23,300627



# UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA INCORPORADA A LA U.N.A.M.

FALLA DE ORIGEN

## ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE HUEVO PARA SU USO EN LA ALIMENTACION ANIMAL

### TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
PRESENTA:
MARIA GEORGINA RODRIGUEZ DE LEO

Director de Tesis: ING. J. RAFAEL DE REGIL Y GOMEZ MURIEL



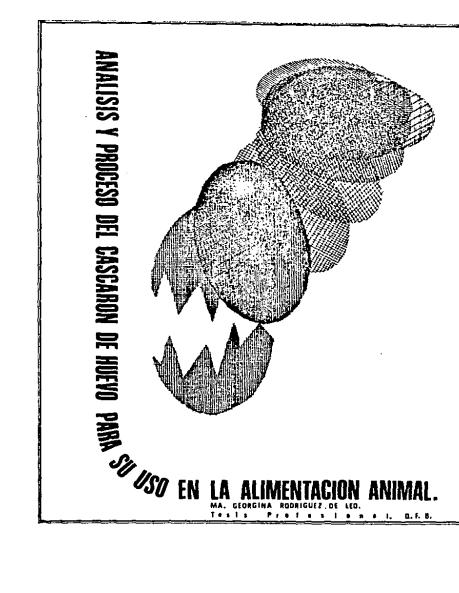


UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

### DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



# INDICE

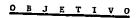
#### I N D I C E

		Página
	OBJETIVO.	1
1,-	INTRODUCCION.	3
II	GENERALIDADES.	12
	AFormación del huevo de la gallina. BEstructura del huevo de la gallina. CComposición del huevo. 1Yema. 2Clara 3Cascarón.	14 15 16 18 18
•	DMicrobiología del huevo. 1Pasteurización de los huevos.	19 20
	2Factores de Crecimiento de la Salmonella.	22
,	3Conservación de la calidad del huevo. 4Especificaciones generales para el aseguramiento de la calidad de los huevos enteros.	24 25
	5Lavado de los huevos.	26
	ECaracterísticas específicas del cascarón de huevo. 1Composición del cascarón proveniente de las plantas quebradoras.	26 27
	2Material orgánico en el cascarón de huevo.	30
	3Aspectos microbiológicos sobre la cáscara y membrana dal huevo.	33
	4Usos del cascarón de huevo.	35
٠	FCarbonato de calcio. 1Calcio en la naturaleza. 2Calcio en el cuerpo humano. 3Aplicaciones.	36 36 37 39
:	4Especificaciones.	40
	GAspecto nutricional y equipo para deshidratar el cas carón de huevo. 1Secador rotatorio de tres pasos. 2Secador tipo un tubo relámpago.	43 43 43
111	MATERIAL Y METODOS PARA EL ANALISIS MICROBIOLOGICO.	47
• .	AMaterial. iEquipo.	48 48

			4.5
		A Committee of the Comm	Pagin
	3Medios de cultivo.		48
	4Reactives y soluciones.	•	50
	5Antisueros.		52
	BMétodos.		4.0
	1Muestreo y Transporte.		52
	2Tamaño de la muestra.		52 52
	3Preparación y Dilución de la s	uestra nara el Conteo	32
	de microorganismos.	arrest para er contro	53
• .	4Anālisis.		54
T11	MATERIAL Y METODOS PARA EL ANALIS	TE ETETCODITATED	64
		13 FISICOQUIMICO.	04
	AMaterial.	The second of the second of	. 65
	1Equipo e instrumentos.		65
	2Material de vidrio.		65
	3Reactives y soluciones.		66
	BMétodos para el Análisis Broma	tológico.	66
	1Humedad.		66
	2Cenizas.		67
	3Grasa cruda por el metodo de S	oxutet.	68
	4Proteínas. Método de Kjeldahl. 5Fibra cruda.	·117 / 10 · 大學和美華的基礎的	. 69
	6Sólidos totales.		71
	7Extracto libre de nitrógeno.		71
	CDeterminación de calcio y otra		140
	sicoquímicas.	a catacretiscicas ii-	71
	lDeterminación de calcio como o	xalato por valoración	
	con permanganato.	Addition por Vision and Committee and	. 71
	2Determinación de sustancias in	solubles en ácido.	72
	3Determinación de alcalinidad 1	ibre como Ca(OH)2.	72
	4Gravedad específica aparente (	bulk index).	73
	5Determinación de finura.		73
	6рК.		73
v	DESARROLLO EXPERIMENTAL.		74
	AOperaciones de la planta quebr	adors de buevo	75
	1Recepción y muestreo del huevo		75
	2Lavado y quebrado del huevo.		75
	* ·	and the second second second second	77
	BEquipo industrial. CDescripción de los procesos es	rudiadas mara la ab-	"
	tención del cascarón en polvo.	cudiados para la co-	78
	DEmpaque y almacenamiento.		81
	• • •		
VI	RESULTADOS.	and the second second	91 92
	AAnálisis microbiológico. 1Análisis inmediato.	and the same are provided to be a section of	92
	2Análisis post-almacenamiento.		93
	BAndlisis fisicoquímico.		94 . 94
	<ol> <li>Análisis bromatológico.</li> <li>Determinación de calcio y otras</li> </ol>	cornetariations fi-	. 94
	sicoquímicas.	- corneratistican 11.	95
	~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~~		

VII DISCUSION DE RESULTADOS Y RECOMENDAÇIONES	· Página · 96
ADiscusión de resultados. BRecomendaciones. 1Equipo. 2Proceso. 3Aspectos técnicos del secado	97 99 99 101 103
VIII EVALUACION ECONOMICA.	109
AInversion fija. 1Costos directos. 2Costos indirectos.	110 110 111
BCostos de operación. 1Costos variables. 2Gastos fijos.	111 111 112
GPrecio de venta. DCapital de trabajo. lActivo circulante.	113 113 113
EInversión total. FUtilidad bruta. GUtilidad nata. HRentabilidad del proyecto. IPunto de aquilibrio.	114 115 115 115
IX CONCLUSIONES.	121
ESQUEHAS.	123
BIBLIOGRAFIA.	149

•



#### **OBJETIVO**

El presente trabajo tiene como objetivo fundamental determinar un proceso para el aprovechamiento del cascarón de huevo obtenido del quebrado mecánico; evaluando sus características microbiológicas y fi sicoquímicas. Así también, se considera la rentabilidad de este proyecto para su utilización como fuente de calcio en alimentos balancea dos.

I N T R O D U C C I O N

#### INTRODUCCION.

El cascarón de huevo es un material rico en carbonato de calcio - (aprox. 94%) que se obtiene como desecho durante la operación del quebra do industrial para la producción de yema salada y albúmina.

Debido a que una planta quebradora de huevo desperdicia aproximadamente 3 tons. diarias de cascarón de huevo, se han investigado las pos<u>í</u> bilidades de una adecuada utilización del producto desde el punto de vista técnico y económico.

En el presente estudio se describen diferentes procesos que llevan a decidir el método más conveniente con el que se pueda obtener cascarón de huevo en polvo. Durante el desarrollo experimental se intercalan análisis microbiológicos para poner de manifiesto la efectividad de tales - procesos, en cuanto a eliminar gérmenes patógenos y disminuir la población microbiana, y análisis fisicoquímicos para lograr las características finales deseadas en cuanto a humedad, densidad, tamaño de partícula y composición de calcio.

Actualmente el cascarón de huevo es desechado, por lo que al con siderar la elevada producción de huevos enteros frescos en el país, se puede reducir el costo de recuperación.

La producción de huevo natural se encuentra principalmente distribuída en los siguientes estados de la República Mexicana: Sonora, Jalisco, Puebla, Nuevo León y Sinaloa. De los estados anteriores Sonora es el que tiene una mayor producción: 136, 607 toneladas / año, de 1981 a 1985 (Dirección General de Avicultura y Fuentes Menores S.A.R.H.).

En las tablas I.1 y I.2 se detallan producciones anuales de huevo fresco en los diferentes estados de la República.

En las tablas I.3 y I.4 se encuentran las exportaciones e importaciones de huevo fresco de 1976 a 1985.

La tabla I.5 denota la cantidad de huevo en polvo exportado en --1978 así como su valor en moneda nacional. El resto de los años no hubo exportaciones de este subproducto.

Puesto que el objetivo principal de este trabajo es el aprovechamiento del cascarón de huevo como fuente de calcio en alimentos balancea dos para animales, la cabla I.6 muestra la producción de los mismos de - 1970 a 1984.

Como evaluación final de un proyecto industrial basado en el firea técnica y económica es frecuente encontrar que los resultados conómicos están sujatos a los valores variables de materias primas y productos en el mercado, por lo tanto es necesario llevar a cabo un análisis de sensibilidad para determinar la flexibilidad existente. De dicho análisis las variables a considerar como parámetos críticos son el precio de venta del producto, los costos de producción y la inversión total.

the state of the s	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	
Aguascalientes	1359	1429	1493	1622	1739	1301	1812	1949	1986	2100	
Baja California N.	12303	13655	14004	15218	16437	17042	18264	18862	19776	20625	
Bala California S.	998	1112	1663	1769	1896	1951	1975	2092	2131	2193	
Campacha	1179	1308	1330	1431	1536	1583	1603	1721	1754	1812	
Conhuila	11618	12902	10979	15211	16305	16777	17992	17259	18102	18510	
Colima	1588	1811	2266	2446	2626	2706	3741	2829	3386	3550	
Chiapas .	2121	2355	2567	2808	3011	3100	4138	3337	3405	3508	
Chihuahua	8905	9326	9705	10494	11352	11780	12939	12051	12844	13170	
Distrito Federal	995	1105	1200	1307	1410	1461	2072	1580	1911	2023	
Durango	16239	18033	19491	20963	22360	22894	23179	25116	25526	26381	
Guanajuato	19024	21126	22837	24755	26623	27486	27830	25914	29123	29727	
Guerrero	9300	10341	12689	13672	14651	15071	16263	14065	17746	18552	
Hidalgo	6007	6669	6444	7463	8061	8250	9364	8854	10512	11164	
Jaliaco	47670	52971	61217	68793	73789	75972	77907	84211	86270	89590	
México	23600	26193	28135	30424	32705	33750	35187	36419	37660	38918	
Michoacán	17218	19125	22518	24142	25886	26641	27988	27993	29044	29811	
Morelos	13738	15258	16691	18245	19559	24874	21386	21064	21977	22082	
Nayarit	5016	5293	5546	6004	6440	6631	7716	7037	7675	7963	
Nuevo León	48079	53358	54016	58094	62302	64136	65931	70513	69566	71381	
Олхаса	2559	2842	3032	3263	3518	3641	4686	3822	4010	4133	
Puebla	527.2	58602	63354	66732	71613	73769	75424	82434	79319	81224	
Querétaro	222	247	302	349	377	391	314	424	392	399	
Quintana Roo	662	735	805	859	925	956	969	1036	1058	1092	
San Luis Potosi	109	121	144	164	176	182	184	196	200	206	
Sinaloa	28760	31926	33273	36286	38889	40007	41502	43591	44898	46458	
Sphora	88168	97908	105992	115271	123574	127163	129630	138488	141516	146237	
Тарансо	2053	2281	2501	3218	3449	3549	4594	3890	5582	6154	
тавансо Тамац I Гран	6928	7694	8316	9028	9677	9957	10085	10619	10823	11118	
Tiaxeala	58	64	67	70	75	79	80	85	Hts	88	
Veracruz	18446	20489	22329	23909	25632	26379	26804	28046	28612	29399	
verneruz Yucatán	7498	8343	10981	11867	12793	13239	13401	14112	14416	14828	
tucatan Zacatecas	1919	4138	4318	4701	5086	5282	5 150	5648	5780	5755	
TOTAL NACIONAL	459151	508760	553707	600583	644427	663759	690310	715259	737106	779891	0

<sup>\*</sup> TONELADAS

FUENTES INFORMACION AGROPECUARIA SARB/OGEA
TABLE 1.1

#### EVOLUCION DE LA PRODUCCION DE HUEVO FRESCO NATURAL EN EL EDO. DE SONORA 1976-1985

AÑO	PI	RODUCCION (TON.
1976		88168
1977		97908
1978		105992
1979		115271
1980		123574
1981		127163
1982		129630
1983		138488
1984		141516
1985		146237
		* * * .

FUENTE: DIRECCION GENERAL DE AVICULTURA Y FUENTES MENORES

TARLA T. 2

#### EXPORTACION DEL HUEVO

### SERIE HISTORICA (1976 - 1985)

## VOLUMEN ANUAL (kg.)

1976 844	,006
1977 1,689	, 784
1978 112	,425
1979 14	,732
1980	45
1981	136
1982 20	,540
1983 41	600
1984*	
1985*	

FUENTE: ANUARIO ESTADISTICO DE COMERCIO EXTERIOR
FRACCION ARANCELARIA 04.05.A01.

\* AUN NO SE INFORMAN LAS CIFRAS EN ESTOS AÑOS.

TABLA 1.3

#### UCION DE LAS IMPORTACIONES NACIONALES DEL HUEVO FRESCO

SERIE HISTORICA (1976 - 1985) VOLUMEN ANUAL (kg.)

1976	$(-5)^{2}$	ं।	0,2	01
1977		3	2,5	34
1978		ં 2	2,3	13
1979		3,12		
1980		1,24		
1981		5,50		
1982		0,92		
1983		1,20		
1984		9	8,0	57
1985*	11.	1 1 1		

FRACCION ARANCELARIA 04.05.A001.

\* AUN NO SE INFORMA LA CIFRA.

TABLA 1.4

VOLUMEN ANUAL (kg.) VALOR (M.N.)

2,667

\$ 91,440.00

ANUARIO ESTADISTICO DE COMERCIO EXTERIOR FRACCION ARANCELARIA 04.05.A99.

EN 1976, 1977, DE 1979 A 1985 NO HUBO EXPORTACION DE HUEVO EN-

### PRODUCCION NACIONAL DE ALIMENTOS BALANCEADOS

. ANO	(Millones de cabellas)	PRODUCCIO ALIMENTOS DOS	N DE BALANCE <u>A</u>	PRODUCCION TOTAL (Miles de-
	CERDOS AVE	S AVES	CERDOS OTRO	Tons.) S
1970 1975 1976	8.9 104 11.7 134 12.0 140	.8 🔌 2,114.0	350.0 185. 489.0 305. 621.0 335.	0 2,908.0
1977 1978 1979 1980	14.4 145 15.8 157 17.3 160 19.0 164 19.8 168	.6 2,598.0 .6 2,850.0 .0 3,135.0 .7 3,450.0	620.0 347. 670.0 391. 680.0 400. 700.0 € 410. 768.1 445.	0 3,565.0 0 3,911.0 0 4,215.0 0 4,860.0
1982 1983 1984	20.3 170 21.0 174 19.5 176	.0 3,790.0	794.0 405. 805.7 360. 691.2 315.	3 4.956.0

F U E N T E: Gufa de los Mercados de México. Marinka Olizar. Fuente Directa. Estadística Industrial Anual de SPP 1976 - 1984. Clase de Actividad 2098.

TARLA T.6

## GENERALIDADES

#### GENERALIDADES.

La materia prima de la cual se obtiene el cascarón es a partir de huevo fresco natural de gallina (<u>Gallus domesticus</u>), que es un cuerpo de figura esferoide producido por estas aves domésticas.

