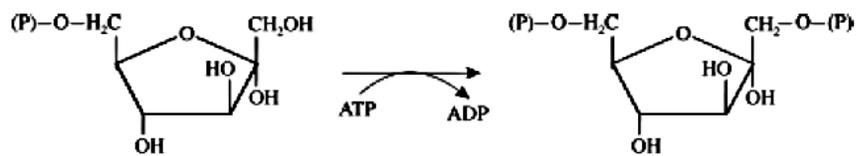


Figura 1. 6 Fructuosa-6-fosfato a fructuosa 1,6 bifosfato (Rosales et al., 2007)

La enzima fructuosa bifosfato aldolasa rompe la fructuosa 2,6 bifosfato originando las dos triosas fosfatadas y así culmina la primera etapa de la glucólisis (Figura 1.7).

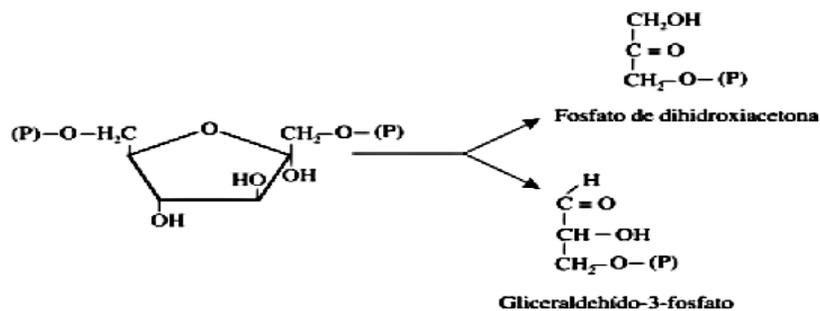


Figura 1. 7 Culminación de la primera etapa de la glucólisis (Rosales et al., 2007)

### 1.12.2 Segunda etapa

La segunda etapa procede a partir del 3 fosfogliceraldehido. La primera reacción es de oxidación y es catalizada por las 3 fosfogliceraldehido deshidrogenasa (Figura 1.8).

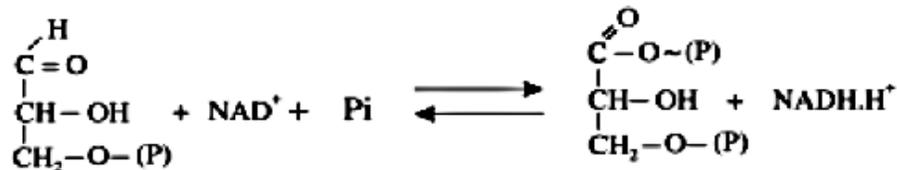


Figura 1. 8 Gliceraldehido-3-fosfato a ácido 1,3 bifosfoglicérico. (Rosales et al., 2007)

El ácido 1,3 bifosfoglicérico formado en la reacción presenta un enlace anhídrido de ácido, de alto contenido energético, que al hidrolizarse libera suficiente energía que se utiliza para la formación de un ATP en la reacción siguiente.

En esta reacción de la deshidrogenasa, se forma NADH.H+, el cual debe ser reoxidado en alguna reacción ulterior de modo que no se acumule este cofactor reducido y se garantiza la disponibilidad del mismo en forma oxidada como lo requiere la enzima. Si la glucólisis ocurre en condiciones aeróbicas la reoxidación del NADH en la cadena transportadora de electrones permitirá la liberación de energía y la formación de ATP.

Sin embargo, en condiciones anaeróbicas la oxidación del NADH no libera energía. La enzima fosfogliceroquinasa actúa sobre el ácido 1,3 bifosfoglicérico formando ácido 3 fosfoglicérico más ATP por fosforilación a nivel sustrato (Figura 1.9).

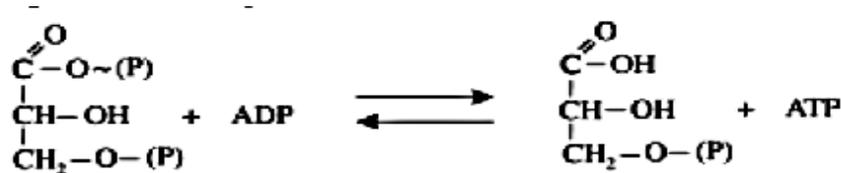


Figura 1. 9 Ácido 1,3 bifosfoglicérico a ácido 3 fosfoglicérico. (Rosales et al., 2007)

El ácido 3 fosfoglicérico se convierte en ácido 2 fosfoglicérico por la acción catalítica de la fosfogliceromutasa (Figura 1.10).

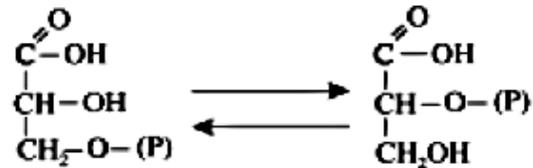


Figura 1. 10 Ácido 3 fosfoglicérico a ácido 2 fosfoglicérico. (Rosales et al., 2007)

Seguidamente a partir del ácido 2 fosfoglicérico se forma el ácido fosfoenolpirúvico (PEP), por la extracción de una molécula de H<sub>2</sub>O y formación de un enlace de alto contenido energético. La reacción es catalizada por la enolasa (Figura 1.11).

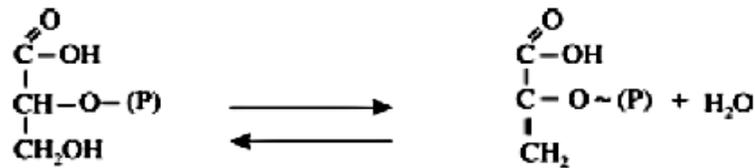


Figura 1. 11 Ácido 2 fosfoglicérico a ácido fosfoenolpirúvico. (Rosales et al., 2007)

La enzima pirúvico quinasa es la que forma el ácido pirúvico más ATP a partir del fosfoenolpirúvico, dicha reacción es reversible y es la segunda reacción de fosforilación a nivel sustrato de la glucólisis y con ella culmina la segunda etapa (Figura 1.12).

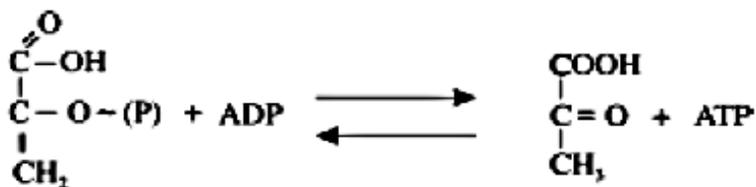


Figura 1. 12 Culminación de la etapa 2 de la glucólisis ( Rosales et al., 2007)

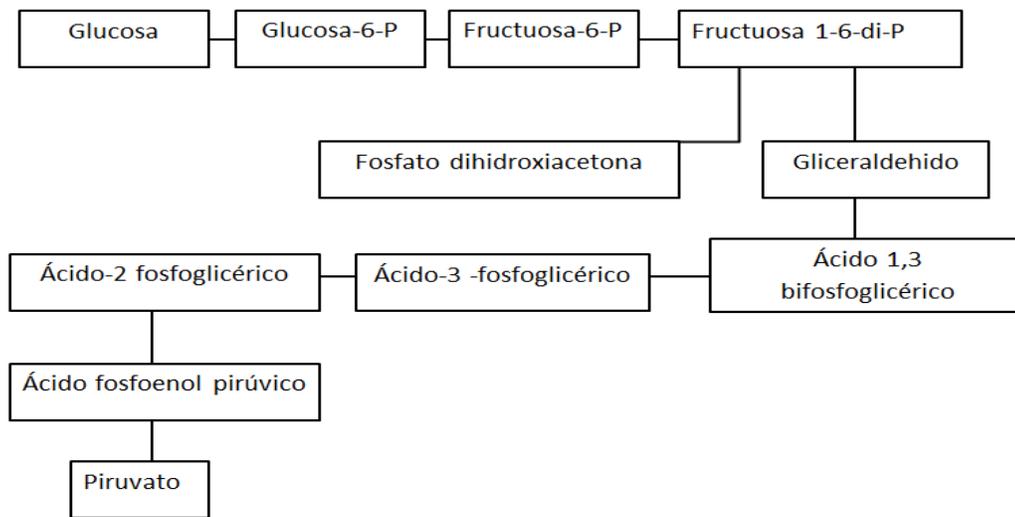


Figura 1. 13 Resumen del proceso de glucólisis. (Rosales et al., 2007)

**CAPÍTULO 2**  
**MATERIALES Y MÉTODOS**

## CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA Y MATERIALES

### 2.1 Metodología

En la Figura 2.1 se presenta esquemáticamente la metodología empleada para el alcance de los objetivos definidos para el proyecto de investigación.

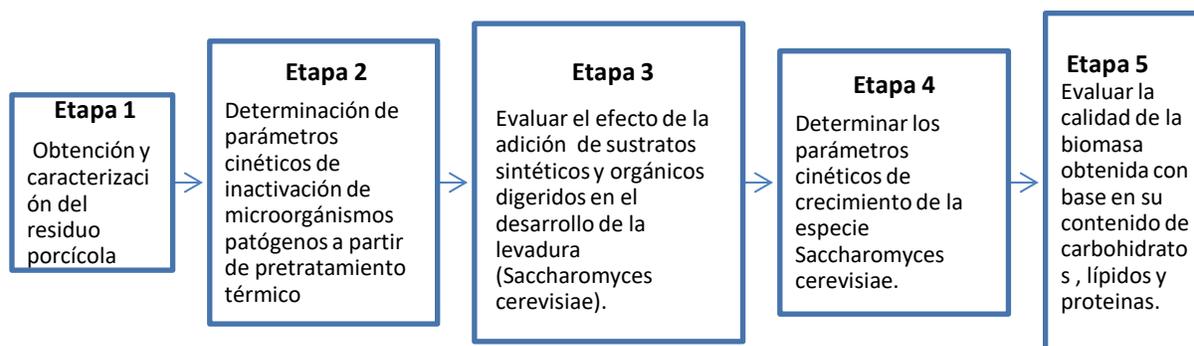


Figura 2. 1 Metodología

En el presente capítulo se describe de forma detallada los materiales y métodos utilizados para el desarrollo del proyecto. Se obtuvo la materia prima a utilizar en este caso residuo porcícola, para posteriormente caracterizarlo, la caracterización es fundamental ya que permite conocer la composición química y física. Posteriormente se llevó a cabo remoción de organismos patógenos mediante un pretratamiento térmico, garantizando así que el lodo sea totalmente inocuo. Posteriormente se procedió a seleccionar el sustrato sintético en el cual se evaluó lacto suero y melaza, para enriquecer el sustrato de excreta porcina y evaluar los parámetros cinéticos de *Saccharomyces Cerevisiae*, finalmente se evaluó la calidad de la biomasa obtenida evaluando carbohidratos, lípidos y proteínas.