Los pasos a seguir en una granja para la obtención y distribución del huevo son principalmente: recolección, preselección, enfriamiento, - observación por el ovoscopio, selección por tamaños, sellado o recubri-miento, empaque y distribución.

Para fines prácticos se considera como huevo fresco natural, aquel cuyas características sensoriales, así como sus propiedades físicias, —químicas y microbiológicas se mantengan en un nivel óptimo de calidad comestible y cuya edad desde el momento de la postura no exceda de 14 días. La refrigeración ayuda a conservar la frescura del huevo, de la 2 semanas, pero fuera de él su duración es de 1 semana máximo. El huevo que — no ha sido refrigerado no debe consumirse por la posibilidad de que pueda estar contaminado con Salmonella, y causar diversas enfermedades in—fecciosas (21).

El huevo de la gallina forma una parte muy importante dentro de - la alimentación humana, pues tiene un alto valor nutricional, ya que con tribuye con proteínas, grasas, vitaminas y minerales. Por ende, se puede usar solo o como un ingrediente en otro alimento. Las cantidades per mitidas para su consumo en general, son: en niños y adolescentes un huevo diario, y en adultos un máximo de 3 huevos por semana, pues como este alimento tiene gran contenido de colesterol, cantidades mayores pueden - perjudicar su salud (29). El huevo de preferencia se debe consumir coci nado, ya que el calor transforma sus propiedades nutritivas en elementos fáctimente aprovechables por el organismo. También el huevo o alguno de sus componentes pueden tener usos alternos que no sean dentro de la in-dustria alimentaria.

Los huevos se pueden encontrar en el mercado, enteros (con cascarón) y como subproductos de ellos en tres formas principalmente: líquídos (aprox. 80%), congelados y desecados (10%), para las industrias comestibles. De años recientes a la fecha, tanto en México como en otros países el consumo de huevos procesados ha aumentado considerablemente en relación al huevo con cáscara. Una proporción pequeña es utilizada en laboratorios farmacéuticos y de investigación, aprox. 5% se guarda para incubación. Otro 5% se pierde por razón de la descomposición o por resultar huevos estériles y ser desechados, éstos tienen valor potencial para la industria de curtiduría de pieles, fabricación de abonos y de fibras artificiales (32).

#### A.- Formación del huevo de la gallina.

La formación del huevo comienza cuando sobre el ojo de la gallina inciden los rayos visibles del sol o de la luz eléctrica. Estos rayos-originan que la glándula pituitaria secrete una hormona folículo estimulante (FSH), la cual es transportada a través de la corriente sanguínea al ovario (localizado debajo de la columna). Cuando se selecciona un --huevecillo (tan pequeño como la punta de un alfiler), de entre mil o más presentes en el ovario (Fig. 1), es estimulado por la FSH, para que comience un rápido crecimiento y se forme un saco delgado y transparente que encierra a la yema en desarrollo, en ese momento, el saco se rompe a lo largo de la línea de sutura (arruga blanquecina alrededor del saco). Este saco contiene una gran cantidad de vasos sanguíneos, los cuales se encargan de llevar el material nutritivo a la yema que se está desarro--lando.

Una gallina normal tiene de 3,600 a 4,000 huevecillos, pero en realidad no hay relación entre el número de huevecillos que tiene y el número de huevos que produzca (postura). El promedio, una buena gallina pone 200 huevos por año.

Cuando se ha completado la formación de la yema (contiene la célu la germinativa de la hembra) se desprende del saco y cae en el infundíbu lo (Fig.2), permaneciendo ahí alrededor de 15 min., en caso de haber fer tilización, ocurriría en esta área. Después por acción peristáltica (ex pansiones y contracciones coordinadas y sincronizadas del músculo invo-luntario), la yema es transportada hacia la región secretora de la albúmina, donde se cubre de capas de clara.

El oviducto (Fig. 2) está integrado por: el indundíbulo, la región secretora de albúmina, el istmo, el útero y la vagina.

En la región secretora de albúmina la yema se rodea de clara espesa (aproximadamente la mitad del volumen de clara se secreta en ese lugar). La calidad de la albúmina se determina por la cantidad de ovomucina secretada en esta área. Después de permanecer en la región descrita durante tres horas, el huevo pasa al istmo.

En el istmo (área angosta del oviducto), se adiciona el agua, algunas sales y las membranas del cascarón. El huevo permanece aquí cerca de 75 minutos. Después cae al oviducto con movimientos espirales, ésto hace que la clara se tuerza en los extremos de la yema y forme los cordones de la quelaza contribuyendo a la formación de de ésta, habiendo un cambio en la estructura coloidal de la clara.

Las selecciones del oviducto que intervienen en la formación del cascarón son: el istmo, la glándula del cascarón, una sección entre ambas llamado istmo rojo y la glándula tubular del cascarón (algunos investigadores no reconocen que haya una región distinta entre el istmo y

la glándula del cascarón). La formación de la membrana es en el istmo y el desarrollo de los cristales de calcita ocurre en la glándula del cascarón. No obstante, las mamilas se producen en la glándula tubular del cascarón. Por consiguiente el inicio de la formación del cascarón es en el istmo: se informa que huevos extraídos de este lugar, presentan pequeños cristales en la superficie de sus membranas, además de alto contenido de calcio en el istmo (33).

El Gtero secreta la clara delgada y les sales que pasan a través de las membranas del cascarón por medio de ósmosis. El huevo se puede detectar en este estado sintiendo el abdomen de la gallina cuando se acerca la puesta, pues permanece en el Grea de 10 a 12 horas.

Posteriormente, el huevo entero, pasa a través de la vagina, cloa ca y finalmente sale por la ventosa. El ciclo completo de la puesta va de 24 a 48 horas, pudiendo volver a comenzar 30 minutos después (32).

La formación del huevo sucede sin importar si la gallina está o no fertilizada. Como ya se hizo mención, en caso de que exista este he cho, el espermatozoide debe subir por el oviducto hasta la yema, con el fin de alcanzarla antes de que se depositen la albúmina y el cascarón.

#### B.- Estructura del huevo de la gallina.

La estructura del huevo (Fig.3), resulta de la secuencia de acontecimientos que ocurren en el oviducto. La yema central, formoda por una cantidad considerable de lipoproteínas, está rodeada de una membrana llamada vitelina que a su vez está rodeada por mucosidades que forman una membrana conocida como capa quelaziferosa. Proyectándose a cada lado de ella, se encuentran estructuras semejantes a cuerdas, llamadas quelazas (chalaza); éstas airven para sujetar la yema en la clara (albúmina densa), y mantenerla centrada en el huevo, permitiendo también que rote.

La yema de huevo está constituída por una pequeña esfera de yema blanca rodeada por otra amarilla. En algunos huevos las bandas delgadas de la yema blanca alternan con las bandas espesas de la amarilla, al rededor de un corazón central. El gérmen localizado sobre la superficie de la yema está atado a la yema blanca en el centro, por medio de un cordón o tubo llamado latebra (36).

El color de la yema está influenciado principalmente por el contenido de xantófilas que exista en la ración del alimento de la gallina. Muchos pigmentos carotenoides depositados en la yema no tienen un gran valor en cuanto a vitamina A; por ello, yemas muy coloridas no necesaria mente proporcionan mayor cantidad de esta vitamina (3).

Después de la yema, continúa la albúmina presente en tres capas: la exterior, clara delgada (albúmina fluída); la clara espesa (albúmina densa) y la interior, la clara delgada, que colinda con la yema. Algunas gallinas secretan un radio más grande de clara espesa que de delgada. En el almacenamiento también se afecta el espesor de la albúmina y losradios de las claras (33).

El cascarón está formado principalmente por cristales de carbonato de calcio depositados en una matriz orgánica, rodeando y soportando a la yema y a la albúmina (Fig. 4). En su exterior tiene un revestimien to protector conocido como cutícula. El cascarón de huevo es quebradizo y rigido pero no es impermeable, pues contiene miles de poros invisibles (algunos pocos pueden verse sin necesidad de aumento). Su porosidad per mite que entren y salgan gases para el embrión que se estuviera desarrollando, si se tratase de un hucvo fertilizado. Dentro del cascarón de un huevo existen dos membranas; una de las cuales está fuertemente adherida al mismo. Estas membranas están formadas principalmente de queratina --(proteina insoluble en agua) y de mucina. Después que un huevo es puesto, el contenido se contrae y las dos membranas se separan por una peque ña camara de aire, que generalmente aparece en el extremo romo (obtuso) del huevo. Cuando esta celda es grande puede ser un indicio de que el huevo ha sido almacenado y es menos fresco, ya que hubo liberación de agua y de bióxido de carbono principalmente. Una cámara de aire de 2 cm indica que el huevo no es fresco (32).

Cuando se lavan los huevos pierden el revestimiento exterior o cutícula, quedando expuestos los poros de la cáscara. Bajo estas condiciones es más fácil que entren bacterias y deterioren el contenido de los mismo (30).

Los cascarones de algunos huevos son blancos y otros de color café. No obstante, la pigmentación depende de la raza de la gallina, más no de la calidad del huevo (3).

#### C.- Composición del huevo.

El huevo se compone poco más o menos de las siguientes proporciones: una parte de cáscara, tres partes de yem: y seis partes de clara. El principal ingrediente de las porciones interiores es el agua, pues -abarca casi las tres cuartas partes del peso total; la otra cuarta parte se compone de sustancias orgánicas (principalmente proteínas y lípidos, con pequeña cantidad de carbohidratos) e inorgánicas (minerales). Pero las composiciones de la clara y yema difieren considerablemente. Prácti camente toda la grasa está en la yema, y cuando los huevos se separan en clara y yema para fines y determinados, es importante no mezclarlas, ya que una cantidad pequeña de grasa a afectaría en forma adversa a la clara en la capacidad de batírse. El 12% de sólidos de clara de huevo está --compuesto casi exclusivamente por proteínas. La yema es rica en vitaminas A, D, E, K, liposolubles; y en fosfolípidos, entre ellos un emulsionante, la lecitina. Desde el punto de vista nutritivo, los huevos constituyen una buena fuente de grasa, proteínas, vitaminas y minerales.

Los componentes principales del huevo se pueden encontrar en las siguientes relaciones:

	Entero	Cascarón	Clara	Yema
	(g)	(g)-(%)	(g)-(%)	(g)-(%)
Minimo	31.0	3.7- 9.6	15.6-50.2	10.4-23.7
Máximo	118.3	16.4-14.6	69.5-62.9	32.4-37.3
Promedio	57.1	6.9-12.1	32.1-56.2	18.1-31.7

Durante el quebrado de huevo se determinó tanto en forma macánica (con el uso de la quebradora de huevo) como manual, la relación que existe entre las tres porciones principales, comparandose a su vez, con datos bibliográficos:

		Mecánico			Manual	Teórico(36)
Peso promedio/huevo	(g)	54.583			57.987	
Clara	(%)	50.069	100		57.896	56-61.0
Yema	(%)	31.348			29.368	27-32.0
Cascarón	(2)	12.609	٠.		11.651	8-12.1
Yema-Clara	(%)	5.985		- A		
Pérdida	(%)	· · · ·		4 47	1.085	(1) 2일 1일

La composición química del huevo es la siguiente:

Huevo con cascara (57g.): Ruevo líquido entero (50g.) compuesto por: 11.3 - 12.9 % Proteina Grasas · 9.8 - 11.8 7 0.7 - 2.7 % Carbohidratos 74.0 - 77.0 % 24.0 - 42.0 % Solidos totales Colesterol 0.0025-0.0035% Acidez 0.9 - 1.1 % Minerales

Clara (32 g.): pH (	7.6 - 9.0)		Yema (18 g.):pH	
ProteInas	10.6 %		Proteinas	
Grasus	Trazas	电弧 医遗传性 经	Grasa	32.6 %
Carbohidratos	0.9 %		Carbohidratos	1.0 %
Minerales	0.6%		Minerales	1.1 %
Agua	<u>87.8 %</u>			48.6 %
	99.9 %	, Privat grafta		99.9 %
S61idos	11.9 %		S61idos	
Glucosa libre			Glucosa libre Vitaminas A. D.	0.2 %
Vicaminas del grupo			grupo B.	r A ger

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>El tamaño muestral se eligió para obtener un ± 3% de error (35).

Cascarón (7 g.) :	
Carbonato de calcio	93.5 %
Fosfato de calcio	0.7 %
Carbonato de Magnesio .	0.8 %
Proteinas de la membrana	
de la cáscara.	3.4 %
Agua	1.6 %
	100.0 %

#### 1.- Yema.

Se considera que está compuesta aproximadamente por la mitad deagua y la mitad de sólidos; de éstos una tercera parte es protefna y --dos terceras partes grasa. La protefna principal es la vitelina; también contiene fosfovitina, rica en fósforo y livetina rica en azufre. Los compuestos grasos son triglicéridos, fosfolípidos y colesterol. La vitelina se encuentra en la yema como una lipoprotefna, por lo cual se le conoce como lipovitelina. El principal fosfolípido es la lecitina (fosfatidil colina), con algo de fosfatidiletanolamina y pequeñas cantidades de fosfatidil serina. Los ácidos grasos de los triglicéridos de la yema son el oléico, palmítico, esteárico y linoléico, entre otros. También se encuentran reservas de vitaminas A, D. E, K y algunas del --complejo B, el mineral más importante que contiene es el hiero (23).

#### 2.- Clara.

Además del agua, en la que están disueltas las proteínas y sólamente algunas partículas de grasa, su principal componente as la albúmi na misma que contiene una aglomeración de 9 proteínas. Estas son secre tadas por el oviducto. La proteína más importante y que abarca más de la mitad del total de ellas, es la ovoalbúmina, la cual se desnaturaliza făcilmente por el calor. La conalbúmina (se coagula también por el calor) está en un 14% del total. Una 3a. proteína es la ovomucoide la cual represents un 12% y no se cuagula por el calor. Estas tres glicoproteínas (o fracciones de proteínas), representan más del 80% de las proteínas de la clara. También contiene 7% de globulinas, incluyendo a la lisozima, que tiene la propiedad de disolver las paredes celulares de algunas bacterias. La ovomucina, que abarca menos del 2%, contribuye al espesor de la clara, y en menor cantidad se encuentra la avidina. Existe la biotina pero se considera de poco interés ya que tiene la pro piedad de formar enlaces. Por consiguiente es en la clara donde se encuentra concentrado el alimento más importante del huevo (3).

#### Cascarón.

Su composición en base seca es la siguiente: 93.7% de carbonato de calcio, 1.3% de carbonato de magnesio, 0.8% de fosfato de calcio y 4.2% de materia orgánica. Estas especies químicas Ca<sup>+2</sup> y CO<sub>3</sub>= dan firmeza y porosidad al cascarón permitiendo el intercambio gaseoso a través de él.

Basándose en su estructura, las capas que constituyen el cascarón

son: La cutícula externa, formada de proteína; el centro (80% del espesor), formado por pequeños cristales de calcita intercalados con proteína y en menos cantidad por cristales de fosfato de calcio; la capa interna, mamilar, formada por calcita y pequeños cristales de fosfato de calcio. Se considera que la proteína de la matríz del cascarón es colágeno (18) Las membranas del cascarón están compuestas básicamente por queratina. En relación a los pigmentos del cascarón, la "obrodeína" la proporciona el color rojo-café, es una hematoporfirina que a su vez es un metil éster (C36H42O4H4) y puede ser observado por los rayos UV (36).

#### D.- Microbiología del huevo.

El contenido del huevo con cáscara es virtualmente estéril, las - excepciones se deben a infecciones ovaricas; en el momento de la puesta, se infecta por el suelo, vegetación, haces fecales, etc. Por lo mismo, no debe de ingerirse un huevo roto y que no ha sido refrigerado, ya que existe la posibilidad de que se haya infectado con la bacteria Salmonella causando enfermedades del tipo de la tifoidea y paratifoidea (30).

Un huevo limpio puede ser portador en la superficie de su cáscara de hasta 150,000 bacterias y 300 esporas de molos, mientras que huevos sucios pueden portar millones de microorganismos, sean o no patógenos (16). La cuticula que cubre la cáscara y llena los orificios exteriores de los poros impide la entrada de bacterias mientras el huevo está intacto. Las membranas de la cáscara y la composición química de la albúmina (presenta una enzima bactericida llamada lisozima), sirven de barrera. En cambio la yema es un excelente medio de cultivo. Si se abren los poros de las cáscara por abrasión o mediante el lavado, o si se rompe la cáscara, la sobrecarga microbiana puede penetrar hasta la yema, donde se multiplican exuberantemente. Esto es particularmente para los huevos sucios y mojados, por ello se recomienda a los productores, lavarlos en seco o bien ba ñar los huevos destinados a almacenaje, con un aceite mineral ligero. Tam bién los hongos microscónicos pueden invadir el interior del huevo cuando es suficientemente alta la humedad o cuando padece daño la cuticula penetrando fácilmente en la yema y la clara.

Por lo anterior, se observa que la principal fuente de infección la constituyen las bacterías de la cáscara, luego esta fuente infecta la instalación y equipo. Del huevo líquido crudo se han aislado más de 50 especies de diferentes organismos, algunas como Salmonella, Shigella y--otros patógenos. En la práctica comercial se considera ordinariamente que al contenido de 10,000 a 50,000 microorganismos viables/gramo comprobados en cultivos en agar a 20°C después de 5 días, indican un producto de alta calidad, siempre y cuando la cuenta de patógencos sea negativa. Cuando el contenido es de 1'000,000 o más, el producto es inaceptable, también se de termina el contenido por medio de estudios microscópicos directos (10).

Los análisis microbiológicos de cáscaras de huevo durante el almacenamiento revelan la presencia de hongos (Penicillum, Aspergillus, Cladosporium, Rhizopus y Mucor), levaduras (Rhodotorula) y bacterias (Pseudomonas Micrococcus, Bacillus, Proteus, Alcaliganes, Flavobacterium, Citrobacter, Escherichia y Enterobacter). Las especies de Pseudomonas son los principales organismos deterioradores de los huevos en cáscara y sus derivados. Cuando las bacterias crecen en el huevo, descomponen su contenido y forman productos secundarios, dando lugar al olor, aspecto o color característicos de éste tipo de putrefacción (32).

Se considera un huevo de desecho aquél que es incomestible, que está roto o destrozado de modo que su contenido se desparrama, enfría, contamina, o que contiene una clara sanguinolienta, grandes manchas de sangre, núcleos de carne de aspecto desagradable u otros materiales extraños. Estos huevos no comestibles resultan tanto de daños no microbia nos como de otros.

Los huevos no comestibles debido a la proliferación microbiana - son clasificados como huevos dañados por pudrición negra (Proteus, Aeromonas) pudrición blanca-incolora-(Cirobacter, Alcaligenes), agrios - (Pseudomonas), blanco-verdoso (P. Huerescens), marchitamiento (Pseudomonas), mohosos (diversos tipos de hongos), pudrición roja (Serratia marces cens), pudrición coagulasa (Cirobacter, Proteus, Enterobacter), pudrición amarilla y verde (Alcaligenes, Flavobacterium, Cycophaga) (32).

#### 1.- Pasteurización de los huevos.

Los huevos enteros, yema y clara, deshidratados, líquidos y congelados han de ser pasteurizados o tratados de cualquier otra forma capaz de destruir todas las Salmonellas viables.

#### CONDICIONES DE PASTEURIZACION DE LOS HUEVOS

Producto	Temperatura °C	Duración (min.)
Huevo entero	60	3.5
Yema	60-62.2	7.0-3.5
Yema con azūcar o salada	62-64.4	7.0-3.5
Clara pH = 9.0	56.7	3.5
Clara pH = 9.0 tratada c/H2O2	51.7	3.5
Clara estabilizada c/Al2(SO4)	3 60.0	3.5
a pH = 7.0		어디 동안 나는도 최종회

Estas condiciones de pasteurización reducirón el recuento estándar en un 99.9% y el número de <u>Salmonellas</u> practicamente a cero. La sen sibilidad al calor de las <u>Salmonellas</u> se ve afectada por el pH. De aquí que la pasteurización de clara de huevo a pH 9 requiera menos tratamien-

to calórico que a pH más bajo. Al añadir un 10% de sal o azúcar a la -yema la estabilidad al calor de las <u>Salmonellas</u> se incrementa de 5 a 10 veces; pero también, la estabilidad de las proteínas del huevo al calor aumenta con el azúcar o la sal (18).

Una pasteurización correcta se basa en una relación crítica tiem po-temperatura. Si la temperatura desciende l°C, la eficiencia de la -pasteurización disminuye; si aquellas aumenta hay peligro de coagulación del huevo, formúndose una película de coagulación sobre las superficies del intercambiador de calor y pudiendo resultar dañadas las propiedades funcionales del huevo tratado.

La adición de peróxido de hidrógeno a la clara reduce la resistencia al calor de las <u>Salmonellas</u>, pudiendose utilizar una temperatura de pasteurización más baja. Con la excepción de la conalbúmina, las -proteínas de la clara son suficientemente estables al calor a pH = 7.0; añadiendo una sal de alumínio se estabiliza la conalbúmina y se puede -calentar la clara a 60°C sin que se produzca la coagulación.

Como ya se sabe, el calor húmedo es más efectivo que el seco en destrucción de microorganismos; se cree que el segundo mata las células por oxidación destructiva de sus componentes. Las <u>Salmonellas</u> pueden eliminarse cuando la clara de huevo deshidratada se almacena a temperaturas comprendidas entre 50°C y 70°C. La albúmina deshidratada destina da al comercio se almacena a 51.6-54.5°C durante 5 6 7 días, lo cual—además de eliminar las <u>Salmonellas</u> mejora el comportamiento funcional del producto. (23).

a) Termorresistencia de los microorganismos.— La resistencia al ca lor de los microorganismos se expresa como "tiempo de destrucción térmica", que se define como el tiempo necessrio para destruir, a una temperatura dada, un número determinado de organismos (o esporas) en condiciones específicas.(10).

En general, la termorresistencia de d'atintas clases de levadu-ras, mohos y bacterias y sus esporas, varía dependiendo del medio y las
condiciones en las que se encuentren:

- a.1) Las formas vegetativas de las levaduras se destruyen a 50-58°C/10 a 15 minutos; y las esporas con 5 6 10°C más que esa temperatura (10).
- a.2) La mayor parte de los mohos y sus esporas se destruyen por el calor húmedo a  $60^{\circ}\text{C/5-10}$  minutos. Las esporas asexuales son más resistentes que el micelio y para su destrucción en un tiempo dado requieren—una temperatura de 5 a  $10^{\circ}\text{C}$  superior a la de éste (10).
- a.3) La termorresistencia bacteriana varía mucho, desde algunos patógenos fácilmente destructibles, hasta los termófilos que necesitan un -

calentamiento de varios minutos a 80-90°C. Acerca de la termorresistan cia de las células vegetativas pueden hacerse algunas afirmaciones: los cocos son en general, más resistentes que los bacilos; a mayor temperatura óptima y máxima de crecimiento mayor es la termorresistencia; las bacterias que forman grupos o poseen cápsula son más defíciles de destruir que las que no lo hacen; las bacterias con un contenido lipídico grande, son más difíciles de destruir que las demás. Como ejemplo del tiempo de destrución térmica para algunas bacterias en forma vegetativa de interés son:

Bacteria	Tiempo <sup>l</sup> (min.)	T1 ( C)
Salmonella typhosa	4.3	60.0
Staphulococcus aureus	18.8	60.0
Escherichia coli	20-30	57.3

La termorresistencia de las esporas vária ampliamente con las distintas especies de bacterias y con las condiciones de esporulación. La resistencia a los 100°C ascila entre menos de 1 minuto o más de 20 horas (10).

#### 2.- Factores de crecimiento de la Salmonella.

La mayoría de las cepas de <u>Salmonella</u>, pueden crecer en medios sencillos como el que consiste en nitrógeno amónico, sales minerales y-glucosa(29). Espesas cepas necesitan factores de crecimiento esenciales sobre todo vitaminas. La actividad mínima para el crecimiento se sitúa entre 0.93 - 0.96. La concentración de sai necesaria para inhibir su crecimiento depende de la temperatura y otros factores.

El pH mínimo para el crecimiento se cifra entre 4.0 y 5.5. El pH máximo para el crecimiento se estima entre 9.0 y 11.0 con intervalo optimo de 6.5-7.5. El pH de la clara oscila entre 7.6 y 9.5; y el de la vema entre 6-6.3 (36).

Por ser patógenos potenciales, las <u>Salmonellas</u> son consideradas mesofílicas. El recorrido de la temperatura para el cracimiento es de-5°C a 45-47°C. Los serotipos que crecen a 5°C son psicrotipos. La temporatura óptima es de 35-37°C, mientras que la mínima varía en función de las relaciones con otros factores de crecimiento. La interacción de otros microorganismos puede producir la inhibición de <u>Salmonellas</u> (33).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Estos valores pueden variar para diferentes concentraciones de bacterias (o esporas), calentadas en distintos substratos.

En la actualidad, se considera una fuente importante de las <u>Salmonellas</u> la cáscara de los huevos líquidos, congelados o en polvo. Por ejemplo las <u>Salmonellas</u> aisladas de estos productos constituyen aproximadamente el 10% con respecto a las fuentes no humanas.

- a) Control de la Salmonella. Las precauciones necesarias para el control de la Salmonella son:
- a.l) Evitar la contaminación,-Por medio de limpieza e higiene durante la manipulación del producto.
- a.2) Evitar el crecimiento.— Control de temperatura, intervalos entre 10°C y 50°C deben ser rápidos durante el calentamiento o enfriado del producto. En pH menores a 4.0 no crecen pero en ocasiones pueden sobrevivir.
- a.3) Destruír los organismos. Es la mejor forma de asegurarse de que no hay peligro para la salud.

El uso del óxido de propileno en carne y harina de hueso es muy eficaz para la destrucción de <u>Salmonellas</u> y la concentración dependería de la humedad relativa, del nivel de contaminación y del tiempo de exposición (18).

La fumigación de los piensos (harina de pescado, de carne o dehueso) con gas formaldehido alcanza una penetración de 1.91 cm. (18).

La cloración del agua destruye S.typhi y contribuye al control de organismos cuando se aplica para limpiar las instalaciones y como medio de enfriamiento (10).

La cepa S.seftenberg 775w es la más termorresistante y ha sido aislada, sus valores D son los siguientes:

Temperatura	(°C)	3.13					D (seg.
65.5	33.3	4.	1,41,31	16 J. 18 C	100	1	34.00
68.3	5/35		1492				10.00
71.7 73.9	Ĵuj,		1997				0.55

Estos valores son mucho más elevados que los demás serotipos. Si se considera un 12D para serotipos distintos de <u>S. seftenberg</u> 775<u>w</u> - - 62.8°C/68.4 segundos, deberán ser suficientes para destruir las <u>Salmone-</u>11as (10).

Las Salmonellas son moderadamente resistentes al tratamiento por radiación. La dosis por radiación varía con el tipo de producto, las condiciones de radiación y el nivel de contaminación: 0.5 Mrad reduce el número de Salmonellas en un factor 107. La dosis de radiación necesaria para la eliminación de las Salmonellas no surte efectos sobre el sabor y la calidad nutritiva de los alimentos y piensos. Este tratamiento presenta gran interés en el proceso de los piensos animales que la irradiación gamma puede realizarse una vez embalado en sacos herméticamente cerrados (3).

#### 3.- Conservación de la calidad de huevo.-

La calidad del huevo empieza a disminuír a partir del mismo momento de la puesta. Los métodos empleados para conservación de la calidad incluyen las bajas temperaturas, el tratamiento de la cáscara, la termoestabilización, el embalaje, la humedad, el control, etc.

Los huevos tienen que almacenarse porque se producen en abundancia durante la primavera. Los huevos frescos destinados a congelar o a deshidratarse también pueden almacenarse antes del procesamiento. Se conservan major a una temperatura muy poco superior a su punto de congelación (-2.2 a 2.8°C). Una temperatura de -1°C en la bodega es ideal; a fin de reducir a mínimo la pérdida de humedad de la yema y la clara que es de 0.12%/semana, la humedad relativa suele mantenerse hasta 90%.

#### Condiciones de almacenamiento:

Producto	T almacenamiento °C	Humedad %	Longevidad meses	
Huevos enteros	- 1.7 a 0.6	85-90	8-9	
Huevos deshidratados	1.67	baja	6-12	

Al extraer los huevos de la refrigeración debe hacerse de manera que el deshielo sea lento, para evitar que no se condense la humedad so bre la cáscara y que se fomentara la multiplicación de organismos. Es conveniente un deshielo de 8 a 24 horas. El método de refrigeración no es el más ideal para conservar los huevos. Aunque a una temperatura inferior a 4.4°C menos en 1 1/2 hora que sigue a la extracción se debe en friar el huevo líquido para evitar que se agrie (15).

Inmediatamente después de que se les pone y durante el almacena — miento, los huevos pierden dióxido de carbono a través del cascarón poro so, volviéndose así más alcalinos, el pH de la clara sube de 7.6 hasta 9.7 y de la yema es más lento el incremento yendo de 6.0 hasta 6.8. La pérdida de dióxido de carbono se asocia con la pérdida de frescura, y la estabilidad en el almacenamiento. Se prolonga si se les conserva en una atmósfera de este gas. A 20°C se necesita lo menos 10% de cióxido de —carbono, en cambio a 0°C se requiere 3%. Este gas conserva las características del huevo, además inhibe (pero no destruye) la flora microbiana (18).

Otro método de almacenamiento es la adición de ozono a la atmósfera del refrigerador para retardar la multiplicación de hongos sobre la superficie. Se necesita una concentración de por lo menos 0.6 ppm.

Es más usual, bañar los huevos destinados a almacenarse con un -aceite mineral ligero, debiendo aplicarse en el lugar de producción y en
el mismo día de la puesta. Este aceite cierra los poros de la cáscara,
retardando así la pérdida, tanto de dióxido de carbono como de humedad;
pero este tratamiento no sustituye a la refrigeración (18).

Otro método de prolongar la vida de almacenamiento es la termoestabilización donde los huevos se sumergen en agua o aceite calientes por un perfodo breve a fin de que se coagule una capa delgada de albúmina por todo el interior de la cáscara para sellarla. Puede añadirse al aceite un agente germicida como pentaclorofenol. También el calor emplea do puede destruir algunas bacterias de la superficie (30).