## 2.2 Obtención y Caracterización del residuo porcícola.

El residuo se obtuvo de una granja porcícola la cual está localizada en el Municipio de Mariano Escobedo, Veracruz, México. Las muestras obtenidas estuvieron solamente conformadas de excreta porcina, de las cuales para preparación de la muestra se pesaron dos kilogramos de materia fecal la cual se dispuso en un recipiente con ocho litros de agua hasta su completa disolución, posteriormente se utilizó un colador para separar todas aquellas partículas sólidas que no fueron digeridas, para finalizar el lodo se dispuso en un recipiente 10 litros el cual fue etiquetado y almacenado a 4°C. Posteriormente los parámetros medidos para caracterización que se muestran en la Tabla 2.1.

Tabla 2. 1 Análisis fisicoquímico

<b>Parámetro</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método</b>
<b>pH</b>		Potenciométrico
<b>ST</b>	% m/m	Método estándar 2540G de la APHA-AWWA-WPFC(1999)
<b>STV</b>	% m/m	Método estándar 2540G de la APHA-AWWA-WPFC(1999)
<b>Carbohidratos</b>	g/L	Antrona-sulfúrico
<b>Proteínas</b>	%	Nitrógeno total Kjeldhal
<b>Coliformes fecales</b>	NMP	NOM004-SEMARNAT-2002
<b>Salmonella SPP</b>	NMP	NOM004-SEMARNAT-2002
<b>Grasas y aceites</b>	g/L	Método Soxhlet

## 2.3 Diseño de experimento

El diseño experimental aplicado es unifactorial, este diseño se utiliza cuando ciertas observaciones sufren la influencia de un solo factor, en este caso se evaluarán los sustratos: lacto suero, melaza y residuo porcícola. Esto se llevará por duplicado para cada evaluación, previniendo así cualquier falla o imprevisto que se presente durante la experimentación.

El modelo propuesto incorpora ciertos parámetros a estimar como son los coeficientes y varianza, así también se describe la hipótesis nula y alternativa.

## 2.4 pH

Las lecturas del pH se realizarán con un potenciómetro Orión (modelo 250A), con el fin de evaluar si el sustrato cuenta con el pH adecuado para la propagación de la levadura (NOM004-SEMARNAT-2002).

## 2.5 Sólidos totales

Los sólidos totales se definen como el material residual después de evaporación y secado de una muestra a cierta temperatura, esta determinación se realiza mediante la técnica gravimétrica descrita en el método estándar 2540 de la APHA-AWWA-WPFC (1999). Se evapora la muestra en un crisol a peso constante en una estufa a 103-105 °C por un lapso de veinticuatro horas. El aumento de peso sobre el peso del crisol vacío representa los sólidos totales (NOM004-SEMARNAT-2002).

Se calcula utilizando la siguiente ecuación:

$$\%ST = \frac{P3-P1}{P2} * 100 \quad (2.1)$$

Dónde:

P1= peso del crisol a peso constante.

P2= peso de la muestra.

P3= peso del crisol a peso constante más peso de la muestra.  
(NOM004-SEMARNAT-2002)

## 2.6 Sólidos volátiles

El residuo producido en la determinación de Sólidos Totales según el método descrito anteriormente se calcina a 550 °C, durante dos horas. El peso perdido en el crisol tras la incineración del residuo seco representa el contenido en Sólidos Volátiles. De la misma forma que los Sólidos Totales, esta técnica analítica se realizó de acuerdo con el método estándar 2540 G de la APHA-AWWA-WPFC (1999), y el porcentaje se calcula utilizando la ecuación:

$$\%SV = \frac{P3-P4}{P3-P1} * 100 \text{ (2.2).}$$

(NOM004-SEMARNAT-2002)

Dónde:

P1= Peso del crisol a peso constante.

P3=Peso del crisol a peso constante + peso del residuo seco.

P4=Peso del crisol a peso constante + peso de la muestra calcinada.

(NOM004-SEMARNAT-2002)

## 2.7 Carbohidratos

El procedimiento es simple, el equipamiento y medios materiales que se emplean son baratos y de fácil adquisición. La antrona en ácido sulfúrico concentrado reacciona para formar un derivado del furano de color verde con un máximo de absorción en 620 nm. La reacción colorimétrica cumple con la ley de Beer y Lambert en el rango de concentración estudiado, entre 10 y 100 mg/l de glucosa. La antrona forma un compuesto verde en medio ácido fuerte (ácido sulfúrico) con ciertos carbohidratos y sacáridos, en especial con azúcares y almidones. La reacción de la Antrona en medio

sulfúrico produce un derivado del furano que tiene su máximo de absorción en 620 nm. (NOM004-SEMARNAT-2002)

## **2.8 Proteínas**

El contenido total de proteínas en los alimentos está conformado por una mezcla compleja de proteínas. Estas existen en una combinación con carbohidratos o lípidos, que puede ser física o química. Actualmente todos los métodos para determinar el contenido protéico total de los alimentos son de naturaleza empírica. Un método absoluto es el aislamiento y pesado directo de la proteína, pero dicho método se utiliza sólo a veces en investigaciones bioquímicas debido a que es poco práctico.

En 1883 el investigador danés Johann Kjeldhal desarrolló el método más usado en la actualidad para el análisis de proteínas (método Kjeldahl) mediante la determinación del nitrógeno orgánico. En esta técnica se digieren las proteínas y otros componentes orgánicos de los alimentos en una mezcla con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores. El nitrógeno orgánico total se convierte mediante esta digestión en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con una base y se destila posteriormente. El destilado se recoge en una solución de ácido bórico. Los aniones del borato así formado se titulan con HCl estandarizado para determinar el nitrógeno contenido en la muestra.

El resultado del análisis es una buena aproximación del contenido de proteína cruda del alimento ya que el nitrógeno también proviene de componentes no proteicos. (NOM004-SEMARNAT-2002)

## **2.9 Grasas y aceites**

Es definido como un grupo de sustancias con características físicas similares, las cuales son determinadas cuantitativamente en base a su solubilidad común en un solvente orgánico.

El método consiste en acidificar una muestra para extraer las grasas y aceites en solución, la grasa entonces es separada por filtración y extraída con un solvente con ayuda del aparato Soxhlet, posteriormente se evapora el solvente y se cuantifica gravimétricamente el material (NOM004-SEMARNAT-2002).

## **2.10 Coliformes fecales**

Este método lleva a cabo la cuantificación de coliformes fecales en lodos y biosólidos, con el fin de evaluar la calidad y eficiencia del tratamiento al que se disponga el lodo o biosólidos.

Este método de análisis se basa en que las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación, dando por resultado una suspensión de células bacterianas, uniformemente distribuidas.

A través de diluciones sucesivas de las muestras se obtienen inóculos de al menos una célula para obtener crecimiento en el medio de cultivo, y otros que al sembrarse dan resultado en por lo menos un tubo de la serie.

La combinación de resultados positivos y negativos permite realizar una estimación de la densidad bacteriana, este método permite el estudio de un volumen de muestra suficiente para obtener resultados significativos, considerando la turbidez que la muestra pudiera presentar a causa de la cantidad de material acumulado. (NOM004-SEMARNAT-2002)

### 2.11 *Salmonella* spp

La cuantificación de *Salmonella* spp se lleva a cabo mediante la técnica de tubos múltiples o número más probable (NMP) en lodos y biosólidos, con el fin de evaluar la calidad y eficiencia de los tratamientos previos.

A partir de un enriquecimiento con medios selectivos, que contienen sustancias inhibitoras, se favorece la multiplicación de *Salmonella*, reconstituyendo a su vez la vitalidad de las células dañadas y de igual forma impidiendo el desarrollo de bacterias coliformes asociadas.

Una vez realizada la selección, las bacterias presentes en una muestra pueden ser separadas por agitación dando como resultado una suspensión de células bacterianas uniformemente distribuidas, a través de diluciones sucesivas de la muestra. (NOM004-SEMARNAT-2002)

### 2.12 Determinación de parámetros cinéticos de inactivación de microorganismos patógenos a partir del pretratamiento térmico.

La inactivación de microorganismos patógenos es de vital importancia ya que la biomasa que se obtiene de dicho desecho tendrá uso para consumo animal, es importante recalcar que el lodo utilizado proviene de materia fecal porcícola la cual contiene patógenos como son *salmonella* y coliformes es por ello que , se dispuso 350 mililitros de lodo en recipientes de vidrio (Figura 2.2) los cuales se llevaron a un baño térmico hasta alcanzar la temperatura de 90 °C, el tiempo de residencia fue de 30 minutos de acuerdo a USEPA 2000. Posteriormente se caracterizó el lodo, enfatizando en los parámetros microbiológicos utilizando los métodos mencionados en la Tabla 2.1. (USEPA 2000)



Figura 2. 2 Recipientes con muestra de desecho porcícola.

### 2.13 Evaluación del efecto de la adición de sustratos sintéticos y orgánicos en el desarrollo de la levadura (*Saccharomyces Cerevisiae*).

Para este punto se utilizará lacto suero y melaza como sustratos sintéticos y como sustrato orgánico excreta de cerdo, es necesario conocer las cantidades de carbohidratos que contiene cada sustrato es por eso que se utilizó el método de Antrona sulfúrico, en el cual medio ácido hidroliza el enlace glicosídico de los oligosacáridos y los monosacáridos resultantes reaccionan con la antrona produciendo un color verde – azulado. Posteriormente se evaluó el crecimiento de la levadura en los medios sintéticos siguiendo el procedimiento de la Figura 2.3 y 2.4.