Por otro lado, se pueden obtener productos derivados del huevo 11 quido como son los huevos enteros y/o una de sus parces congeladas o des hidratadas.

- 4.- Específicaciones generales para el aseguramiento de la calidad de los huevos enteros.
- a) Sensoriales: el huevo fresco se rompe tácilmente. La clara debe estar adherida a la yema. La yema debe ser abultada, firme, no fertilizada, de color amarillo intenso; libre de sangre, partículas y aromas ex traños.

b)	Microbiológicas (36)	col/g műxime
-	Cuenta de mesofílicos aerobios	5 x 10 <sup>6</sup>
	Organismos coliformes	50,000
	Hongos y levaduras	50
	Escherichia coli	negativo
	Salmonella	negativo
	Staphylococcus aureus	negativo

c) Fisicoquímicos.- Mencionadas anteriormente dentro de la composi-ción del huevo.

#### 5.- Lavado de los huevos.

Existen diversos métodos para eliminar la suciedad de los huevos. La limpieza en seco elimina la suciedad así como la cutícula. El lavado con agua caliente elimina la suciedad, la cuticula (mucina) y parte de ~ los microorganismos, pero favorece la penetración de bacterias en el hue vo a través de los poros de la cáscara. Salvo que se tomen precauciones. el agua de lavado aumentará el número de bacterías causantes de altera-ción, por lo que, al lavar la contaminación se hará mayor. Se ha compro bado experimentalmente que los huevos lavados a mano sufren más a menudo putrefacción que los no lavados y más los lavados mecánicamente que a ma no. El grado de alteración resultante varía con el tipo de máquina lava dora y clase de solución del lavado. Se ha intentado reducir la contamí nación bacteriana lavando las máquinas y desinfectándolas con una solu-ción de hipoclorito al 12 aunque el éxito no ha sido completo, el empleo de este desinfectante como agua de lavado redujo el porcentaje de altera ción. Como soluciones de lavado se han empleado: lejfa, acidos, formali na, hipocloritos compuestos de amonio cuaternario, varios detergentes y combinaciones de detergentes y desinfectantes, el más recomendado ha sido el hipoclorito en solución concentrada y en solución de 0.15% de cloro, el alcohol etílico de 70% y la solución de 0.35% de hidróxido de sodio; el poder germicida aporta una protección al huevo del 50% superior a la del agua sola, o una mezcla de detergente-desinfectante. Estas soluciones se emplean calientos a temperaturas que varían de 32 a 60°C dependiendo de la sustancia utilizada. Es esencial el empleo de una solución caliente en el lavado de los huevos para evitar que sea absorbida a través de la cáscara por succión al enfriarse aquellos. Todas estas soluciones no sólo eliminan los microorganismos, sino que destruyen mu-chos de ellos (32).

Por otro lado se ha encontrado que la vibración ultrasónica de un objeto sumergido en un líquido actúa como frotamiento sobre la superficie debido a la formación de burbujas lo cual límpia en realidad el huevo, pero la solución de limpieza puede penetrar al interior dependiendo del tiempo e intensidad de la exposición (1). En un estudio realizado en el estado de Maryland USA se llegó a la conclusión de que el ácido -acérico al 3% (a22°C), en combinación con la vibración ultrasónica, sirven como método en la limpieza del huevo sin alterar las propiedades del interior del mismo; el tiempo de exposición recomendado es de 30 segundos, para lograr también una vida de anaquel efectiva de cuatro semanas a 23°C (1).

#### E.- Características específicas del cascarón del huevo.

El cascarón es la capa exterior del huevo, el cual tiene en su interior una membrana coriónica o corion constituída principalmente por —queratina, la cual carece de valor nutritivo; generalmente esta membrana se encuentra levantada en la parte menos aguda del huevo formando una cámara de aire (en el almacenamiento se busca comprimir esta cámara). Los huevos jóvenes tienen menor cámara de aire que los viejos, ésto es porque el cascarón está formado por sales, carbonatos, fosfatos, que están unidos entre sí, formando porosidades que permiten el intercambio entre el exterior e interior.

El corion está formado por capas superpuestas de diferentes tejidos constituídos por sustancias protéicas del tipo de las escleroproteínas no digeribles; éstas están unidas entre sí por polisacáridos. El cascarón está recubierto por una película llamada cutícula cuya función es dismi- nuír el intercambio de aire. Esta membrana puede perderse cuando el hugvo se laya.

La estructura del cascarón se sintetiza en lo siguiente: la cuticula exterior y delgada, probablemente formada por materia proteínica al
centro (80% de espesor), pequeños cristales de calcita con proteína considerable en forma de fibras intercaladas y con pequeños cristales de -fosfato; el interior "mamilar" es una prominencia formada de calcita y -cristales de fosfato de calcio.

El factor principal en la transmisión de luz a través del cascarón es el contenido de humedad, después el de proteína y al final el es pesor del cascarón (j).

#### 1.- Composición del cascarón proveniente de las plantas quebradoras.

Las muestras de cascarón que se obtienen de las plantas quebrado ras incluyen: la cáscara, las membranas y la clara adherida. Este mate rial contiene de un 29% a 35% de humedad. Cuanto se centrifuga se re mueve la albūmina libre y contiene un 16.22% de humedad (v).

La composición total del cascarón proveniente de las plantas que bradoras (base seca) es (w):

	Con albūmina	Centrifugado Lavado
	adherida %	
Nivel original de hu medad (base húmeda)	29.10± 1.1	16.20 <u>+</u> 0.40
Proteina	7.56± 0.26	5.31± 0.16 5.15± 0.48
Lípidos	0.24+ 0.14	0.30± 0.20 0.05± 0.00
Cenizas	91.10± 0.50	94.20 <u>+</u> 0.40 95.40 <u>+</u> 0.10
CaCO <sub>3</sub>	90.90 <u>+</u> 1.00	91.80± 0.50 93.10± 0.20

La composición elemental del cascarón proveniente de las plantas quebradoras (base seca) es:

	현대 보다보는데 걸린다		and the garage	of the second
Con alb		Centrifugado	Lavado	
adher	ida	Electric Paris Control		* * * * * * * * * * * * * * * * * * *
	起-1887年,可以1987年		* **	the second
Calcio 34.400	± 0.4000	36.7000 ± 0.200	27 2000	+ 0.1000
		00.0022 ± 0.002		+ 0.0001
		00.0720 ± 0.005		± 0.0200
		00.4000 ± 0.013		± 0.0070
		00.1260 ± 0.005		± 0.0250
		DO.0870 ± 0.014		± 0.0000
Fosfato 00.116	± 0.0020	00.1040 ± 0.000	00.1170	± 0.0000

La composición de aminoácidos del cascarón proveniente de las -plantas quebradoras (base seca):

Aminoácidos	Con albümina	Centrifugado	Lavado
	adherida	Bulletin States	
	2 1 2	3 12 SA 2 SE SE	*
Acido glutámico	1.26 ± 0.03	0.76 ± 0.03	0.67 ± 0.06
Acido aspartico	0.87 ± 0.02	0.52 ± 0.01	0.45 ± 0.04
Serina	$0.65 \pm 0.02$	0.38 ± 0.01	$0.34 \pm 0.03$
Leucina*	$0.57 \pm 0.01$	$0.32 \pm 0.01$	$0.25 \pm 0.03$
Arginina*	$0.57 \pm 0.01$	0.38 + 0.01	$0.37 \pm 0.03$
Valina*	$0.54 \pm 0.01$	0.32 + 0.04	0.29 ± 0.03
Prolina	0.62 + 0.04	0.45 7 0.03	0.45 + 0.04
Glicina	0.51 + 0.01	0.38 + 0.01	$0.35 \pm 0.03$
Fenilalanina*	0.38 + 0.03	0.18 + 0.02	0.10 + 0.01
Treonina*	0.47 + 0.01	0.30 + 0.01	$0.29 \pm 0.02$
Alanina	0.45 ± 0.01	7.26 + 0.01	0.20 ± 0.02
Cistina y cistefna	0.41 ± 0.02	0.20 + 0.01	0.35 + 0.03
Lisina*	$0.37 \pm 0.01$	0.20 + 0.01	0.20 + 0.01
Isoleucina*	$0.34 \pm 0.01$	0.19 ± 0.01	0.15 + 0.01
Metionina*	0.28 + 0.02	0.19 + 0.02	0.16 + 0.02
Histidina*	0.30 + 0.02	0.24 + 0.01	0.20 ± 0.01
	$0.30 \pm 0.02$ $0.25 \pm 0.02$	0.15 + 0.01	0.12 + 0.02
Tirosina	0.23 ± 0.02		0.14 E.0.02
Total	8.84	5.42	4.94

<sup>\*</sup> aminoácidos esenciales

La composición de aminoácidos del cascarón proveniente de las plantas quebradoras comparado con la clara y expresado como por ciento del total de aminoácidos enlistados (w):

Aminoácidos	Clara		Cascaro	The same of the same of the	
			ilbūmina (C merida	entrifugado	Lavado
	(Snider y-	ki Specie Programa	<b>2</b> -		2
	Cotterill)	Colorado Santigado			
Acido glutămico	13.76		.25	14.02	13.56
Acido aspartico	10.11	<del></del>	7.35	9.59 7.01	9.11 6.88
Leucina* Arginina*	8.71		5.45 5.45	5.90 7.01	5.06 7.49
Valina*	7.93	, A. E.	5.11	5.90	5.87
Prolina Glicina	3.11		7.01 5.76	8.30 7.01	9.11 7.09
Fenilalanina*	6.92 4.66		4.30 5.32	3.32 5.54	2.02 5.87
Alanina Cistina y cisteín	5.83 a 2.49		5.09 4.64	4.80 3.69	4.05 7.09
Lisina*	5.91	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	4.19	3.69	4.05
Isoleucina* Metionina*	5.29 4.12		3.85 3.17	3.51 3.51	3.03 3.24
Histidina* Tirosina	2.02 3.81		3.39 2.83	4.43 2.77	4.05 2.43
Total	100.00		0.00	100.00	100.00

<sup>\*</sup> Aminoácidos esenciales.

El cascarón húmedo que se obtiene de las plantas quebradoras -- constituye un problema en cuanto que está sujeto a la descomposición y al ataque de los insectos.

Los datos presentados anteriormente sobre el cascarón y su alto contenido de humedad nos muestran que no había sido aprovechado. Pero - secando este desperdicio puede utilizarse como un ingrediente alimenti--cio.

2.- Haterial orgânico, en el cascarón de huevo (c).

Alrededor de la clara hay dos membranas compuestas de fibras. El cascarón está unido al exterior de las membranas por la mamila que tiene prominencias hemisféricas y rugosas compuestas de calcita.

Cada mamila contiene un corazón de materia orgánica y se sumerje en el cuerpo principal del cascarón. Entre la capa mamilar y la cutícula se encuentra la capa esponjosa, compuesta de una masa densa de crista les de calcita unidos a una matríz orgánica esparsida. El cascarón contiene poros, que comienzan con intersticios, entre la mamila pasando a través del cascarón y abriéndose a la superficie. Esta superfície se en cuentra cubierta por una capa delgada y resistente llamada cutícula.

Histológicamente las membranas del cascarón están separadas en capas. La membrana exterior, siguiente del cascarón se compone de 3 ca pas, la externa de fibras de queratina y otras dos fibras de mucina y la membrana interna compuesta de dos capas indistintas de fibras de queratina y mucina. Con un análisis parcial de aminoácidos y rayos X se comprueba que las membranas están compuestas de gran cantidad de queratina. Por medio de estudios histoquímicos, se mostró que la matríz se compone de un complejo proteína-ácido-polisacárido; también se indica la presencia de un azácar neutro, particularmente en el corazón mamilar.

La cutícula es un epitelio celular sobre una membrana basal. Es porosa y compuesta principalmente por mucina. En 1958 se demostró la - presencia de proteína conteniendo principalmente cadenas de disulfuro - así como grupos sulfhidrilo libres y fosfolfpidos.

a) Composición de la matríz del cascarón de huevo. - La matríz en base seca contiene 7.92% de cenizas, donde el sulfato está presente pero el fosfato no. Los aminoácidos y azúcares se encontraron después de la hidrólisia.

La galactosa, manosa, fucosa, galactosamina, glucosamina y ácido glucurónico se identificaron por cromatografía y electroforesis.

Valores analíticos para el cascarón: matriz, membranas y cuticula (c):

	Matriz -,	
and the second second second second		Membranas Cuticula
	orgānica su <u>l</u> (2	de materia: (% de materia
	fatada)	orgānica) orgānica)
Nitrogeno	15.01	15.54
Hexosamina nitrogenada	0.46	0.11
Hexosamina no nitroge-	원리 경기 전화 경우 보다.	
nada (por diferencia)	14.55	15.43
Hexosamina	5.83	2.43
Azūcar neutro (como ga		
lactosa)	3.57	1.97
Acido urónico (como áci		
do glucurónico)	1.45	0.00
Sulfato de Ester	1.10	trazas

En la composición de aminoácidos de la matríz no se detectó metionina en los cromatogramas con minhidrina o con yoduro de platino y después de una hidrólisis alcalina de la matríz no se encontró triptófa no. Las pruebas para hidroxiprolina también fueron negativas.

Existe gran similitud entre la composición de esta proteína y la proteína no colaginosa asociada con el sulfato de condroitina en el cartílago de ganado y de cerdo.

Composición de aminoácidos del cascarón de huevo comparado con la proteína no colaginosa asociada con el sulfato de condroitina en el cartílago de ganado y de cerdo:

		Proteina no colagia	osa
Aminoácidos:	cascarón (g.de	Cartilago de Cartilago de N/100g de	cerdo del cas
	proteico)		ie N prote <u>i</u> (g de – co) a.a/100
			de mate- ria or-
Arginina	11.6	5.57	9.73 gánica)
Ac. glutémico Glicina	7,4 6.9	4.79	7.57 11.5 7.07 5.4
Isoleucina Leucina	6.3	2.77 6.15	2.99 6.26 8.7
Alamina Ac. aspártico Valina	5.4 4.8 4.3	4.79 5.71 4.05	5.64 5.0 5.58 6.7 4.46 5.3
Treonina	4.1	2.86	3.35 5.2

## Proteina no colaginosa (c)

	Matriz del cascarón (g de N/100g de N proteico)	ganado (g	le N/100g de lco) (g	cerdo de N/100g N prote <u>1</u>	Metriz del cas- carón (g de a.a/100g
					de mate- ria org <u>a</u> nica)
Serina Prolina	4.0 3.1	2.64 6.94	in daya Marak	6.38 1.07	4.4 3.8
Lisina Fenilalanina	3.0 2.3 1.4	5.04 4.67		3.27 3.31	2.3 4.0
Cistidina Histidina Tirosina	1.1	3.67 2.60		trazas 2.87 1.87	1.8 0.6 0.6
Metionina Hidroxiproli	0.0	0.87 0.00		0.00	0.0
Total	66.0	71.92		72.24	70.6

b) Composición de las membranas del cascarón.— Las membranas del cascarón contienen 1.85% de cenizas, y sobre una basa libre de cenizas, 15.54% de nitrógeno. La composición de aminoácidos: 73.4% de nitrógeno no hexosaminado y 82.3% de materia orgánica recuperada como aminoácidos. La proteína de la membrana se distingue de las proteínas de la matríz y cutícula, por su alto contenido de cistina, histidina y prolina. El aná lisis comprueba que las membranas del cascarón son queratina.

Después de un lavado prolongado con agua las membranas retuvieron algunos carbohidratos. La hexosamina y la galactosa se encontraron probablemente con agua manosa, pero la baja concentración de azúcares en la alta presencia de aminoácidos hace más difícil su identificación.

c) Composición de la cutícula del cascarón.— La cutícula del cascarón contiene 3.49% de cenizas, y sobre la base de materia orgánica — 15.94% de nitrógeno. La composición en aminoácidos indica que la proteína de la cutícula difiere de la membrana y la matríz por su alto contenido de lisina, glicina y tirosina, así como el contenido medio de — cistina.

Análisia de azúcares muestra la presencia de galactosa, manosa fucosa y hexosamina, pero no se indica la presencia de ácido urónico(r).

Composición en aminoácidos de las membranas y cutícula del casca ron de Huevo (j):

	Membranas (g de N/100g	Cuticula	Membranas (g de a.a/100g	
		de N prote <u>i</u>		
Ac. aspartico Ac. glutámico	6.4	6.1 7.8	9.4	9.0 12.8
Arginina Lisina	9.6	12.7 6.4	4.6	6.2 5.2
Histidina Cistina Metionina	4.9 6.2 4.7	1.4 3.1 5.3 5.3	2.8 8.2 6.0	0.8 4.2 6.9
Valine Glicina Serina	4.5	11:1	3.7 5.4	9.3
Alamina Treonina Isoleucina	2.7 3.7 1.0	3.6 4.4 3.1	2.6 4.8 1.5	3.6 5.8 4.5
Leucina Tirosina	2.3	2.9 5.2	3.3 2.9	4.2 4.6
Fenilalanina Prolina Hidroxiprolina	2.1 5.2 1 0.0	1.6 3.3 2.0	3.9 6.6 0.0	3.0 4.3 0.0
Total	73.4	82.9	82.3	90.2

\*La metionina y la valina no se separaron cuantitativamente por lo que los valores se calcularon como valina.

# 3.- Aspectos microbiológicos sobre la Cóscara y membrana del huevo.

La cuticula, una película protenoide natural invisible constituye la primera línea de defensa contra la pentración microbiana en el. huevo. La segunda barrera física es la cáscara. Dentro de la cáscara hay dos membranas, la interna y la externa, o tercera y cuarta barreras respectivamente.

- a) Cutícula. El lavado de los huevos o el uso de abrasivos para eliminar la suciedad rompe la capa de cutícula y permite una penetración más fácil de los microorganismos. La cutícula tiende a agrietarse y deteriorarse con el tiempo; por ende, no puede servir de barrera microbiana para los huevos almacenados durante largos períodos.
- b) Cáscara de huevo. La cáscara no es una estructura homogénea. Consiste de un entramado orgánico de fibras y de una sustancia intersticial de material inorgánico. Las dos principales capas de cáscara son -

la externa o capa esponjosa y la interna o capa mamilar. La externa esmás delgada y contiene la mayoría de los minersles.

El peso y la delgadez de la cáscara no se correlacionan con la penetración de microorganismos sin embargo, estos factores pueden incidir en el deterioro de la cáscara durante el manipulado, ya que las cáscaras delgadas tienden a romperse más fácilmente que las duras. Los hue vos con cáscara dañadas son más vulnerables a la penetración de las bacterías y consiguiente deterioro del huevo.

Si la temperatura del huevo es más alta que la del contorno, - - (cuando el huevo es puesto), hay una mayor posibilidad de penetración y a medida que aumenta la diferencia de temperatura, la infección previsible aumenta. Ello se debe al enfriamiento del contanido del huevo que produce una contracción y el consiguiente aumento relativo de la presión exterior respecto a la inferior. La presión diferencial empuja a los microorganismos a través de los poros de la cáscara.

La humedad de la cáscara, como se da durante el lavado de los -huevos y cuando un huevo frío es introducido en una habitación caliente y húmeda, incrementa el potencial de infección microbiana.

Membrana de la cáscara.- La membrana externa está en contacto -con la cáscara del huevo; la membrana interna, llamada "membrana del hue vo", está en contacto con el albúmen. Las membranas se componen principalmente de fibras proteínicas (fibrina y mucina) reforzadas con un mate rial albuminoso cementante. Estas membranas se consideran eficaces filtros bacterianos, siéndolo más en este sentido la interna por presentar un entretejido fibroso más denso. Los organismos inoculados en la super ficie de la cáscara pueden ser encontrados en las membranas casi instantáneamente, mientras que los inoculados en el espacio celular y en las membranas internas no son recuperables del albúmen hasta transcurridos-varios días. Esta aparente retención de lasbacterias en el interior de la membrana puede deberse en parte a la conalbúmina del albúmen, ya que si se añade hicrro al inóculo o en el interior del albúmen del huevo se procipita la penetración de las bacterias a tráves de la membrana interna. No se ha encontrado diferencias en la permeabilidad de la membrana interna de la cáscara antes y después del paso de Pseudomonas aeruginosa o Salmonella typhimurium, lo cual indica que no es necesaria la activi--

dad enzimática para dicha penetración. Ambas especies bacterianas pueden atravesar la superficie de la cáscara y la membrana interna en dos horas. Aunque no hay poros propiamente dichos, en las membranas, hay aparentemente espacios libres en las fibras entrelazadas. Pero, si una bacteria logra penetrar estas barreras, los mecanismos antimicrobianos del albúmen intervienen antes de que pueda atacar los nutrientes de la yema (23).

- 4.- Usos del cascarón de huevo.- Dentro de las aplicaciones o usos que se han venido dando al cascarón se tienen los siguientes:
- a) Artes populares. Desda el siglo XV en Italia el cascarón de huevo se ha utilizado en la producción de mosaicos con gran variedad de diseños. El cascarón se parte en trozos de 1/8 y 1/4 de pulgada de diámetro y después se tiñen y unen conforme al arreglo deseado. También se usan sin quebrar, pero vacíos para elaborar figuras de animales.

En el siglo  $\overline{IV}$  se acostumbró en el día de Pascuas decorar y regalar huevos en muchos países.

b) Materiales artísticos. La yema combinada con el cascarón en -polvo o la cual es una mezcla sólida aplicable a la pintura o su terminado en los murales.

Los artistas también usaron el cascarón como una superficie de pintura. En siglos pasados, los jovenes ricos de Venecia pagaban cant<u>i</u> dades fabulosas por sus retratos en miniatura delicadamente pintados sobre el cascarón (32).

- c) Productos sintéticos: imitación de cuernos, conchas y marfil. La albúmina y el cascarón en polvo son usados para fabricar piezas de cuernos, conchas y marfil. La albúmina y el cascarón en polvo se mezcian con agua y se colocan en moldes, donde se presionan por varios minutos. La albúmina presionada se trata químicamente y se seca por varios días; las deformidades sobre su superficie son limadas. Se pueden aplicar diseños de carey con té en polvo o tinta japonesa antes de que la albúmina sea procesada. También se le pueden dar otros colores o matices.
- d) Terapeutico.- Como dato curioso cabe mencionar que el cascarón junto con el huevo se utiliza como ingrediente en la formulación de un tónico yoga llamado "Coctel de Calcio". En base a lo establecido por el profesor Carl Albin, el calcio, el limón, el azufre (yema de huevo) la miel (sabor) y un poco de alcohol (conservador); todo ésto mezclado y comado en ciertas dosis restablece el equilibrio normal y la actividad de las gónadas o glándulas sexuales de los 30 a los 60 días (6).

- e) Fertilizantes.- Muchos de los huevos desechados al empollarse ylos provenientes de las plantas quebradoras son secados y colocados enla tierra como fertilizantes. Los cascarones contienen suficiente pota
  sio y fósforo para utilizarse como un práctico fertilizante en pequeña
  escala. Se ha demostrado que la albúmina sirve de ayuda en la amonificación del terreno, aunque su uso en gran escala puede resultar costoso.
- f) Alimento para animales.— Debido a que el cascarón de huevo contiene aproximadamente 93% de carbonato de calcio, se considera una buena fuente de este mineral para polluelos y gallinas ponedoras, de la -misma manera la concha de las otras o la caltza. Cabe aclarar que antes de que el cascarón se pueda consumir por los pollos, éste debe ser procesado, hay que esterilizarlo, puesto que varias de las enfermedades comunes en las aves pueden ser acarreadas por los huevos; finalmente el cascarón es molido. Quince libras (3%) de este producto son suficientes por cada 500 lb, de la mezcia alimenticia que se les suministra a las gallinas para proporcionar una cantidad adecuada de calcio. La única objeción de utilizar de esta manera el cascarón es que puede resultar más caro que las conchas o la caliza (32).
- F.- Carbonato de calcio.
- 1.- Calcio en la naturaleza.

El calcio es un elemento que ocupa el sexto lugar en la corteza terrestre debido a que se encuentra en formación del compuesto carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>-P.M. 100.09) el cual es el segundo mineral en amplitud de distribución sobre la tierra. Este elemento existe en varias formas: como piedra caliza, que puede usarse directamente en construcción o como cal viva. Cuando se comprime fuertemente la pledra caliza por fuerzas naturales produce el mármol. Si la piedra es porosa, de egramo fino que se desmorona fácilmente formaría el gis o tiza. El CaCO<sub>3</sub> puro, cristalino, incoloro, transparente, incodoro, inafpido e insoluble en agua se encuentra como calcita con una densidad de 2.7 g/ml. Otra forma es la aragonita con una densidad de 2.93 g/ml.

La calcinación de sustancias portadoras de CaCO3 proporciona una de las materias principales de la industria química, la cal viva:

La cal pura, posee un alto punto de fusión (2580°C) se utiliza como ladrillo refractorio para el revestimiento de los hornos. Cuando se usa como mortero, estuco y yeso la cal se encuentra como cal apagada.

La carbonatación:

$$Ca (OH)_2 + CO_2 \longrightarrow Ca CO_3 + H_2O$$

El término carbonato de calcio precipitado se aplica a los tipos comerciales de compuestos producidos químicamente en un proceso de precipitación; éste es más fino, con partículas más uniformes y alto de pureza (98.5% mínimo).

#### Calcio en el cuerpo humano.

El calcio es el elemento más abundante en el cuerpo humano y lle ga a representar hasta el 2Z del peso total del cuerpo. Aproximadamente 99X del calcio se encuentra distribuido en las estructuras óseas y el resto en los fluídos celulares (19).

Los movimientos musculares requieren del calcio al igual que el proceso de coagulación de la sangre y la transmisión nerviosa.

La velocidad de absorción de calcio a través de las paredes del intestino delgado depende del pil, ya que es insoluble en condiciones alcalinas, lo que hace más difícil su difusión y por consiguiente su absorción (29).

La leche con una alta concentración de calcio, contiene también lactosa y vitamina D, que es necesaria para el transporte de este mineral a través de la pared intestinal. La lactosa se fermenta en la parte distal del intestino delgado, con la producción de ácido láctico y la consecuente baja de pH; ésto solubiliza el calcio y factitat su absorción. La acumulación de calcio en los huesos está controlada por la vitamina D, la hormona paratirodes y la Vitamina C. Para obtener una foptima absorción de calcio debe haber una relación 2:1 con el fósforo, ya que un desequilibrio reduce su transporte y aprovechamiento en el caso de los productos lácteos (II).

Por otro lado, siendo el azúcar el hidrato de carbono puro, sin vitaminas ni minerales, sólo sirve para proveer energía; pero al hacer lo se crea una demanda de fósforo, para que el proceso pueda cumplirse al igual que hay demanda de calcio para que las reacciones que producen la energía sean mantenidas dentro de los límites apropiados. El organismo (la sangre) en un momento dado recurre a las reservas de fos fato de calcio existente en los huesos cuando hay un consumo excesivo y único de azúcares; trayendo por consecuencia una descacificación enel individuo, ó más bien una desmineralización, pues son varios los minerales faltantes, además del calcio (21).

En algunos medicamentos y alimentos se utilizan las siguientes sa les de calcio:

- a) Sales inorgânicas insolubles: cloruro de calcio
- b) Sales inorgánicas solubles: carbonato de calcio, que en el estómago junto con el ácido clorhidrico forma cloruro de calcio soluble; y con ácidos más débiles forma bicarbonato de calcio (Ca(HCO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), también soluble.
- c) Sales organicas solubles: lactato de calcio y gluconato de cal

Al ingerir cualquier sal de calcio, se absorbe en la mismo forma. El pasaje se realiza por un proceso activo, pues el calcio es transporta do en contra de un gradiente de concentración. La acidéz y la vitamina D son los factores que rigen la absorción, siendo ésta escasa, apenas un 30% de lo ingerido (21).

La cantidad de calcio que se excreta tiende a equilibrar la cantidad que se absorbe o el exceso de consumo.

Los niños necesitan ingerir calcio en mayor proporción que los adultos. Una buens parte de este mineral calcio y fósforo sirve para la construcción de los huesos y el resto para los procesos vitales. Los adultos necesitan calcio para los mismos fines, siendo sus huesos tejidos vivos que si bien no aumentan de tamaño, requieren repararse constantemente y el resto servirá en los procesos vitales.

A partir de los 25 años, el organismo humano empieza a utilizar el calcio acumulado en huesos y dientes. La pérdida se inicia desde es te momento; sin embargo, los cambios hormonales que ocurren durante la menopausia, aceleran el proceso de tal manera que a la edad de 60 años la gran mayoría de las mujeres presentan un cuadro de osteoporosis más o menos severo. Por ello una de las tendencias de mandactura en Estados Unidos son los productos enriquecidos con calcio: pan, cereales, refrescos, jugos, etc. Aunque existen algunas publicaciones médicas donde se menciona que enriquecer los alimentos con mineral no previene la osteoporosis (29).

Los requerimientos diarios de calcio, fósforo y magnesio recomendados son (11):

	Edad (años)	Peso (kg)	Talla (cm.)	Energía (kcal)*	Calcio (mg)	MINERALES Fósforo (mg)	Magnesio (mg)
Lactantes	0.0-0.5 0.5-1.0	6	60 71	kg x 117 kg x 108	360 540	240 400	60 70
Niños	1-3 4-6 7-10	13 20 30	86 110 135	1300 1800 2400	800 800 800	800 800 800	150 200 250

	Edad (años)	Peso (kg)	Talla (cm.)	Energia (kcal)*	Calcio (mg)	Fősforo (mg)	Hagnesio (mg)
Hombres	11-14	44	158	2800	1200	1200	350
•	15-18	61	172	3000	1200	1200	400
	19-22	67	172	3000	800	800	350
	23-50	70	172	2700	800	800	350
	51+	70	172	2400	800	800	350
Mujeres	11-14	44	155	2400_	1200	1200	300
	15-18	· 54]	162	2100	1200	1200	300
	19-22	58	162	2100	800	800	300
	23-50	58	162	2000	800	800	300
	51+	58	162	1800	800	800	300
Embarazo				+300	1200	1200	450
Lactancia	1.5			+500	1200	1200	450

\*Kilojoules (kj)=4.2 X kcal.