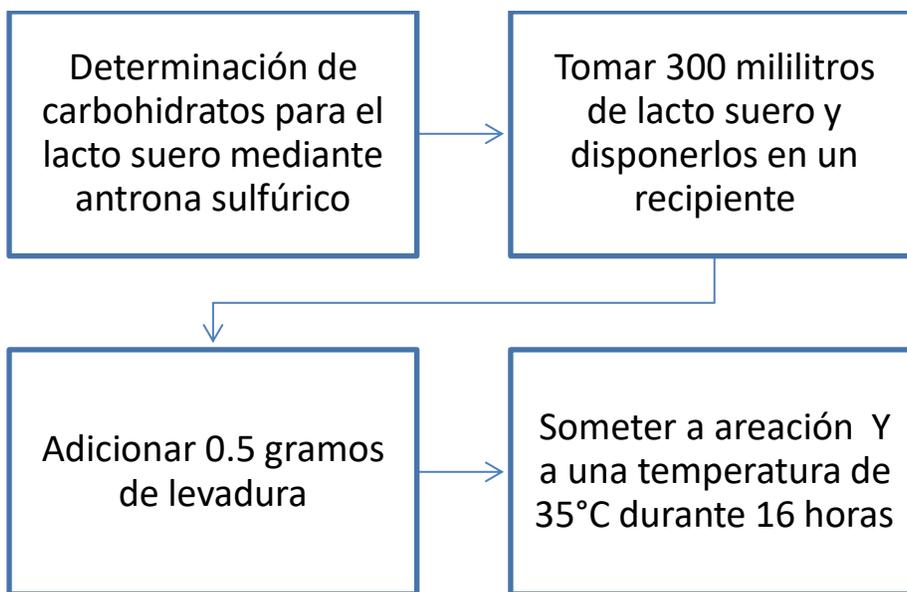


Figura 2. 3 Metodología para la evaluación del desarrollo de *Saccharomyces Cerevisiae* en lacto suero, adaptado de S.M.Carrión.

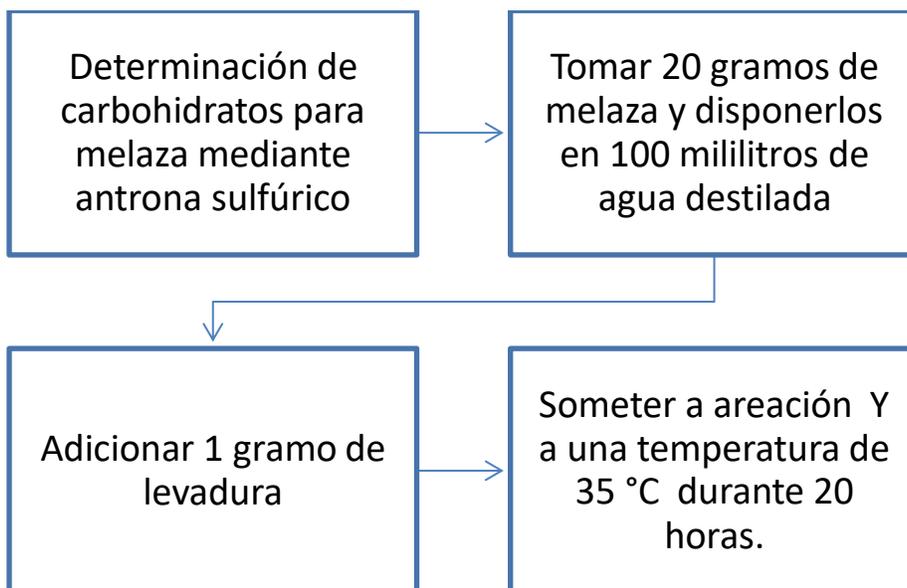


Figura 2. 4 Metodología para la evaluación del desarrollo de *Saccharomyces Cerevisiae* en melaza, adaptado de Fajardo Castillo.

Posteriormente de acuerdo a los rendimientos obtenidos en el desarrollo de la levadura se seleccionó el sustrato con mayor rendimiento y se le adicionará como complemento a la excreta porcina para esto se seguirá la siguiente metodología que se presenta en la Figura 2.5.

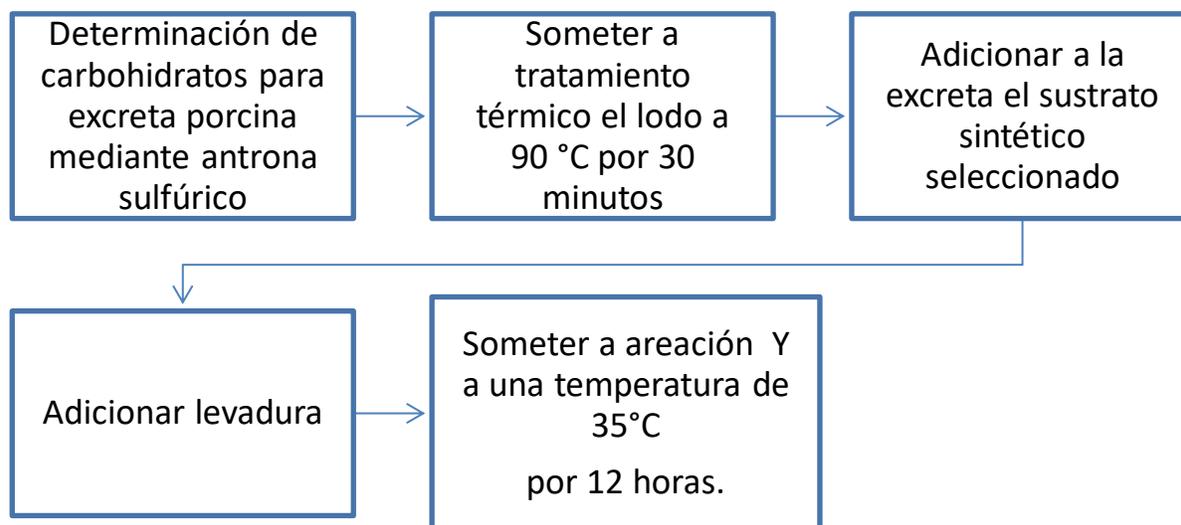


Figura 2. 5 Metodología para la evaluación del desarrollo de *Saccharomyces Cerevisiae* en el residuo porcícola adicionado con sustrato sintético, adaptado de Castillo Romero.

#### 2.14 Determinación de parámetros cinéticos de crecimiento de la especie *Saccharomyces Cerevisiae*.

Para la determinación de los parámetros cinéticos se tomarán muestras de un mililitro cada hora desde la hora cero hasta la hora seis, a partir de la hora siete se muestrea un mililitro cada dos horas hasta la hora veinte. Las muestras fueron dispuestas en recipientes adecuados, debidamente etiquetados y almacenados en refrigeración para su posterior análisis el cual será determinación de carbohidratos mediante el método de Antrona sulfúrico.

Los datos obtenidos se analizaron mediante el modelo de Monod. El crecimiento de los microorganismos durante un cultivo en lote puede ser cuantificado gracias a la ecuación de Monod, la cual es conocida también como modelo de crecimiento celular, describe la relación entre la velocidad específica de crecimiento ( $\mu(S)$ ) y la

concentración del nutriente limitante (S) en un cultivo, y se representa por la siguiente expresión matemática:

$$\mu(S) = \mu_{\max} * \frac{S}{K_s + S} \quad (2.3)$$

Dónde:

$\mu_{\max}$ = máxima velocidad específica de crecimiento.

$K_s$ = Constante específica del sustrato.

S= Sustrato.

(Arana, 2010)

# **CAPÍTULO 3**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos durante el período de experimentación realizados durante un año, siguen el mismo orden en el que se presentaron en el capítulo anterior.

#### 3.1 Caracterización del residuo porcícola

La caracterización fisicoquímica de la muestra porcícola se presenta en la Tabla 3.1

Tabla 3. 1 Análisis fisicoquímico de lodo crudo

<b>Parámetros físicos</b>	<b>Media</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Valores de referencia</b>
pH	6.74	6.76	6.73	0.03	5.08-8.0
SV % m/m	69.77	70.10	69.44	0.66	60-80
ST % m/m	3.36	3.88	2.85	1.03	3.0-7.0
<b>Parámetros químicos</b>	<b>Media</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Valores de referencia</b>
Proteínas %	1.49	1.50	1.49	0.01	20-30
Carbohidratos g/L	2.45	4.10	0.814	3.28	-----
Lípidos g/L	3.86	3.90	3.82	0.08	-----
<b>Parámetros Microbiológicos</b>	<b>Media</b>	<b>Máximo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Valores de referencia</b>
Coliformes NMP/g ST	3.05	4.6x10 <sup>9</sup>	1.5x10 <sup>9</sup>	3.1	Menor 2 000 000 NMP
Salmonella NMP/g ST	3.35	4.3x10 <sup>4</sup>	2.4x10 <sup>4</sup>	1.9	Menor 3 NMP

El lodo crudo se acondiciono previamente para su proceso de estabilización, para obtener una concentración de sólidos totales de 2.4-3 %, ideales para el proceso de digestión aerobia. El lodo crudo presento un valor promedio 69.77 % de sólidos volátiles comparado con los resultados de (López , 2018) quien obtuvo el 77.93 % de sólidos volátiles ,la variación de resultados puede deberse al tipo de

alimentación, puesto que en el estudio de López la alimentación de los cerdos provenía de costales y en él estudió que aquí se presenta la alimentación es a base de germen de maíz y probióticos, sin embargo se encuentra dentro de los parámetros establecidos en la norma mexicana para clasificación de lodos tipo C. Por otra parte, el pH del lodo crudo presentó un valor de 6.74 este valor es adecuado para el desarrollo de la levadura puesto que el microorganismo tolera valores de pH entre rangos de 4 a 7.

En la caracterización química se obtuvieron los valores de carbohidratos con un valor promedio de 2.45 g/L, seguido de lípidos presentando un valor de 3.86 g/L y proteínas con una cantidad de 1.49 %. Se determinó también los parámetros microbiológicos al tratarse de una muestra de excreta porcina procedente de una granja no tecnificada existe la presencia de microorganismos patógenos. Se encontró que los valores rebasaron los límites máximos permisibles establecidos por la NOM-004-SEMARNAT-2002 para la clasificación de un lodo clase C para el caso de coliformes fecales el límite es de  $2 \times 10^6$  NMP/g ST y se obtuvieron  $4.6 \times 10^9$  NMP/g ST, para *Salmonella* spp el límite debe ser menor a  $3 \times 10^2$  NMP/g ST y en la muestra se encontraron  $2.4 \times 10^4$  NMP/g ST.

Valorando los resultados del análisis microbiológico tanto los que presenta López y los que se obtuvieron en este trabajo se encontró que los valores exceden los límites máximos permisibles establecidos por la Norma Mexicana para la clasificación de lodos tipo C.

### **3.2 Inactivación de microorganismos patógenos a partir del pretratamiento térmico.**

Como se observa en la Tabla 3. 2 Los parámetros microbiológicos se encuentran fuera de los rangos que establece la norma, se prosiguió a determinar los parámetros de inactivación mediante el modelo de Hom para esto se trabajó con los datos reportados

por López (2018) y se anexo una temperatura recomendada por la EPA (2000), la cual indica que para una inactivación exitosa se debe utilizar una temperatura de 90 °C en un tiempo de 30 minutos, los resultados se muestran en la Tabla 3.2.

Tabla 3. 2 Análisis fisicoquímico de lodo pretratado térmicamente (NMP: Número Más Probable)

<b>Parámetro</b>	<b>Resultado lodo crudo</b>	<b>Resultado lodo pre tratado térmicamente</b>	<b>Parámetro recomendado</b>
<b>Salmonella</b>	4.3x10 <sup>4</sup> NMP/ g ST	< 3 NMP/ g ST	Menor 3 NMP
<b>Coliformes</b>	1.5x10 <sup>11</sup> NMP/g ST	2x10 <sup>6</sup> NMP/ g ST	Menor 2 000000 NMP

La Tabla 3.3 y 3.4 presentan los resultados del pretratamiento térmico aplicado al residuo porcícola, se aprecia que a temperatura de 90 °C se logró disminuir las concentraciones de patógenos, teniendo así que para *salmonella* se logró reducir de un valor inicial de 4.3x10<sup>4</sup> NMP/ g ST a un valor final menor a 3 NMP/ g ST y para *coliformes* de un valor inicial de 1.5x10<sup>11</sup> NMP/g ST a un valor final de 700 NMP/ g ST. Se puede apreciar que todos estos valores cumplen con los parámetros recomendados para biosólidos considerados en la Norma Oficial Mexicana.

Tabla 3. 3 Resultados de lodo pretratado térmicamente a diferentes temperaturas

<b>Parámetro</b>	<b>Resultado lodo crudo</b>	<b>35 °C</b>	<b>40 °C</b>	<b>45 °C</b>	<b>50 °C</b>	<b>55 °C</b>	<b>90 °C</b>
<b>Salmonella NMP/ g ST</b>	4.3x10 <sup>4</sup>	2.4x10 <sup>4</sup>	2.3x10 <sup>3</sup>	900	300	3	1
<b>Coliformes NMP/g ST</b>	1.5x10 <sup>11</sup>	2.4x10 <sup>6</sup>	2.4x10 <sup>8</sup>	2.1x10 <sup>7</sup>	7.5x10 <sup>5</sup>	9.3x10 <sup>3</sup>	700

Tabla 3. 4 Continuación de resultados de lodo pretratado térmicamente a diferentes temperaturas

Parámetro	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
Salmonella NMP/ g ST	7.4x10 <sup>5</sup>	9.3x10 <sup>3</sup>	7x10 <sup>2</sup>	1
Coliformes NMP/g ST	9 x10 <sup>3</sup>	9 x10 <sup>3</sup>	9 x10 <sup>3</sup>	700

En contraste a López en el que propone el uso de temperaturas de 35 °C, 40 °C, 45 °C, 50 °C y 55 °C en un tiempo de 15 días donde los resultados de la temperatura de 55 °C son favorables, sin embargo, la temperatura que propone EPA es más eficiente puesto que erradica mayor cantidad de patógenos en menor tiempo.

En el estudio de Estrada (2018), en el que se propone un pretratamiento mediante el método de fermentación dentro de un reactor anaeróbico con un período de 21 días, para la erradicación de elementos patógenos, donde los resultados son favorables, sin embargo se considera que es un proceso lento, ya que invierte un largo período de tiempo para su éxito, más sin embargo, aplicando el método de pretratamiento térmico propuesto en este trabajo sólo se invierten 30 minutos alcanzando los mismos resultados.

El modelo de Hom es una variante del propuesto de Chick y Watson (Contreras et al., 2004) donde se introdujo una constante empírica como se muestra en la Ecuación (3.1).

$$\text{Log} \frac{C}{C_0} = -K D^n t^m \quad (3.1)$$

Dónde:

C = Concentración de microorganismos en el tiempo t.

C<sub>0</sub>= Concentración inicial de microorganismos en el tiempo t=0.

K= Constante de velocidad de inactivación de microorganismos.

D= Dosis de desinfectante mg/L o gr/L.

n= Coeficiente de dilución.

t= tiempo de inactivación de microorganismos.

m= Constante empírica de Hom para predecir o simular las desviaciones del modelo de primer orden.

Ahora bien, en esta ocasión se utilizó la temperatura como variable para la inactivación de microorganismos, por lo que el modelo se transforma en el modelo 3.2.

$$\text{Log} \frac{c}{c_0} = -K T^n t^m \quad (3. 2)$$

Dónde:

K= Constante de inactivación de los microorganismos.

T= Temperatura en °C.

n= Coeficiente de transferencia de calor.

t= Tiempo de reacción.

m= Constante de Hom.

En el presente experimento se utilizó un tiempo constante de 30 min, debido a esto el modelo 3.2 se convierte en 3.3

$$\text{Log} \frac{c}{c_0} = -k^* T^n \quad (3.3)$$

Dónde:

$K^* = tm$

Por lo que las constantes cinéticas a determinar son  $k^*$  y  $n$ , los resultados se muestran en la Tabla 3.4. Los parámetros cinéticos obtenidos en el pretratamiento térmico difieren a los obtenidos por Alonso (2015) donde realizaron tratamientos térmicos antes y después de una digestión anaerobia de lodos residuales provenientes de un matadero de aves; obteniendo  $k^*=5.86 \times 10^{-7}$ ,  $n^*= 3.923$  y  $R^2= 0.98$  para Coliformes fecales y valores de los parámetros cinéticos de  $k^*=2.58 \times 10^8$ ,  $n^*= 4.516$  y  $R^2= 0.91$  en términos de *Salmonella* spp., se observa que el valor de  $k^*$  obtenidos en Coliformes fecales y *Salmonella* spp son más cercanos a cero por lo que significa que los microorganismos son menos resistentes a la inactivación con un pretratamiento térmico. Puesto que los microorganismos presentan resistencia a temperaturas menores de 40 °C, pero cuando consiguen temperaturas superiores de 40 °C se inactivan.

Tabla 3. 5 Parámetros cinéticos del pretratamiento térmico

Microorganismos	K*	N	R <sup>2</sup>
Coliformes	$7.70 \times 10^{-4}$	2.11	0.89
Salmonella	$3.46 \times 10^{-3}$	1.80	0.86

Mediante el modelo de Hom se realizó la determinación de los parámetros cinéticos en la inactivación de Salmonella y Coliformes para el cumplimiento de la NOM-004-SEMARNAT-2002 para un biosólido clase A.

En las Figuras 3.1 y 3.2 se puede apreciar el comportamiento de hombros el cual demuestra la resistencia de los microorganismos al pretratamiento a diferentes temperaturas.

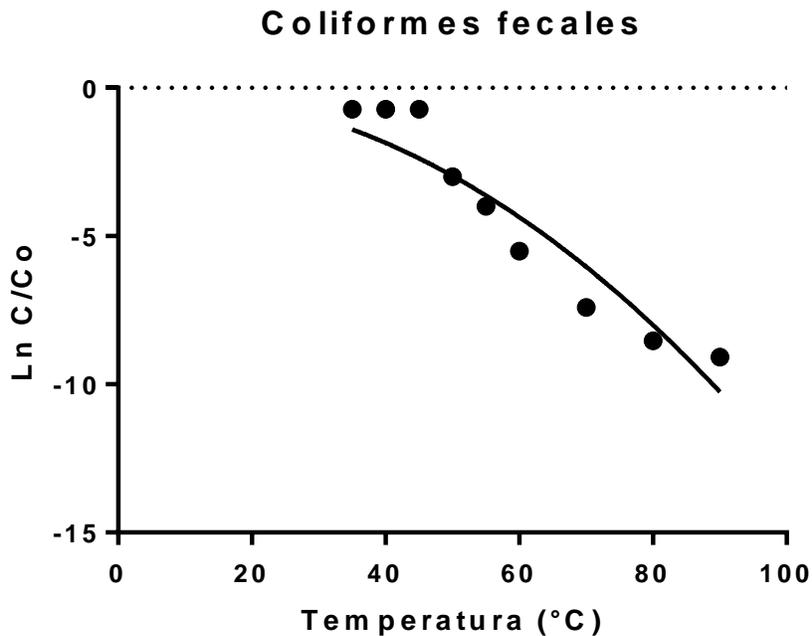
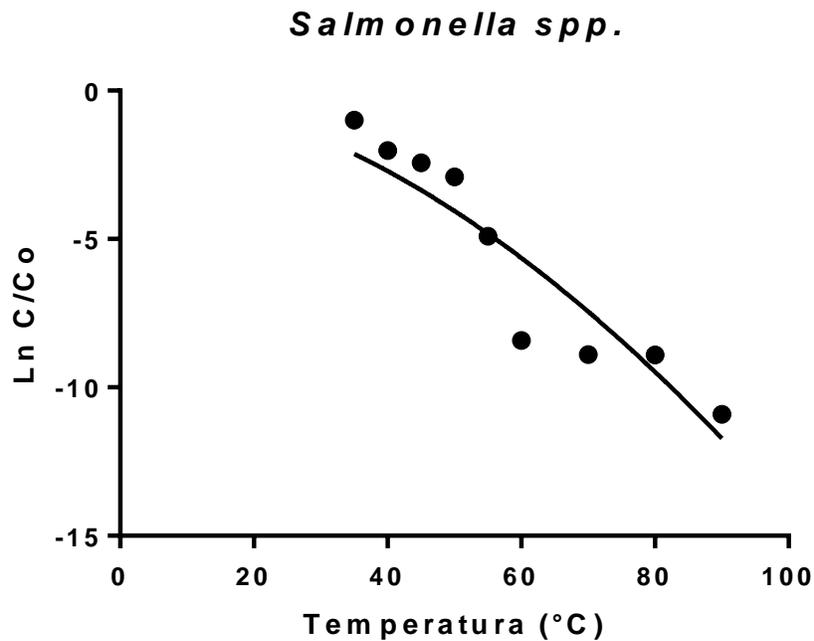


Figura 3. 1 Curva de inactivación de Coliformes fecales



*Figura 3. 2 Curva de inactivación de Salmonella spp*

### 3.3 Evaluación de crecimiento de *Saccharomyces Cerevisiae* en excreta porcícola.

En el presente apartado se evaluó el crecimiento de la levadura en un medio controlado de excreta porcícola esto se puede describir mediante la relación de los nutrientes y la tasa de crecimiento de una comunidad o población con el modelo de Monod el cual se describe a continuación.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad (3.4)$$

Dónde:

$\mu$  = tasa de crecimiento específica (día<sup>-1</sup>).