#### 3.- Aplicaciones.

El carbonato de calcio encuentra aplicaciones principalmente en las siguientes industrias de:

Perfumería (polvos); farmacéutica (dentríficos, pulimentos, medicamentos); metalorgica; cerillera (fabricación del papel); vinícola (para eliminar la acidéz) de la construcción; cerámica; vidriera; del hule; de tintas; en síntesis orgánicas, etc.

En cuanto a la industria alimentaria la podemos dividir en dosgrupos básicomente:

a) Alimentos balanceados para animales. La cal se utiliza como suplemento mineral en la alimentación de animales domésticos; pues algunar, leyes estatales exigen como suplemento mínimo un 35% de calcio aprovechable. Otras fuentes de calcio son el hueso y el fosfato dicálcico. El consumo de caliza como suplemento alimenticio ha alcanzado 1.4x106 toneladas/año.

Dentro de los principales productos animales utilizados en la <u>a</u> limentación de los ganados se incluyen: harina de carne, de intestino, de hucsos, de pescado y algunos subproductos lácteos; también se pueden com plementar estos alimentos con los minerales que poseen las ostras o la cáscara de huevo.

El calcio en forma de carbonato es un compuesto que puede ser aprovechado por el organismo animal siguiendo las vías metabólicas correctas.

La cantidad de calcio que debe consumir un animal depende princi palmente de la edad y la especie, aunque cabe mencionar que debe exis-tir una relación de equilibrio entre calcio y fósforo.

b) Alimentos humanos. Los alimentos como ya se sabe, sobre todo los industrializados no están desarrollados en un 100%. Por consiguien te, en ocasiones se necesita fortificarlos con minerales, vitaminas o proteínas, según sea el caso.

Además de fortificar los alimentos, el calcio brinda otras carac terísticas a ciertos productos como: peso, amortiguador de pli, favorece la textura, etc.

Es aplicable a chocolates, dulces, recubrimientos de chicles, a-toles, bebidas en polvo, chiclosos, pan, galletas, en jaleas dietéticas, gelatinas (ayuda a formar el gel). Por ajemplo en el caso de la carragenina, cuando se dispersa en agua requiere un calentamiento ligero para que se disuelva; la solución resultante tiene una baja viscosidad a temperaturas mayores de 60°C, pero al enfriarse forma geles, cuya calidad y rigidéz depende de la concentración del coloide y de la cantidad de iones calcio que contengan. En el caso de las pectinas los geles requieren de elevada concentración de azúcar, utilizan una pactina con un alto contenido de metoxilos, aproximadamente 60 a 80% de esterificación del total de grupos carboxilo. Los geles que necesitan una baja concentración de azúcar, requieren pectinas bajas en metoxilo 20-40% y de la adición de calcio, siendo generalmente empleados en la elaboración de mermeladas y otros elementos de tipo dietéticos (13).

Como se ha venido mencionando la fortificación de los alimentos (0.5 al 10%), se efectúa con sales de fosfato de calcio dibásico y tr<u>i</u>básico, al igual que con carbonato.

El grado de pureza del carbonato de calcio aplicable dependera - del producto en mención así como de las características finales desea-das.

## 4.- Especificaciones.

A continuación se muestran las especificaciones de compuestos o productos que contienen el calcio, ya sea como complemento en alimentos

balanceados para animales; en alimentos humanos o para la industria farmacéutica donde se utiliza en mayor cantidad el carbonato de calcio precipitado (17).

# a) Calcio en alimentos para animales:

El carbonato de calcio dependiendo de su pureza se clasificó en 3 tipos o calidades:

Densidad g/ml.	. (minimo)	1.43	.43 1.43
ing the state of the second	42-% retenido 9	5.00 95	.00 95.00
Granulometrfa	12-% retenido	2.00	.00 2.00
% Mg (māximo)		0.30	.30
% Ca (minimo)	) i - o i i kilije, <b>3</b>	8.50 37	.00 35.00
		A SECTION	В

Especificaciones microbiológicas del CaCO3:

 Cuenta Mesofflicos aerobios
 - 50,000 col/g
 máximo

 Coliformes
 - 200 col/g
 máximo

 Hongos y levaduras
 - 10 col/g
 máximo

 E. Coli
 - negativo

 Salmonella
 - negativo

En base a la norma oficial mexicana "Complemento de calcio, fósforo y cloruro de sodio, para ganado bobino, ovino, caprino, caballar y porcino" se tienen las siguientes específicaciones:

		2	mInimo	est e de la la			. māximo
Calcio .	1.54	100	12				15
Fősforo -		That you	7		40.3		11
Cloruro d	e sodio		12			$(A_{ij}^{\mu})_{ij}$	20
Humedad :	1 14214		No see				8

La presentación puede ser en harina o bloques.

La "Roca fosforica" destinada a la alimentación animal como fuente de fósforo y calcio, es el producto de la molienda y beneficio del mineral conocido como aparita; debe cumplir las siguientes especificaciones:

and the second field of the second	化邻苯胺 医皮肤	3 4	and the state of	The same of the same of		化橡胶 医精神病病
	e transition of the contract o	3 1 1 1 Z	:minim	Daniel Sala	115.54	% māximo
Calcio tota	1	Taribi Maria 1925 Aliferen (1918 <del>-1</del> 94)	18.0		and the	30.000
Fosforo tota	11		7.5			
Aluminio so	luble		1 - 10 to 1	W. S. F.		3.000
Magnesio						0.100
Flüor		100				0.500
Arsenico						0.005
Humedad	Maria Najara.		13 to 4.	<ul> <li>************************************</li></ul>	- 19 T. (40)	7.000

<sup>1</sup>Datos proporcionados por "Purina, S.A.".

b) Carbonato de calcio grado alimenticio. El carbonato de calcio como aditivo para los alimentos de consumo humano que cumple con los requisitos del Código Sanitario<sup>I</sup>, tiene las siguientes especificacio -nes:

Carbonato	do esteto			ne	2 .70	1
	dad en Scido	a dia dia	والمراجي والما		.25	
Fierro	dan eli acton			ŏ		47 T.
Arsenico					.00	, i
Cuarzo				0	.00	1 ( )
Plomo					.00	
Bario				0	.00	5 16
Sulfuros		1.25			.00	3 2
Alcalinida	d libre			0	.00	A
Humedad	1 1	. 4.3.35		0	.70	
Granulomet	ria, malla 20	0			50 rece	nido
Gravedad e	specifica apa	rente			.212 g/m	

# Análisis microbiológicol:

Cuenta mesofilicos a	erobios - 5,000 col/g
Coliformes	- 0 co1/g.
Hongos y levaduras	- 0 col/g.
Salmonella - Shigell	
Staphylococcus	- 0 col/g.

c) Carbonato de calcio precipitado. - Para los efectos de la "Norma Oficial de Calidad" para "Carbonato de Calcio Precipitado", comprende dos tipos:

Tipo A.- Con un solo grado de calidad denominado: Grado Ai.- Carbonato de calcio precipitado ligero.

Tipo B.- Con dos grados de calidad:
Grado Bl.- Carbonato de calcio precipitado pesado.
Grado B2.- Carbonato de calcio precipitado especial para dentífricos.

Las especificaciones que deben cumplir son las siguientes:

	TIPO A
	Grado Al Grado Bl Grado B2
Calcio en CaCO3 (% min.)	98.500 98.500 98.500
Humedad (% műximo)	0.500 0.500 0.500
Gravedad específica, apa	그들이 아이에 하는 말로 중요한 경우하다면 나와 말을 하는데 다.
rente.	0.35-0.40 0.55-0.60 0.70-0.75

IDatos proporcionados por "Grupo Jo'Ben"

	TIPO A	TIPO B		
•	Grado Al	Crado Bl	Grado B2	
Insoluble en ácido (Z máx.)	0.200	0.200	0.050	
Fierro en FeO (% max.)	0.600	0.600	0.600	
Plomo (% máx.)	0.003	0.003		
Alcalinidad (% māx.)	0.100	0.100	0.100	
Bario (cualitativo)	Negativo	Negativo	Negativo	
Sulfuros (cualitativo)	Negativo	Negativo	Negativo	
Finura (malla 200, % min.)		99.000	99.000	
Cuarzo y particulas areno				
sas	Negativo ·	Negativo	Negativo	

G.- Aspecto nutricional y equipo para deshidratar el cascarón de hue

El cascarón de huevo proveniente de las plantas quebradoras gene ralmente es desechado, pero en ocasiones es describuido sobre la tierra. Esta distribución crea problemas de contaminación y no permite su óptimo aprovechamiento.

En cuanto al valor nutricional se tiene la siguiente información:

- -En 1940 se alimentó con cascarón de huevo a gallinas ponedoras en lugar de conchas de ostras o piedra caliza, obteniéndose resultados satisfactorios.
- -En 1973 se reportó que el cascarón de huevo es una buena fuente de calcio para gallinas ponedoras.
- -La composición de aminoácidos del cascarón contribuye en el aspecto nutricional (t).

El cascarón que se obtiene de estas plantas quebradoras puede contener de un 29% a 35% de humedad, lo cual nos indica que provee un medio para un optimo crecimiento microbiano. Por consiguiente, para producir un alimento de calidad es necesario deshidatar este desecho con el fin de prevenir el crecimiento bacteriano, reducir los problemas de insectos y facilitar su manejo (u).

Para la obtención de este producto deshidratado se realizaron los experimentos en dos tipos de secadores:

- 1.- Secador rotatorio de tres pasos (Heil Company)
- 2.- Secador tipo un tubo relampago (National Egg Products Corp).

Con el equipo No. (1) se llego a un producto que contenía 7.5% de proteína y 33.5% de calcio. La segunda harina de cascarón contuvo 5.44% y 34.8% respectivamente. La humedad final en ambos casos, fue de 2%.

Experimento A.- El cascarón obtenido a partir del secador rotato rio fue incorporado en dietas de gallinas ponedoras, con dos níveles de proteína, comparándolo a su vez, con la piedra caliza molida.

# Experimento A - Composición de la dieta (u)

		15.2 %	Proteina 📜	12.8 %	Proteina
Dieta					Cascarón e <u>n</u>
			polvo (1)		polvo (1)
Maſz		69.82	69.95	72.34	72.48
Trigo	1744.7543.5624.34	7.54	6.59	8.21	7.15
Harina de alfalta	(17% prot)	1.00	1.00	1.00	1.00
Harina de soya (49	)% prot)	7.50	7.50	7.50	7.50
Harina de carne de	hueso (50 <u>%</u>	Me434 Militar		16 THE ST TO 20	
prot).		7.00	6.44	2.04	1.43
DL - metionina	a City ya Mila da Sakiya e Mila da Kali Barangan da Kalifa da Kalifa da Kalifa da Kalifa	0:10	0.07	0.04	0.03
Fosfato dicalcico		0.52	0.67	1.79	1.93
Caliza		5.87		6.43	·
Cascarón en polvo		<del></del>	7.13	9 <del></del> -	7.83
Sal		0.40	0.40	0.40	0.40
Vitaminas		0.20	0.20	0.20	0.20
Minerales :		0.05	0.05	0.05	0.05
I MAINEL MACE	Provinces realization		iar al ser al a de la compa		50 (C)

## Los resultados de este experimento son:

	The Triangle Surgery and the services of	William Committee and the Committee of t
1	5.2 % ProteIna .	12.8 % Proteina
the second of th	Server British to the Works	outro infection and the selection of the contract of the contr
Dieta Cal	• v v •	n Caliza Cascarón en
DIELA	128 CARCATOR (	in Caliza Cascaron en
	**************************************	polvo (1)
	borso (1)	Section of both of the section of th
	and the property of the property of	김 하시네는 이번째 전에 가게 되었다면서 되는 것이 되었다.
Peso cuerpo (g ) 1748	.000 1809.000	1728.000 1772.000
7 Produceión 53	.000 55.700	52,200 53,400
g de alimento/g de huevo 2.	.660 2.550	2.730 2.780
Dage de busine (n)	000 66 600	
Peso de huevo (g) 64	.800 66.500	64.900 65.000
Gravedad específica I	.080 1.080	1.080 1.080
Tension a la ruptura (kg) 2.	.890 2.900	2.950 3.000

Como se puede observar con un nivel de 15.2% de proteína en la dieta con cascarón en polvo (1); el peso del cuerpo y del huevo es mayor que con la caliza. Con un 12.8% de proteína no hay diferencia notable en los pesos de éstos. En cuanto a otras determinaciones no se encontraron cambios significativos.

Lo anterior indica que los aminoácidos y el calcio en el casca rón en polvo (1) son aprovechables biológicamente como los ingredientes a los que reemplazaron.

Experimento 8.- Se evaluó la calidad de los huevos obtenidos de - las gallinas ponedoras alimentadas con el cascarón en polvo (1) y (2) -- comparándose con caliza y conteniendo un 15.2% de proteína en la dieta, considerando una dieta completa y una restringida (10% menos del alimento completo).

## Experimento B. - Composición de las dieta: (v)

	Alimentación Completa	11 G.
Dieta	liza Cascarón(1) Cascarón(2) Caliza Cascarón(1) Cascaró	Sn (2)
Maíz	71.75	
Trigo	7.54 6.59 6.59 1.73	
Harina slfalfa		
(17% prot)	1.00	າດ 🗀
Harina soya		• • • • • • • • • • • • • • • • • • •
(49% prot)	7.50 7.50 7.50 7.74 7.7	74
Harina carne y-		1.00
hueso (50% prot)	7.00 6.44 7.00 7.00 7.00	00 - : .
DL-metionina	0.10 0.07 0.07 0.10 0.10	
Fosfato dicălci-		
co.	0.52 0.67 0.67 1.51 1.52 1.5	52
Caliza	5.87	
Cascarón en pol		1,72
vo (1).	—— 7.13 —— 8.34	
Cascaron en pol		
vo (2).	7.13	34
Sal	0.40 0.40 0.40 0.40 0.40	
Vitaminas	0.20 0.20 0.20 0.24 0.24	. –
Minerales	0.05 0.05 0.05 0.06 0.06	- 100

#### Los resultados a los que se llegaron son:

	Ali	mentación c	ompleta	A PAGE	imitada ( 10	<b>x</b> )
Dietas	Caliza	Cascarón(1)	Cascarón(2)	Caliza	Cascaron(1)	Cascaron(2)
Alimento/galli-			ાં જાર લાગા છે. કું જેવા છે.	ottoria Konsadili	uski mendi	Say Hoyler Lot
na/dľa (g)	104.1000	105.4000	105.5000	93.5000	94.4000	94.7000
Peso cuerpo(g)	1700.0000	1716.0000	1737.0000	1563.0000	1578.0000	1554.0000
% Producción	76.6000	78.5000	75.4000	67.9000	£70.8000	69.9000
g. alimento/g.			· (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1)	NY -120141389	的复数人名西哥克雷尔	
huevo.	2.3400	2.3500	2.3900	2.6700	2.5800	2.5900
Peso huevo (g)	59.1000	58.9000	59.9000	58.1000	58.1000	58.0000
Esposor cáscara					等對於自然	
(mm.)	0.3260	0.3300	0.3290	0.3230	0.3280	0.3340
Gravedad espec <u>í</u>		ar a santi	1983 SAN 8047	Sales at their	Material and Artists	
fica.	1.0849	1.0850	1.0847	1.0854	1.0855	1.0873
Tensión ruptura(k	3.0000	2.9800	3.0000	3.0200	3.0000	3.1100
Membrana exterior (mm.)	0.0710	0.0750	0.0740	0.0740	0.0760	0.0750
Membrana interio <u>r</u> (mm.)	0.0170	0.0180	0.0170	0.0180	0.0180	0.0190

El cascarón de huevo reemplaza todo el celcio normalmente suminis trado por la caliza. La absorción del alimento diario en dietas completas conteniendo cascarón l y 2 es similar que el control con la caliza. El peso del cuerpo y del huevo fue más alto con el cascarón (2), que el caso de (1) y el de la caliza. Aunque la velocidad de producción es ma yor en (1).