S= El nutriente o concentración del sustrato (mg/L).

$K_s$ = Constante de saturación media (mg/L)

El sustrato puede ser un macronutriente o micronutriente, en esta ocasión se evaluarán los azúcares reductores para medir el consumo de sustrato y el crecimiento de biomasa el cual es representado por la levadura.

También se ocupó el modelo de Lineweaver ya que es otra forma de expresar la ecuación 3.5, esto se realiza graficando los recíprocos de la velocidad y de la concentración del sustrato, obteniendo una línea recta en lugar de la hipérbola durante la fase exponencial (Prifti et al. 2017). La ecuación es:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\text{máx}}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\text{máx}}} \quad (3.5)$$

Este método de linealización es útil para determinar parámetros cinéticos como  $\mu_{\text{máx}}$  y  $K_s$ . La representación gráfica de  $1/\mu$  contra  $1/S$ , en el caso de microorganismos que se comportan de acuerdo con el modelo de Monod, corresponde a una línea recta, cuya intersección es  $1/\mu_{\text{máx}}$  y pendiente es  $ks/\mu_{\text{máx}}$ .

Las Figuras 3.3 y 3.4 representan el consumo del sustrato y crecimiento de biomasa conforme a las diferentes concentraciones de excreta porcícola y cantidad de levadura añadida, teniendo en cuenta que el contenido de los experimentos es el siguiente: **A**, contiene el 20 % de excreta y 0.1g de levadura; **B**=20 % de excreta y 0.3g de levadura; **C**=10 % de excreta y 0.1g de levadura; finalmente, **D**=10 % de excreta y 0.3g de levadura.

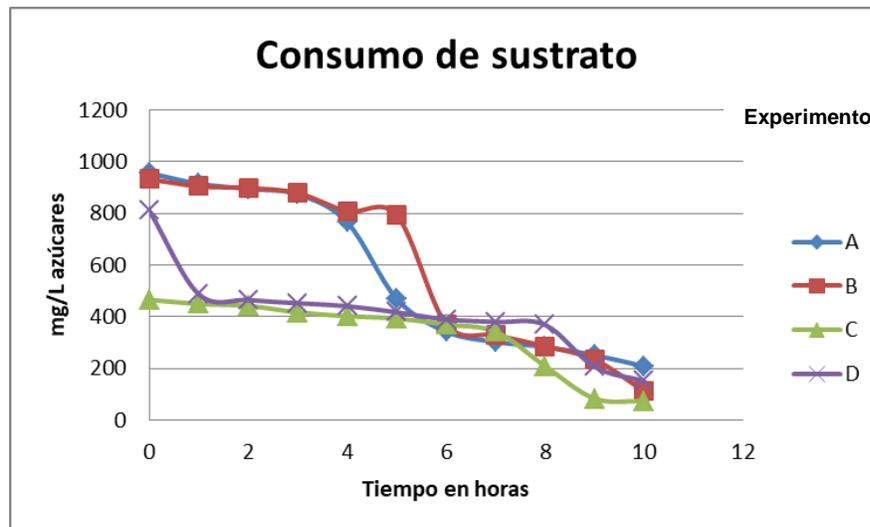


Figura 3. 3 Representación del consumo de sustrato con diferentes cantidades de excreta y levadura por cada experimento establecido como A, B, C, D.

En la Figura 3.3 se observa que los experimentos **A** y **B** en las primeras cinco horas presentan un comportamiento similar, sin embargo a partir de la sexta hora muestra una variación en el consumo de sustrato, teniendo así para el experimento **A** en la quinta hora una concentración de 400 mg/L azúcares y para **B** una concentración de 800 mg/L azúcares que se encuentran en el sustrato, por otra parte las experimentaciones **C** y **D** muestran un comportamiento similar entre ellos pero diferente de **A** y **B**, teniendo así que en seis horas presentan la misma concentración de azúcares. En el tiempo que todas las experimentaciones llegan a la hora ocho presentan una concentración de 287mg/L azúcares, en la hora nueve se vuelve a presentar una notoria variación y a la hora diez hay variación la cual no es amplia entre ellas.

En el gráfico generación de biomasa se puede observar que los experimentos **B, D** y **E** inician con una pequeña variación mientras que en **A** presenta una variación mayor de células/ml, esto se debe a que se trabajaron con diferentes cantidades de levadura, sin embargo todas las experimentación mostraron comportamientos adecuados a lo que dicta la teoría, todas las curvas de crecimiento que se aprecian en el gráfico muestran una fase de adaptación, crecimiento y muerte, las cuales son fases que se esperaban obtener de la levadura.

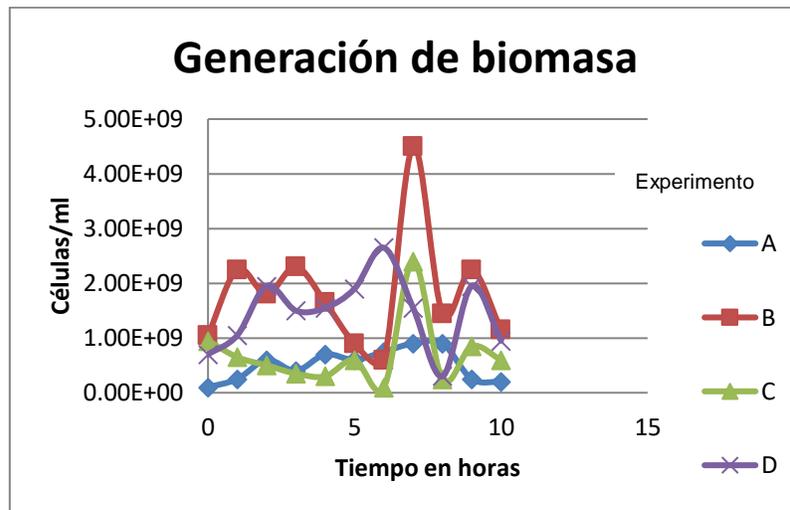


Figura 3. 4 Resultados de la cinética para la generación de biomasa, en los experimentos A, B, C y D.

A los resultados de los experimentos mencionados, se les realizó la valoración de porcentaje de consumo como se pueden observar en la Tabla 3.6. Se puede decir, que la experimentación **B** fue la que obtuvo mayor consumo de sustrato y generación de biomasa.

En contraste al artículo de Miskiewicz 2012, quien trabajó con las levaduras que por naturaleza se encuentran en la excreta porcícola como la *Candida tropicalis* y utilizó dos litros de desecho porcícola durante un período de 3 horas, identificó que dicho microorganismo presenta el mismo comportamiento que *Saccharomyces Cerevisiae* dentro de la variable generación de biomasa, en el cual se observa una fase de adaptación, crecimiento y muerte.

Tabla 3. 6 Porcentaje de consumo de cada experimento.

Experimento	Porcentaje de consumo	Cantidad de excreta	Cantidad de levadura
A	78.12	20 %	0.1g
B	87.88	20 %	0.3g
C	84.13	10 %	0.1g
D	81.27	10 %	0.3g

Para obtener los parámetros cinéticos se utilizó el modelo de Monod por el método de Lineweaver burk, el cuál es un modelo matemático que evalúa el crecimiento de los microorganismos, evaluando la tasa de crecimiento microbiano en un medio acuoso que se denomina sustrato el cuál presenta un nutriente limitante.

A partir del ajuste de los datos de crecimiento de biomasa y consumo de sustrato para cada cultivo, se calcularon los parámetros cinéticos  $\mu_{\max}$  ( $h^{-1}$ ) que representa la velocidad de crecimiento y  $K_s$  como constante de crecimiento, estos resultados se presentan en la Tabla 3.7.

Tabla 3. 7 Parámetros cinéticos de los ensayos

Ensayo	$\mu_{\max}(h^{-1})$	$K_s$ (g/l)
A	2000	2169
B	2000	2134
C	909	484
D	5000	49435

### 3.4 Evaluación de sustratos orgánicos en el desarrollo de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.

La Figura 3. 9 representa el crecimiento de biomasa y el consumo del sustrato en el medio de lactosuero, dicha cinética se llevó a cabo durante doce horas, con un inóculo de 0.3 g de levadura, teniendo una concentración celular inicial de  $1.00 \times 10^8$  células en  $4 \times 10^{-6}$  mililitros, al alcanzar la décima hora el sustrato se consumió en su totalidad, ocasionando que la producción de biomasa comenzara a disminuir, logrando una concentración máxima final de  $5.10 \times 10^8$  células/ml.

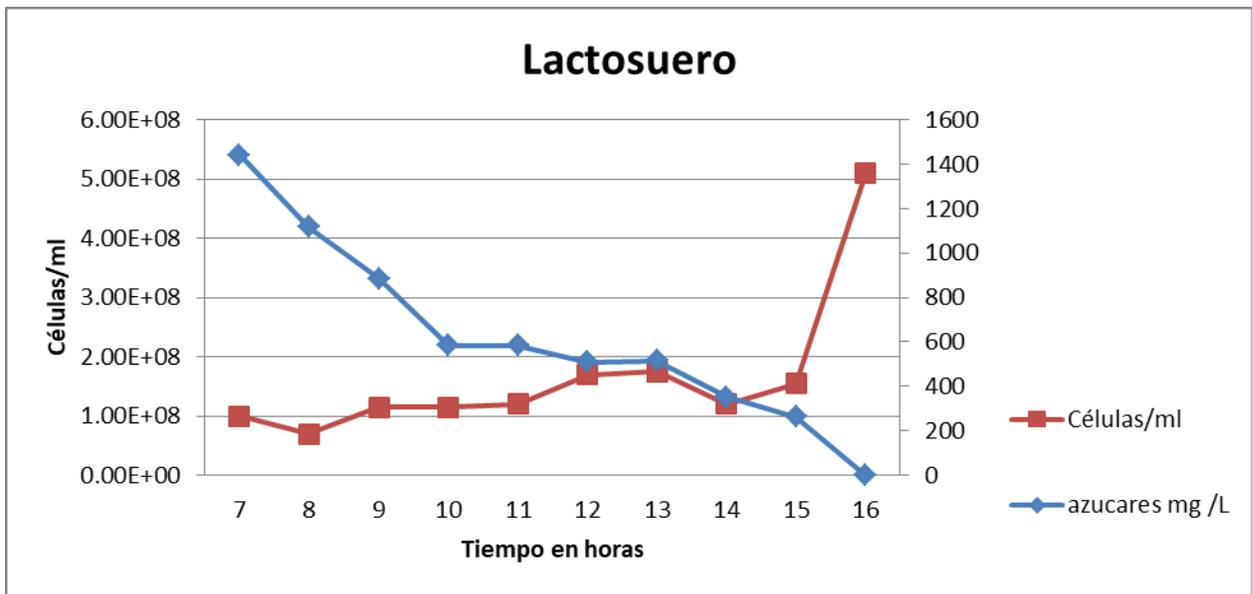


Figura 3. 5 Representación del crecimiento de la levadura con concentración celular y consumo de sustrato con respecto al tiempo en un medio de lactosuero 20 % V/V.