En los demás parámetros no hay diferencias significativas en cuanto a los resultados.

Con respecto a la dieta restringida se observa un peso mucho menor en el cuerpo; una producción mayor con cascarón (1) y una gravedad específica superior con el cascarón (2). Las características que se presentan con la ración limitada, son en general semejantes. (u)

En resumen los aspectos que muestran estos y otros experimentos - son:

- Cuando el cascarón se deshidrata en un secador rotatorio de tres pasos se obtiene mayor producción de las gallinas ponedoras.
- En un secador tubular aumenta el peso del huevo en la alimentación com pleta de las gallinas y la gravedad específica con la alimentación limitada.
- El aprovechamiento de los aminoácidos de la harina de cascarón de huevo es comparable a los de la combinación de trigo, harina de carne y hueso o harina de soya.
- El calcio del cascarón es rápidamente utilizado y su digestibilidad es semelante a la caliza.
- En cuanto a la fuente de calcio (caliza, desbulla, cascarón de huevo), para las gallinas ponedoras se tiene que un nivel de 5.7% proporciona un espasor mayor en la cáscara del producto que uno de 3.7%; pero la fuente en realidad no muestra diferencias significativas; aunque cabe mencionar que el cascarón de huevo se considera una fuente de calcio económica para las gallinas ponedoras.

M A T E R I A L Y M E T O D O S P A R A
E L A N A L I S I S M I C R O B I O L O G I C O

- III .- MATERIAL Y METODOS PARA EL ANALISIS MICROBIOLOGICO.
- A.- Material.
- 1.- Equipo.
- a) Autoclave con termómetro o manômetro.
- b) Asa de platino o nicromial de 3 mm. de diámetro y asa recta.
- c) Balanza granataria de capacidad no mayor de 2500 g. y de sensibilidad de 0.1 g.
- d) Baño María con termostato y termometro.
- e) Contador de colonias Quebec o equivalente.
- f) Gradillas adecuadas al tamaño de los tubos.
- g) Horno para esterilizar a 180°C.
- h) Incubadora con termostato entre 32 y 35°C, que evite variaciones mayores de ± 0.5°C.
- Incubadora con termostato de 22°C, que evite variaciones mayores de + 0.5°C.
- j) Licuadora de una o dos velocidades, controlada por un reostato.
- k) Microscopio optico.
- 1) Potenciómetro.
- m) Termometro hasta 200°C.
- n) Utensilios estériles (180°C/2 hrs.) para la preparación de mues tras: abatelenguas, cucharas, cuchillos, espátulas, pinzas, tije ras.
- 2.- Material de Vidrio.
- a) Cajas de Petri estériles de 100x15 mm.
- b) Frascos de vidrio con tapón de rosca de 200 a 250 ml.
- c) Frascos de vidrio estériles (180°C/2 hrs.) de la boca ancha de 200 y 250 ml. de capacidad, ± 1% del volumen señalado después de la esterilización, y cerrados herméticamente.
- d) Pipetas bacteriológicas estériles de 10 y 1 ml. (graduadas en --0.1 y 0.01 ml. respectivamente) con tapón de algodón.
- e) Porta objetos de vidrio, lavados y desengrasados.
- f) Tubos de ensayo de 13 x 100 mm.
- g) Tubos de ensayo de 13 x 150 mm.
- h) Vasos de vidrio estériles para licuadora.
- Medios de cultivo<sup>i</sup>.
- a) Agar citrato de Simmons.
- b) Agar levine con cosina y azúl de metileno.

l Para el conocimiento de la formulación y preparación de cada medio de -cultivo, consultar la referencia correspondiente (20).

- c) Agar papa dextrosa.
- d) Agar rojo violeta y bilis.
- c) Agar SS (Salmonella y Shigella).
- f) Agur sulfito de bismuto.
- g) Agar TSI (triple azúcar fierro).
- h) Agar triptona extracto de levadura.
- 1) Agar verde brillante.
- Agar XLD (xilosa lisina desoxicolato).
- k) Caldo malonato.
- 1) Caldo manitol.
- m) Caldo RM VP (rojo de metilo Voges Proskauer).
- n) Caldo selenito cistina.
- o) Caldo tetrationato.
- p) Caldo urea.
- q) Medio SIM.
- a) Agar citrato de Simmons.- Se usa para diferenciar las bacterias entéricas Gram negativas, basándose en la utilización del citrato.
- b) Agar levine con eosina y azul de metileno.- Es un medio selecti vo para la investigación y diferenciación de bacilos entéricos y micro organismos coliformes.
- c) Agar papa dextrosa.— Es un medio muy empleado en cutltivos e -identificación de hongos y levaduras.
- d) Agar rojo violeta y bilis.— Es un medio selectivo para la detección de coliformes. Los gérmenes Gram positivos son marcadamente inhibidos por las sales biliares y el cristal violeta que contiene. Las acolonias de las bacterias fermentadoras de la lactosa son de color rosa. En ocasiones los cocos del contenido intestinal pueden desarro— llarse en el medio; colonias pequeñas, puntiformes de color rosado.
- e) Agar <u>Salmonella-Shigella</u>. Es un medio selectivo empleado para aislar <u>Salmonella y Shigella</u>. La inhibición de bacterias Gram positivas se obtiene por una mezcla de sales biliares.
- f) Agar sulfito de bismuto.- Es un medio altamente selectivo para aislar Salmonella typhi, así como otros bacilos entéricos.
- g) Agar triple azúcar fierro. Es un medio diferente muy usado en la identificación de enterobacterias patógenas y saprófitas.
- h) Agar triptona extracto de levadura.- Es un medio rico en nutrien tes, es ampliamente usado para el recuento microbiano. Es el agar para métodos estándar.
- i) Agar verde brillante. Es un medio altamente selectivo empleado para aislar <u>Salmonella</u> (excepto <u>S.typhi</u> y <u>Shigellas</u>).
- j) Agar xilosa lisina desoxicolato.- Principalmente para el aislamiento de bacterias enteropatógenas, especialmente de los genes Shige-lla, Salmonella, Arizona.
- k) Caldo malonaco.- Es un medio que ayuda a la identificación de enterobacterias.

- Caldo manitol. Es un medio que sirve para la identificación de enterobacterias en las pruebas bioquímicas.
- m) Caldo RM VP (rojo de metilo Voges Proskauer).- Es un medio 11 quido empleado para efectuar las reacciones indicadas, de rojo de metilo y scetil-metil carbinol (Voges-Proskauer) del grupo Escherichia/Entero-bacter.
- n) Caldo selenito cistina.- Es un medio selectivo para el aislamiento de Salmonella, Shigella o Arizona.
- o) Caldo Tetrationato.- Sirve también como medio selectivo en la identificación de enterobacterias.
- p) Caldo urea.- Se emplea para la identificación de bacterias, particu-larmente para diferenciar los miembros del género <u>Proteus</u>, de la <u>Salmone-</u> <u>lla y Shigella</u>.
- q) Medio SIM.- Es un medio semisólido usado rutinariamente en la diferenciación e identificación de cultivos puros de Enterobacterias y que detecta la producción de sulfuros, indol y movilidad de las mismas.
- 4.- Reactivos y poluciones1.
- a) Aceite de inmersión.
- b) Agua peptonada.
- c) Fenol al 10%.
- d) Lugol.
- e) Reactivo de Kovac.
- f) Solución de ácido tartárico al 10%.
- g) Solución decolorante (Etanol 95% Acetona 1:1)
- h) Solución de cristal violeta.
- i) Solución de rojo de metilo.
- j) Solución de safranina.
- k) Solución de sulfato de cobre.
- 1) Solución de verde brillante al 0.1%.
- m) Salución de yodo-yoduro.
- n) Solución reguladora diluyente.
- o) Solución salina al 0.85%.
- a) Aceite de inmersión.— Es una preparación especial de aceite de cedro. Desvía los rayos de luz que pasan a través de él con la misma—intensidad que el vidrio. Así con el objetivo inmersión, la luz que se hace pasar a través del porta objetos corre en línea recta hacia las—lentes delgadas del objetivo, sin la desviación que produciera el del aire. El aceite aumenta la apertura numérica de la lente, lo cual permite utilizar combinaciones de las lentes en estos objetivos que dan un aumento inicial aproximado a 100 veces.
- b) Agua peptonada.- Es un medio de pre-enriquecimiento para la identificación de enterobacterias.

Ipara el conocimiento de la formulación de cada reactivo o solución, -consultar la referencia correspondiente (12, 22).

- c) Fenol al 10%.- Se emplea por acción bactericida.
- d) Lugol. Es la solución mordiente en la tinción de Gram.
- e) Reactivo de Kovac. Se emplea para la identificación del indol,
- ya que algunos microorganismo lo producen a partir de triptófano.
- f) Solución de ácido tartárico al 10%.- Se añade al medio de papa dextrosa agar para obtener un pH aproximado de 3.5 y efectuar el recuento de hongos y levaduras después del tiempo de incubación adecuado.
- g) Solución de decolorante.- Se emplea para extraer al complejo cristal violeta-yodo en el caso de las bacterias Gram negativas, no siendo así en las Gram positivas.
- h) Solución de cristal violeta.- Las bacterias Gram positivas retienen este colorante debido principalmente, a la formación del complejo cristal violeta-yodo y que a causa de la composición de sus paredes celulates, se deshidratan en presencia del alcohol-acetona, por consiguiente el tamaño de los poros disminuye, se reduce la permeabilidad y el complejo no se extrae.
- i) Solución de rojo de metilo.- Sirve para distinguir aquellos micro organismos que producen y mantienen una concentración alta en ácidos de aquellos que producen inicialmente una menor cantidad y que además son capaces de atacar a estos mismos ácidos, volviendo el medio neutro o alcalino, como Enterobacter. Esta prueba de rojo de metilo se hace en el mismo medio de incubación de Voges Proskayer.
- j) Solución de safranina. Es el colorante que retienen las bacterias Gram negativas pues el complejo de cristal violeta-yodo formado, se extrajo con el alcohol-acetona, debido a que sus paredes celulares tienen un contenido graso muy elevado y con el alcohol se extraen las grasa aumentando así la porosidad o permiabilidad de estas paredes.
- k) Solución de sulfato de cobre.~ Se emplea para la prueba de Voges Proskauer, ya que muchos organismos forman acetofna (acetíl-metil-carbinol) 2, 3-butanodiol o diacetilo a partir de glucosa. La demostración se efectúa con ayuda del reactivo que utilizó Leifson (sulfato de cobre). Además en medio muy alcalino la acetofna y el 2, 3-butanodiol se oxidan a diacetilo produciendo con los iones cobre y otros compuestos una colo ración rojo positiva.
- Solución de verde brillante al 0.17.~ Se añade al caldo tetrationato para que sea un medio de enriquecimiento más selectivo.
- m) Solución de yodo-yoduro. Se añade también al caldo tetrationato para hacerlo más específico en cuanto a que sea un medio de enriquecimiento para Enterobacterías. Una vez adicionada esta solución al medio no debe calentarse y debe usarse el mismo días pues de lo contrario habrían oxidaciones que alterarían la viabilidad de las bacterias.
- n) Solución reguladora diluyente.- También se le llama solución de fosfato y se emplea para la dilución de todas las muestras, que posterriormente se sembrarfan en medios selectivos y se hará el recuento de los microorganismos según se requiera el caso.
- o) Solución salina al 0.85%.- Sirve para hidratar los antisueros.

- 5.- Antisueros.
- a) Antisuero polivalente de Escherichia coli grupo B.
- b) Antisucro polivalente de Salmonella de los grupos A hasta I más Vi.
- c) Antisuero polivalente de Salmonella flagelar (ii).
- d) Antisuero polivalente de Salmonella somático (O).

Se aplican critorios serológicos para determinar la presencia de <u>Salmonella</u> y <u>E.coli</u>. Las reacciones scrológicas del cultivo prueba son necesarias para completar la información obtenida de las pruebas bioquímicas.

#### B.- Métodos.

## 1.- Muestreo y transporte (27).

Se tomaron todas las muestras necesarias desde antes de iniciar el proceso y en cada paso subsiguiente, para verificar cómo está actuan do la determinada operación que se le aplica al cascarón de huevo, de -manera que se obcenga un producto libre de gérmenes patógenos y apto para el consumo de los animales y del ser humano.

La técnica de recolección de una muestra para análisis microbiológico establece una serie de precauciones y condiciones que deben ser observadas a fin de obtener resultados significativos:

- a) Se utilizaron recipientes limpios y estériles (en autoclave a -- 121°C durante 20 min. o en estufa a 180°C durante 30 min.).
- b) El recipiente se abre justamente lo necesario para introducir la muestra y se cubre rápido con su tapa y el papel aluminio.
- Es recomendable identificar claramente la muestra mediante r\u00f3tulo o etiqueta.
- d) Para colectar una porción se retirará de diferentes localidades por medio de la técnica del cuarteo, en la cual se rechazan los dos cuartos opuestos y se mezclan los otros dos repitiendo el proceso hasta que se obtiene la cantidad de muestra apropiada (Fig. 5).
- e) Se recomienda no mezclar en el mismo recipiente porciones que -- muestren alguna alteración, aún pequeña, con porciones regulares.
- f) En el caso de que las muestras se necesiten transportar al laboratorio para ser analizadas, se mantienen en hielo o en congelación y se tratará de acortar al máximo el tiempo entre la recolección y el análists.

#### 2.- Tamaño de la muestra.

El tamaño muestral se establecerá sobre la base de un análisis estadístico al tomar en cuenta la "Tabla de límites de precisión y confidencia especificados para cantidades muestrales" (35).

Para seleccionar muestras representativas se tomará como universo potencial la cantidad de cascarón que se desecha diariamente al utilizar las dos máquinas quebradoras.

Se quiebran aproximadamente 1040 cajas con 360 huevos cada una, por lo tanto son 374,400 huevos. Pero como cada caja pesa aproximadamente 22kg. entonces con 22,880kg. de huevo que pasaran a las máquinas quebradoras; y para obtener la cantidad de cascarón (que contiene clara adherida), que se desperdícia, basta con considerar el porciento a éste, el cual es: 12.609¹. Por consiguiente, la merma máxima de ese producto es de 2,884.939.2 g. durante todo un día y con las dos máquinas quebradoras en un turno será de 1,442,469.6 g.

A fin de tener una precisión de ± 5% y con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N}{1 + N e^2}$$

Donde:

n= Tamaño de la muestra.

N= Universo potencial.

e= error.

N= 1,442,469.6 a= 0.05

$$n = \frac{1,442,469.6}{1 + (1,442,469.6) (0.05)^2}$$

Por lo tanto, el peso de cada muestra de cascarón de huevo corres ponderá a 400g.

3.- Preparación y dilución de la muestra para el conteo de microorga nismos. (22).