La Fig. 3.10 representa el crecimiento de biomasa y el consumo del sustrato en el medio de melaza, dicha cinética se llevó a cabo durante 26 horas, con un inóculo de 0.3g de levadura teniendo una concentración celular inicial de  $9 \times 10^7$  en  $4 \times 10^{-6}$  mililitros, transcurridas quince horas se obtuvo un consumo mínimo de 2366 miligramos de azúcares totales, obteniendo un crecimiento mínimo de biomasa de  $2.5 \times 10^9$  células/ml.

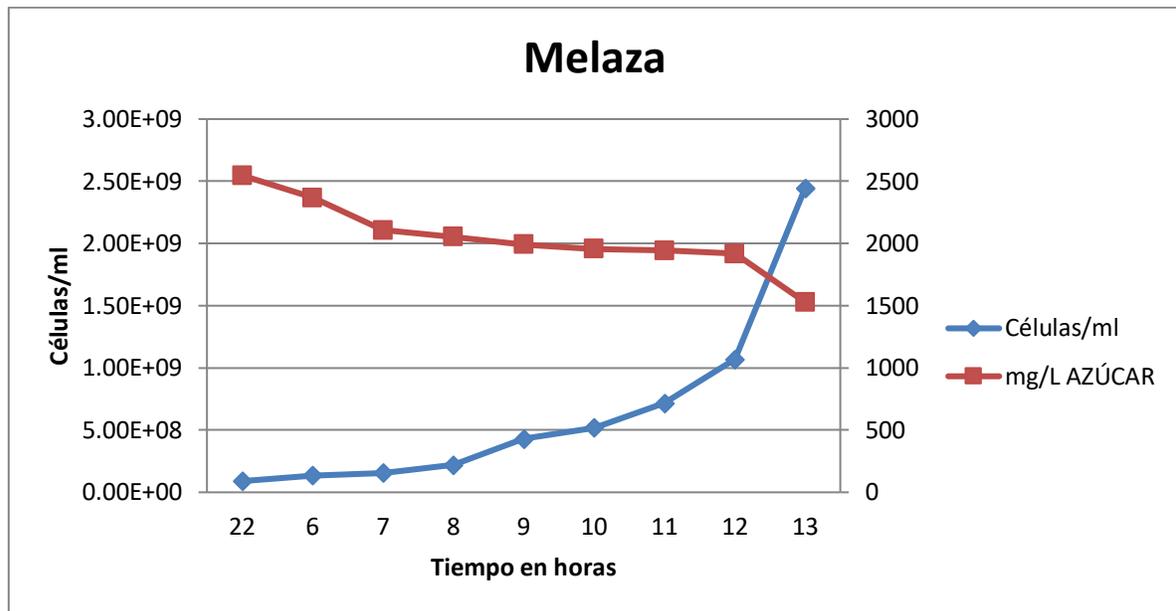


Figura 3. 6 Representación del crecimiento de la levadura con concentración celular y consumo de sustrato con respecto al tiempo en un medio de melaza 10 % V/V.

Los resultados obtenidos se contrastaron con el trabajo de Aguilar 2015 donde utilizó una mezcla de lactosuero, melaza y jugo de uva como sustrato, teniendo así una concentración inicial de 6,875 células/mL y una concentración final de 7,100 células/ml. Esta diferencia se debe a que en el trabajo de Aguilar la generación de biomasa se llevó a cabo junto a una fermentación obteniendo así una baja cantidad de biomasa a comparación de los resultados mostrados en el presente trabajo, ya que para esto los experimentos realizados se sometieron a aeración puesto que no se buscaba una fermentación.

Posteriormente, se analizaron los resultados obtenidos, estableciendo que el sustrato de lactosuero es un medio óptimo para la propagación de la levadura, mientras que la melaza es un medio adecuado para el mismo fin, considerando los porcentajes de consumo mostrados en la Tabla 3.8.

Tabla 3. 8 Parámetros cinéticos de los experimentos

Sustrato	Porcentaje de consumo
Melaza	40
Lactosuero	100

A partir de los resultados obtenidos se realizaron cuatro cinéticas con diferentes porcentajes de lactosuero, se eligió el lactosuero ya que las levaduras presentaron más afinidad a este residuo y se complementó con las proporciones que se ocuparon en el experimento B, las cantidades se muestran en la Tabla 3.9.

Tabla 3. 9 Proporciones utilizadas para cada experimentación

Experimento	Cantidad de lactosuero	Cantidad de excreta	Cantidad de levadura
E	20 %	20 %	0.01 g
F	10 %	20 %	0.01 g
G	15 %	20 %	0.01 g
H	25 %	20 %	0.01 g

La Figura 3.9 muestra la concentración celular obtenida de cada experimentación, teniendo que para E su mayor concentración celular fue de  $1.90 \times 10^6$ , F =  $3.65 \times 10^6$ , G =  $1.85 \times 10^6$ , H =  $1.25 \times 10^6$ .

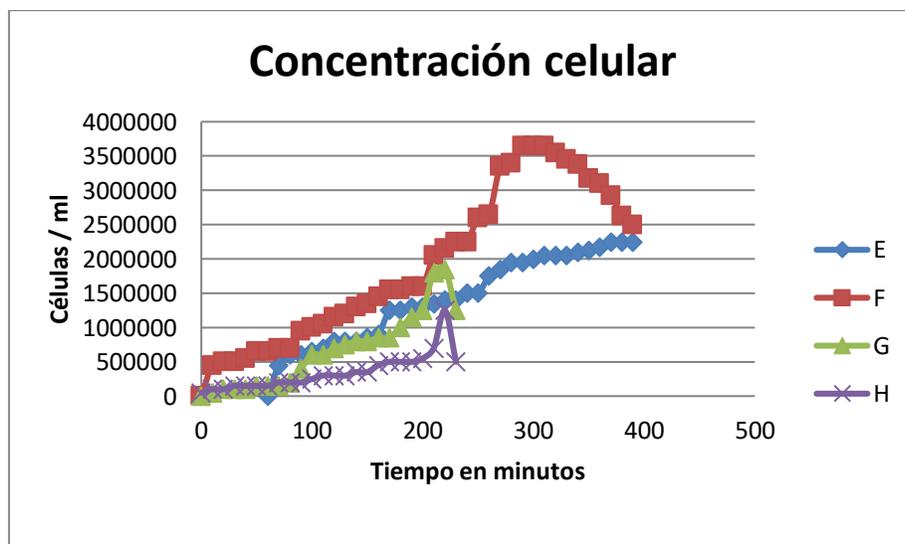


Figura 3. 7 Concentración celular del sustrato elaborado con lactosuero y excreta

Posteriormente se presenta el consumo de sustrato en la Figura 3.12, resultando que el mínimo consumo de sustrato para cada experimento y porcentaje de consumo se muestra en la Tabla 3.9.

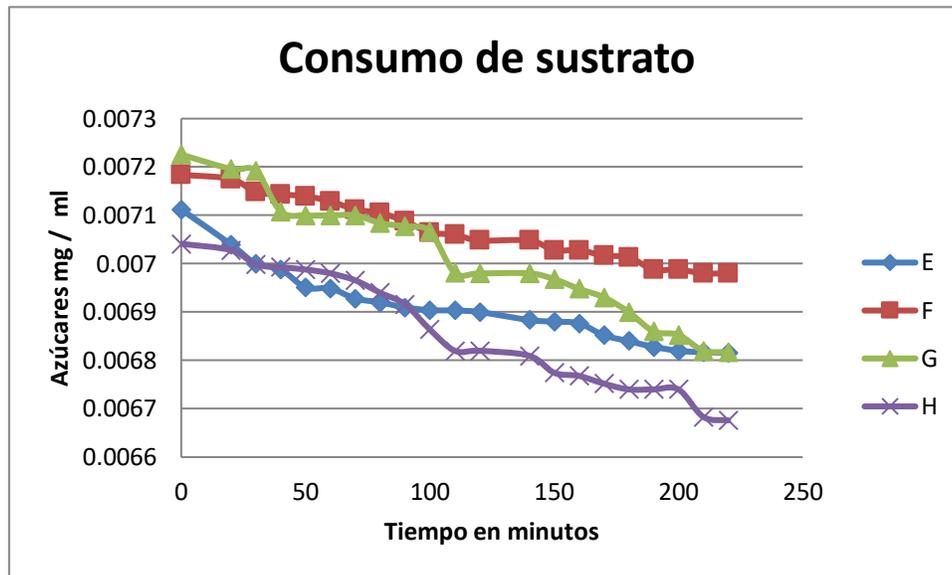


Figura 3. 8 Consumo del sustrato elaborado con lactosuero y excreta

Conforme a la Tabla 3.10 se puede observar que el experimento con mayor consumo de sustrato fue E, seguido de G, H y con un consumo más bajo que los anteriores F. Posteriormente se llevó a cabo el análisis de los resultados obtenidos mediante los cálculos que propone el modelo de Monod teniendo así los resultados de los parámetros cinéticos que se muestran en la Tabla 3.11.

Con dichos resultados se optó que el ensayo H es óptimo para que la biomasa tenga un crecimiento adecuado.

Tabla 3. 10 Proporciones utilizadas para cada experimentación

Experimento	Porcentaje de consumo
E	6.14
F	3.39
G	5.65
H	5.18

Tabla 3. 11 Proporciones utilizadas para cada experimentación

Ensayo	$\mu_{max}(h-1)$	Ks g/L	Y g/L
E	0.22	0.21	5.24
F	0.86	0.87	8.08
G	0.04	0.03	1.95
H	0.70	0.70	3.29

### 3.5 Diseño experimental

Se realizó un análisis de varianza en el programa NCSS 2007, para comparar si los resultados obtenidos en las cinéticas en la evaluación de crecimiento de *Saccharomyces Cerevisiae* en excreta porcícola y de los sustratos orgánicos fueron los correctos.

A partir del análisis de varianza (ver Anexo A), se sabe que las medias con mayor valor en la variable de consumo de sustrato son las de la experimentación B y C, las cuales poseen la cantidad de 20 % de excreta V/V. Por otra parte, para la variable de generación de biomasa las experimentaciones B y D presentaron medias mayores, siendo la cantidad de levadura la misma para ambas y la cantidad de sustrato diferente. Conforme a esto se tomó en cuenta la experimentación B ya que presentó medias máximas en ambas variables.

Para el caso del lactosuero y melaza, se inclinó por el sustrato de lacto suero puesto que su consumo fue del cien por ciento, el ANOVA presentado en la Tabla 3.12

comprueba que la elección es la más adecuada ya que su media de consumo de sustrato es más alta que la que representa el sustrato de melaza.

Tabla 3. 12 Prueba de medias para medios de lactosuero y melaza

<b>Sustrato</b>	<b>Medias</b>
<b>Lactosuero</b>	2045.917
<b>Melaza</b>	694.9445

En la Tabla 3.13 se puede observar que el experimento H tiene una media mayo de consumo de sustrato en comparación a los demás experimentos, como se mencionó este experimento fue elegido como óptimo en base a los parámetros cinéticos obtenidos comparándolos con los demás experimentos. El ANOVA confirma que los experimentos seleccionados en base de los parámetros cinéticos son los adecuados.

Tabla 3. 13 Prueba de medias para generación de biomasa con sustrato de lactosuero y excreta

<b>Experimento</b>	<b>Medias</b>
<b>F</b>	6.858952x10 <sup>-3</sup>
<b>E</b>	6.910362x10 <sup>-3</sup>
<b>G</b>	7.013695x10 <sup>-3</sup>
<b>H</b>	7.069867x10 <sup>-3</sup>

### **3.6 Evaluación de la calidad de la biomasa obtenida con base en su contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas.**

Al finalizar las cinéticas se llevó acabo la caracterización de la biomasa generada, se determinaron los gramos de biomasa generada mediante peso seco. Posteriormente cuando se caracterizaron los carbohidratos y proteínas.

A continuación, en la Tabla 3.12 se observa la cantidad de biomasa que se generó, contrastando estos valores con los de Zumbado et al., 2005 obtuvo (0.14 g/L h) de biomasa generados a partir de suero de leche del proceso de elaboración de queso blanco. En este trabajo se obtuvieron valores mayores, sin embargo, a comparación con Esquivel 2005, en la selección de una levadura para la producción de biomasa a

partir de suero de leche, lograron valores entre el 32 % y 35 %, valores mucho más altos que los obtenidos por la excreta combinada con suero de leche.

Tabla 3. 14 Cantidad e información nutricional de la biomasa obtenida

<b>Parámetro</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
<b>Cantidad de biomasa g</b>	15.18	20	15.43	25
<b>Carbohidratos g</b>	30	39	30.4	50
<b>Proteínas %</b>	3	12	3.25	30

Como se mencionó en el apartado anterior H es óptimo para el crecimiento de biomasa y se puede respaldar con la Tabla anterior puesto que los valores obtenidos en H son más altos que los obtenidos en las restantes experimentaciones. Las propiedades de la biomasa se consideran buenas debido a que se asemejan a las propiedades que tienen las marcas comerciales de levadura seca.

Conforme a Shurson 2018 indica que varios productos especiales de levadura se utilizan en diversas cantidades para aplicaciones nutricionales únicas en la industria de los piensos, incluidas la levadura irradiada, la levadura de selenio, la levadura de cromo y la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.

# **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## CONCLUSIONES

- Para la determinación de los parámetros de inactivación de microorganismos patógenos presentes en residuos porcícolas mediante tratamiento térmico.

Se tiene que la caracterización fisicoquímica y microbiológica del residuo porcícola determinó el grado de contaminación que presenta, también permitió conocer el porcentaje de los principales nutrientes que contiene para el aprovechamiento de generación de *Saccharomyces Cerevisiae*, los cuales son principalmente carbohidratos.

También se encontró que la temperatura óptima para eficiente remoción de elementos patógenos es de 90°C durante un tiempo de 30 minutos.

- En la evaluación del efecto de adición de sustratos orgánicos en el desarrollo de la levadura.

Se encontró que la excreta porcícola resultó ser un sustrato apto para llevar a cabo una bioconversión con la ayuda de microorganismos como son las levaduras o lactobacilos, lo cual es de gran importancia ya que la levadura presenta beneficios para el microbiota intestinal del cerdo y al mismo tiempo es un alimento que está lleno de vitaminas necesarias para el ganado, es viable siempre y cuando se aplique un pretratamiento térmico para eliminar los patógenos presentes en la excreta.

Por otra parte, la adición de lactosuero o melaza es viable para darle un valor nutricional más elevado a este residuo, el lactosuero por su composición es más fácil de consumir por las levaduras, sin embargo, no se descarta la utilización del residuo melaza. Precisa del criterio del interesado lo que desee obtener, por ejemplo, si se requiere mayor biomasa en corto tiempo se utilizará lactosuero, pero si el tiempo es un factor poco relevante se podrá hacer uso de la melaza.

- Para determinar los parámetros cinéticos de crecimiento de la especie *Saccharomyces Cerevisiae*.

Es importante conocer como trabajar con el modelo de Monod e interpretarlo. En el momento de graficar resultados se observaron en todos los experimentos comportamientos esperados que dicta la teoría, sin embargo, se aplicó el análisis de datos para tomar la decisión de cuál de todas las experimentaciones era la más adecuada.

- Para evaluar la calidad de biomasa obtenida con base en su contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas.

Las características de la biomasa obtenida se consideran buenas esto es por la cantidad de proteínas y carbohidratos que se determinó en el producto obtenido se asemeja mucho en las características nutricionales de las levaduras secas comerciales.

Como conclusión general se encuentra que los residuos agroindustriales son de fácil reciclaje, transformando así un problema en una oportunidad, ya que este tipo de residuo orgánicos aparte de ser aprovechados para generar energía renovable también consiguen ser utilizados para la formulación de núcleos nutricionales utilizándolos como biomasa benéfica en beneficio de la industria ganadera.

Las propiedades nutricionales y probióticas que presenta la biomasa obtenida favorecen en la disminución el uso de fármacos y hormonas que se aplican a los animales que son destinado para consumo humano, mejorando así la calidad del producto.

## RECOMENDACIONES

- Para facilitar el manejo de la muestra después de la dilución se sugiere llevar a cabo un tamizado para retirar los sólidos de gran tamaño que no logran diluirse, los cuales ocasionan que las mangueras se tapen impidiendo la correcta oxigenación de la muestra.
- Es importante expandir el conocimiento de la reutilización de este tipo de residuos en vista de que representa un gran beneficio ambiental y económico.
- Se recomienda el uso de un cuarto a temperatura a 35° C ya que es la temperatura óptima para la correcta proliferación de la levadura.
- Es importante expandir el conocimiento de la reutilización de este tipo de residuos en vista de que representa un gran beneficio ambiental y económico.
- Es sustancial identificar el residuo más adecuado para añadir a la excreta y que facilite el crecimiento de la levadura.
- Es de suma importancia realizar el pretratamiento térmico pertinente al residuo a utilizar para asegurar la inocuidad del producto obtenido y así respetar las normas ambientales estipuladas.

# **ANEXOS**

**ANEXO A**  
**Análisis Estadístico**

**Tabla A.1 ANOVA de consumo de sustrato en excreta porcícola**

Means			
			Standard
Term	Count	Mean	Error
All	44	478.4551	
	478.4551		
EXPERIMENTOS			
A	11	569.8182	75.18344
	91.36307		
B	11	595.8409	75.18344
	117.3858		
C	11	332.2068	75.18344
	-146.2483		
D	11	415.9546	75.18344
	-62.50057		

**Tabla A.2 Pruebas de comparación de medias de porcentaje de consumo de sustrato en excreta porcícola.**

Group	Count	Mean
C	11	332.2068
D	11	415.9546
A	11	569.8182
B	11	595.8409

**Tabla A.3 Pruebas de Fisher de porcentaje de consumo de sustrato en excreta porcícola.**

Group	Count	Mean	DifferentFrom Groups
C	11	332.2068	A, B
D	11	415.9546	
A	11	569.8182	C
B	11	595.8409	C

**Tabla A.4 ANOVA de generación de biomasa de sustrato en excreta porcícola**

Means		Standard	
Term	Count	Mean	Error
All	44	1.117046E+09	1.117046E+09
A: EXPERIMENTO			
A	11	5.136364E+08	2.157918E+08
B	11	1.809091E+09	2.157918E+08
C	11	6.863636E+08	2.157918E+08
D	11	1.459091E+09	2.157918E+08

**Tabla A.5 Pruebas de comparación de medias de generación de biomasa de consumo de sustrato en excreta porcícola.**

Group	Count	Mean	Different From Groups
A	11	5.136364E+08	D, B
C	11	6.863636E+08	D, B
D	11	1.459091E+09	A, C
B	11	1.809091E+09	A, C

**Tabla A.6 Pruebas de Fisher de generación de biomasa de sustrato en excreta porcícola**

Group Groups	Count	Mean	Different	From
A	11	5.136364E+08		D, B
C	11	6.863636E+08		D, B
D	11	1.459091E+09		A, C
B	11	1.809091E+09		A, C

**Tabla A.7 ANOVA de consumo de sustrato en lactosuero y melaza**

Means		Standard	
Term	Count	Mean	Error
All	18	1370.431	
SUSTRATO			
Lactosuero	9	2045.917	112.752
Melaza	9	694.9445	112.7524

**Tabla A.8 Pruebas de comparación de medias de consumo de sustrato en lactosuero y melaza**

Group	Count	Mean	Different From Groups
Melaza	9	694.9445	L
Lactosuero	9	2045.917	M

**Tabla A.9 Pruebas de Fisher de consumo de sustrato en lactosuero y melaza.**

Group	Count	Mean	Different From Groups
M	9	694.9445	L
L	9	2045.917	M

**Tabla A.10 ANOVA de consumo de sustrato en lactosuero con excreta**

Term	Count	Mean	Standard Error
All	84	6.963219E-03	
EXP			
E	21	6.910362E-03	2.189934E-05
F	21	6.858952E-03	2.189934E-05
G	21	7.013695E-03	2.189934E-05
H	21	7.069867E-03	2.189934E-05

**Tabla A.11 Pruebas de comparación de medias de consumo de sustrato en lactosuero con excreta.**

Different From Group	Count	Mean	Groups
F	21	6.858952E-03	G, H
E	21	6.910362E-03	G, H
G	21	7.013695E-03	F, E
H	21	7.069867E-03	F, E

**Tabla A.12 Pruebas de Fisher de consumo de sustrato en lactosuero con excreta**

Group	Count	Mean	Different From Groups
F	21	6.858952E-03	G, H
E	21	6.910362E-03	G, H
G	21	7.013695E-03	F, E
H	21	7.069867E-03	F, E

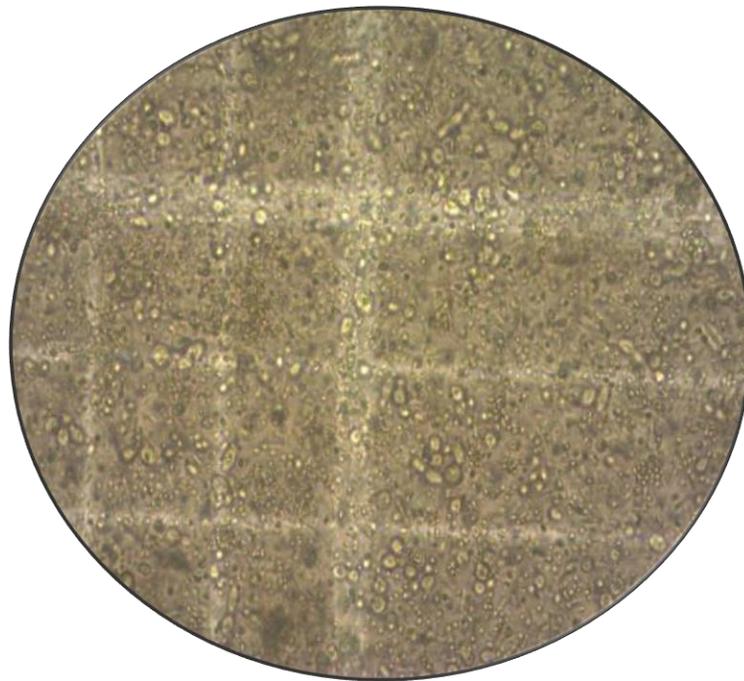
**ANEXO B**  
**Imágenes**



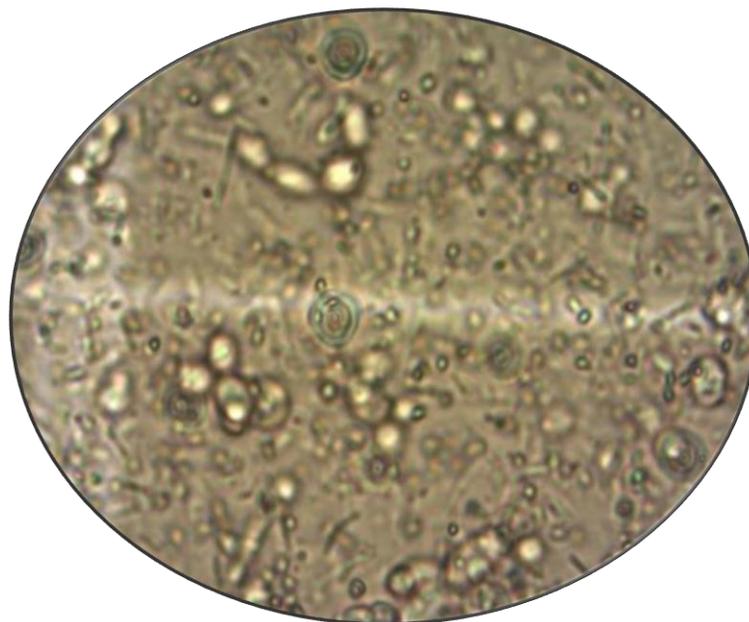
**Imagen B.1 Acondicionamiento de la muestra**



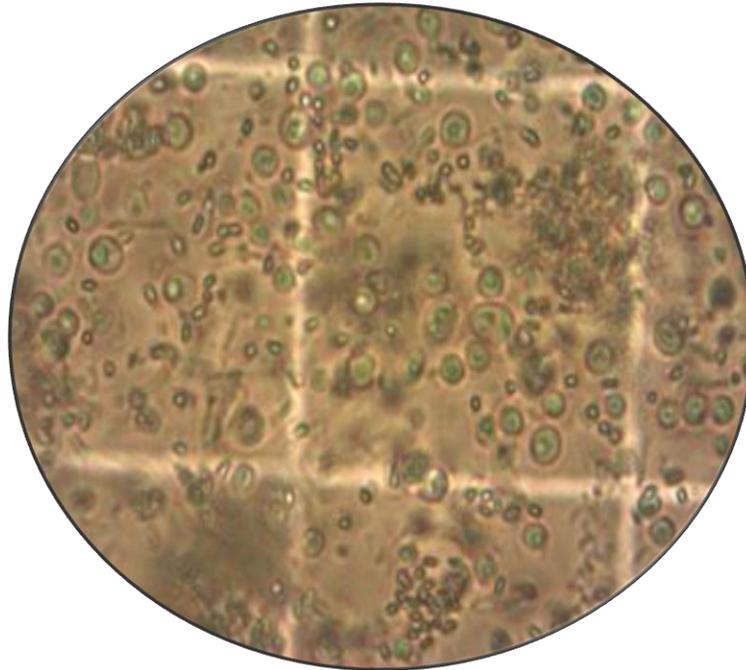
**Imagen B.2 Montaje de las cinéticas**



**Imagen B.3 Levaduras de la experimentación con excreta**



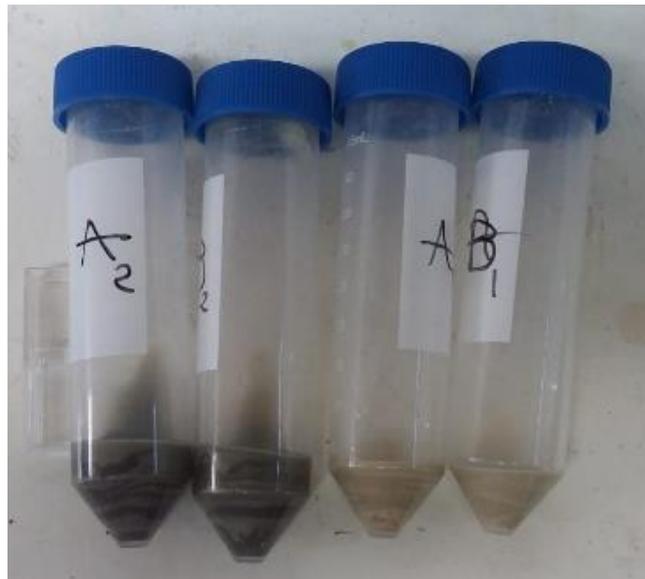
**Imagen B.4 Levaduras de la experimentación con lactosuero**



**Imagen B.5 Levaduras de la experimentación con excreta y lactosuero.**



**Imagen B.6 Crecimiento de biomasa.**



**Imagen B.7 Biomasa centrifugada.**



**Imagen B.8 Biomasa seca**

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

**BIBLIOGRAFÍA**

- Aceves, C. M. (2010). *Uso de ensilado de cerdaza en la alimentación animal*. Jalisco: Instituto nacional de investigaciones forestales agrícolas y pecuarias.
- Aguilar, I. (2017). *Calculos que definen el crecimiento bacteriano*. Madrid: Departamento de inmunología.
- Arana, I. (2010). *Calculos que definen el crecimiento bacteriano*. Madrid: Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología .
- Atenodoro, A. J. (2015). *Inactivación bacteriológica en lodos residuales deshidratados mediante el proceso de estabilización alcalina con óxido de calcio y recirculación de amoniaco*. Orizaba: Instituto Tecnológico de Orizaba.
- Carrillo, L. (2002). *Manual de microbiología de los alimentos*. Argentina: Facultad de ciencias agrarias.
- Contreras, J. M. (2012). *Tratamiento de las aguas residuales municipales*. Orizaba: Instituto tecnológico de Orizaba.
- Dickinson, R. J. (2004). *The metabolism and molecular physiology of saccharomyces cerevisiae*. Montreal: Taylor & Francis.
- Dominguez, G. A. (2014). *Las excretas porcinas como materia prima para procesos de reciclaje utilizados en actividades agropecuarias*. Jalisco: Prometeo.
- Douss, M. M. (2009). *Nutritional Nuclei*. Oklahoma: University of Oklahoma.
- Engelkin, C. (2009). *Nutritional nuclei*. Oklahoma: University of Oklahoma.
- EPA. (2013). *Folleto informativo de tecnología de aguas residuales*. Washington.
- Esquivel. (2005). *Selecciones de levaduras*. Sevilla: 2016.
- Galindo, M. (2013). *Pretratamiento térmico y digestión*. México: Instituto de ingeniería UNAM.
- Gil, A. R. (2015). *Yeasts in foods and beverages*. Madrid: ELSEVIER.
- López, L. A. (2017). *Efecto de la digestión anaerobia termofílica en la inactivación de Trichuris suis y la remoción de compuestos orgánicos en residuos porcícolas*. Orizaba: Instituto tecnológico de Orizaba.
- Miskiewicz. (2015). *Dynamic test on yeasts production from piggery effluents*. Polonia: Agricultural wastes.
- Norma, O. M. (2002). *Protección ambiental. Lodos y biosólidos. Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes y su aprovechamiento final*. México: SEMARNAT.
- Poloni, V. A. (2017). Bakery by-products based feeds borne-Saccharomyces cerevisiae strains with probiotic. *Food and Chemical Toxicology*, 10-20.
- Pritfi, E. (200). *Prevention of antibiotic associated diarrhea by saccharomyces boulardii*. Washington: ELSEVIER.
- Rosales, L. C. (2007). *Bioquímica humana*. Habana: Ciencias médicas.
- Ruvalcaba, M. R. (2012). *Engormix*. Recuperado el Noviembre de 2018, de Engormix: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/foros/fertilizacion-pastos-con-estiercol-t25514/>
- Salazar, D. m. (2013). *Panorama Agroalimentario*. Jalisco: FIRA.

- Shurson, G. (2018). *Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients sources characteristics, animal responses, and quantification methods*. Minnesota: Animal feed.
- Vohra, A. (2016). *Probiotic yeasts in livestock sector animal feed science and technology*. New Dheli: ELSEVIER.
- Zumbado, W. R. (2016). *Selección de una especie de levadura para la producción de proteína unicelular utilizando como sustrato el suero residual del proceso de elaboracion de queso tipo blanco turrialba*. Costarica: Universidad de Costarica.