Para realizar los análisis microbiológicos se tomaran los 400g. de cascarón que es el tamaño muestral y se molerán en un mortero estéril, hasta formar partículas homogéneas. De aquí se toman 10 g. y se llevan a un frasco que contiene 90 ml. de colución reguladora diluyente estéril. Se continuan las diluciones con el mismo diluyente hasta donde sea conveniente (Fig. 6).

La selección de las diluciones que se vayan a preparar y de aqué llas que se vayan a inocular dependen del número esperado de microorga nismos en la muestra con base a los resultados de análisis previos.

En el análisis inicial, o sea antes de que el cascarón sufriera algún tipo de proceso, se carecía de información sobre la cantidad de-

lvalor obtenido experimentalmente.

microorganismos presentes, por consiguiente se trabajaría con las seis di luciones e inoculaciones. Al irse sometiendo a las diferentes operaciones durante el proceso disminuyen las diluciones.

#### Recomendaciones:

- Utilizar pipetas diferentes para cada dilución inoculando simultáneamen te las cajas que se hayan seleccionado. El volumen que se transfiera nunca debe ser menor de 10% de la calidad total de la pipeta.
- Mientras se afora el líquido en la pipeta, la punta de esta debe aplicarse en el interior del cuello del frasco y mantenerse en posición ver tical, para lo cual este último debe inclinarse lo necesario.
- Para aspirar el líquido de la muestras con la pipeta, sumergir ésta lo menos posible al realizar la operación.
- Cada frasco con diluyente que se inocule debe agitarse siempre de la misma manera 25 movimientos de abajo a arriba en un arco de 30 cm. com pletados en 7 segundos, o cualquier otro que conduzca al mismo resultado.

Finalmente se transfiere la muestra y/o cada una de las diluciones a las cajas Petri, para el recuento en placa vaciándose al medio deseado aproximadamente 20 ml. y se mezcian con movimientos rotatorios (6 de dere cha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en sentido contrario y 6 de atras hacia adelante), en una superficie horizontal dejándose solidificar e incubándose en posición invertida a la temperatura y tiempo que el medio lo requiera.

La preparación y dilución de muestra que se acaba de mencionar es aplicable para:

- a) Cuenta de bacterias mesofilicas aerobias.
- b) Cuenta de organismos coliformes.
- c) Cuenta de hongos y levaduras.

#### 4.- Análicis.

Como ya se mencionó anteriormente se realizarán análisis durante los pasos que sufra el cascarón de huevo en el proceso, incluyéndose un análisis inicial, otro del producto final y en el almacenamiento.

Los análisis que se harán a todas las muestras, serán por duplicado y son los siguientes (12,22).

- a) Cuenta de bacterias mesofflicas aerobias.
- b) Cuenta de organismos coliformes.
- c) Cuenta de hongos y levaduras.
- d) investigación de Enterobacterias: Salmonella, E.coli, Shigella y Arizona.

- a) Cuenta de bacterias mesofflicas aerobias. Las bacterias mesofflicas aerobias son microorganismos que crecen en presencia de oxígeno y
  entre 25° y 40°C. Cuando se pretende investigar el contenido de microorganismos vivos en un alimento (en este caso el cascarón de huevo), la
  técnica más comunmente utilizada es el recuento en placa. Se aplica a
  gran variedad de microorganismos y su fundamento consiste en contar las
  colonias que se desarrollan en el medio de elección despuér de cierto tiempo y temperatura de incubación, presuponiendo que cada colonia proviene de un microorganismo en la muestra.
- a.1) Procedimiento. Los pasos a seguir son:
- Limpiar el área de trabajo con fenol al 10%.
- Trabajar con mechero encendido y cerca de él.
- Marcar las cajas incluyendo número de muestra, tipo, fecha y número de dilución en la tapa.
- Se practica el número de diluciones, según sea el tratamiento al que se ha sometido nuestra muestra.
- Sembrar cada dilución escogida por duplicado, o sea se transfiere lml. de la muestra de cada dilución en cajas de Petri estériles, evitando todo tipo de contaminación durante la maniobra.
- Agregar aproximadamente 18 ml. de medio ATE fundido a una temperatura de 45°C.
- Mezclar con movimientos rotatorios sobre una superficie lisa y horizon tal.
- Dejar solidificar aproximadamente 20 min.
- Incubar las cajas en posición invertida en un horno a 35°C durante 48 hrs.
- Por cada botella (aprox. 250 ml.) de medio ATE preparado se incuba untestigo o sea, se vacían los 18 ml. de medio en una caja de Petrí pero sin inficulo y se incuba de igual forma, para ver si el medio no está contaminado.

### a.2) Cuenta:

- Después del tiempo de incubación seleccionar las cajas donde aparezcan entre 30 y 300 colonías, pues es en ellas donde será menor el error en el recuento. Si el número se estima mayor de 300 y no se dispone de cajas preparadas con las diluciones subsecuentes, contar en la mitad o en un cuarto representativo de ésta y multiplicar el número de colonías por 2 ó 4, aclarando en los resultados que hubo más de 300 colonias en la dilución que se trate.
- Se cuentan todas las colonias desarrolladas excepto las de hongos, pero se incluyen las puntiformes. El conteo se hace con ayuda del contador Quebec o similar.
- Si la placa correspondiente a la primera dilución es la única que presenta colonias y éstas son menos de 10, informar el número de colonias seguidas de la frase: "en la dilución 1:10".

- Si todas las placas: 1) no muestran colonias, 2) muestran excesiva difusión de las mismas, 3) están contaminadas o no son satisfactorias por cualquier motivo; anotar respectivamente: 1) sin colonias, 2) colonias difusas, 3) inconcluyente por accidente de laboratorio.
- Para obtener el número de microorganismos por gramo de cascarón de -huevo, se multiplica el número de colonias por el inverso de la dilución que se empleó.
- Redondear la cifra obtenida en el recuento de manera que sólo aparezcan dos dígitos significativos al inicio de esa cifra.
- Informar: "cuenta de bacterias mesofflicas aerobias en placas de agar triptona extracto de levadura incubadas 48 hrs. a 35°C".
- b) Cuenta de organismos coliformes. En este grupo de microorganismos se incluyen bacilos cortos, Gram negativos, aerobios no esporula—dos que fermentan la lactosa con producción de gas y acidêz dentro de 48 hrs. cuando se incuban entre 32 y 35°C; dentro de esta definición se incluye el grupo coliforme fecal, cuya diferencia radica en que al fermentar la lactosa con producción de gas y ácido, puede hacerlo al ser incubado a 44.5°C durante 48 hrs. Una variedad de bacterias, muy abundantes y siempre presentes en la materia fecal del hombre y animales su periores satisfacen estas definiciones; también pertenecen a los coliformes ciertas bacterias propias del suelo y de los vegetales.

La demostración y el recuento de organismos coliformes puede realizarse mediante el empleo de medios sólidos como el agar-bilis-rojo-violeta ya que su facilidad de operación y economía nos da resultados positivos en nuestra muestra donde se espera un número mas bien alto.

En la identificación de microorganismos calificados de coliformes en las placas de agar-bilis-rojo-violeta durante el análisis de la muestra, hay que tomar en cuenta diversos hechos que conducen a falsos positivos por ejemplo:

- Si el alimento es un producto que contiene mono o disacáridos en concentración importante, éstos pueden ser fermentados por algunos micro organismos presentes, distintos a los coliformes, y generar para ello colonias semejantes aparentemente fermentadoras de la lactosa, no sien do nuestro caso.
- El sobrecalentamiento del medio y defectos en las condiciones de incubación (especialmente incubaciones prolongadas) pueden facilitar el desarrollo de colonias rojas por especie de cocos Gram positivos.
- b.1) Procedimiento. Se siguen los mismos pasos que para la cuenta meso fílicos aerobios, sólo que habrá pequeñas variaciones:
- También se practican el número de diluciones, pero en general se utiliza un valor más bajo de la dilución que su correspondiente en mesofílicas aerobios.
- Agregar de 12 a 15 ml. de medio agar-rojo-violeta-bilis fundido y man tenido entre 44° y 46°C. Mezclar correctamente.

- Si fuera necesario inocular las cajas con un volumen mayor de 1 ml. (pueden usarse hasta 3.3 ml. de muestra para 15 a 20 ml. de medio) o alternativamente incluir más de una caja inoculada cada una con 1 ml. a fin de poner en evidencia colonías de coliformes cuando su número fuera muy reducido en la muestra: 3 placas conteniendo cada una 3.3ml. de la dilución 1:10 permitirán examinar la muestra de lg.
- Después de dejar solidificar la muestra sobre una superficie plana y horizontal, agregar 4 ml. del mismo medio de cultivo extendiéndolo pa ra cubrir completamente la superficie.
- Dejar solidificar e incubar las cajas en posición invertida durante -24 ± horas, de 32° a 35°C, tomar en cuenta que debe hacerse un duplicado.
- De igual forma, preparar e incubar un testigo con el agar-rojo-violeta-bilis.

#### b.2) Cuenta:

- Seleccionar aquellas placas donde aparezcan entre 30 y 300 colonias, pues es en ellas donde será menor el error en el recuento. Ayudarse con el contador Quebec o similar.
- Contar todas las colonias desarrolladas en las placas seleccionadas, incluyendo las puntiformes. Hacer uso del microscopio para resolverlos casos en los que no se pueden distinguir las colonias de pequeñas partículas de alimento.
- Las colonias de coliformes son de color rojo obscuro y para este tipo de muestra pueden o no presentar halo de precipitación y diámetro de 0.5mm, o mayor.
- Las colonias de ciertas formas de cocos a veces producen colonias semejantes en color y tamaño a los coliformes, aunque sin halo.
- Para obtener el número de coliformes por gramo de muestra se multipli ca el número de colonias por el inverso de la dilución que se empleó.
- Reportar: "cuenta de organismos coliformes en placas de agar-rojo-violeta-bilis incubadas 24 horas a 35°C.
- c) Cuenta de hongos y levaduras. Los hangos se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza, en la tierra y en el polvo; las le vaduras se desarrollan con facilidad en los utensilios que no han sido lavados principalmente en industrias de carbohidratos.

Simultáneamente con el recuento de hongos puede realizarse el de levaduras, ya que el medio de cultivo le proporciona también buenas con diciones para su multiplicación. Lo recomendable es preparar una doble serie de diluciones e incubar una a 35°C de 24 a 48 horas, lo que permite desarrollar a las levaduras cuando los hongos aún no cubren las pla-

cas y la otra incubarla a temperatura ambiente (22° a 26°C) durante cinco días.

c.1) Preparación. Se siguen las mismas recomendaciones y se preparará igual la muestra con sus respectivas diluciones, que en la cuenta de mesofflicos aerobios.

Dependiendo del tratamiento que se le dé a nuestra muestra de cas carón será la dilución que se escoja para inocular, pero en general se eligen las dos primeras.

- De cada dilución colocar l ml. por duplicado en cajas de Petri y agregar de 15 a 18 ml. de agar-papa-dextrosa acidificado (una vez acidificado el medio no puede volverse a calentar), fundido y mantenido entre 45° y 48°C.
- Homogeneizar con movimientos rotatorios y dejar solidificar.
- Incubar una serie de placas a 22°C durante cinco días y la otra serie a 35°C durante 48 horas. Aunque también dan resultados satisfactorios incubando a 28°C todas las placas, sólo que a las 48 horas se leen las levaduras y a los cinco días o antes los hongos.

#### c.2) Cuenta:

- Contar las colonias de hongos en la serie incubada a los 22°C y las colonias de levaduras en la serie incubada a los 35°C así como en la incubada a los 22°C.
- Multiplicar por la inversa de la dilución e informar "Cuenta de hongos en placas agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante cinco días a 22°C"y "Cuenta de levaduras en placas de agar-papa-dextrosa acidificada e incubada durante 48 horas a 35°C o cinco días a 22°C" (según el caso en el cual sea el recuento más elevado). Se reporta por gramo de muestra.
- d) Investigación de Enterobacterias: Salmonella, E.coli, Shigella, Arizona. La Familia de las Enterobacteriaceas pertenecen generos como: Escherichia, Aerobacter, Klebsiella, Paracolobactrum, Ervina, Serratia, Pro-teus, Salmonella y Shigella. Son bacterias bacilares no esporógenas, --Gram negativas, que crecen bien en medio de cultivo artificiales. Los cuatro primeros géneros son saprófitos importantes en bacteriología de los alimentos y los tres últimos constituyen principalmente gérmenes pa tógenos. Las bacterias coliformes son bacilos cortos y se definen como: "todos los aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos, no forman esporas, fermentan la lactosa con formación de gas". Las dos especies más importantes son Escherichia coli y Aerobacter aerogenes. Debido a que E.coli se considera principalmente de origen intestinal, mientras que A. aerogenes suele proceder generalmente de vegetales, se ha estudia do bastante el modo de diferenciarlas. E.coli produce más ácido en caldo glucosado, lo que se aprecia en el indicador rojo de metilo, forma in dol pero no acatolna (acetilmetilcarbinol) produce dióxido de carbono e hidrógeno en la proporción 1:1, y no puede aprovechar el citrato como fuente única de carbono. Fermenta los azúcares, dando ácido láctico, al cohol etilico, ácido acético, ácido succinico, dióxido de carbono e hidrógeno.

Shigella. - Algunas de estas especies que determinan disenterías bacilares son transportadas por los alimentos.

Arizona. - Es un microorganismo que se reconoce como un patógeno en términos semejantes a las Salmonellas.

Las <u>Salmonellas</u> son bacilos Gram negativos no esporulados, fermentan la glucosa, generalmente produce gas, no fermentan la lactosa ni la sacarosa. Se les clasifica de acuerdo a sus propiedades antigénicas (a-proximadamente hay 1,500 serotipos). Crecen en un mârgen amplio de temperaturas, pil y aun cuando el medio de cultivo es bueno. Los tratamientos térmicos que se recomiendan para la destrucción de la <u>Salmonella</u> en alimentos alterables son: calentamiento a 66°C, manteniendo todas las —partes del alimento a esa temperatura durante 12 minutos  $\delta$  60°C de 78 a 83 minutos.

La técnica que se describirá a continuación es básicamente para el aislamiento de <u>Salmonella</u> pues no se recomienda un sólo medio de cultivo ya que se puede ver acompañada o enmascarada por el ingreso de — otros microorganismos. Pero también por medio de esta técnica podemos aislar otro tipo de enterobacterias patónenas, ya que sólo nos interesa identificarlas en nuestra muestra de cascarón de huevo, más no se desea conocer la cantidad, como generalmente se hace con <u>E.coli</u> en la técnica del "Número Más Probable".

d.1) Procedimiento. Existe una gran diversidad de medios de cultivo -técnicas de pre-enriquecimiento y enriquecimiento, y sugiere diversos
volumenes de muestra para realizar el análisis. Pero como se acaba de
mencionar, se seguirá la técnica para aislar e identificar las enterobacterias patógenas que nos interesan.

La metodología general incluye una sucasión de etapas:

- d.1.1) Pre-enriquecimiento o enriquecimiento no selectivo.
- d.1.2) Enriquecimiento en medios selectivos.
- d.1.3) Aislamiento en medios de agar selectivos.
- d.1.4) Identificación presuntiva mediante pruebas bioquímicas.
- d.1.5) Identificación serológica.
- d.l.l) Pre-enriquecimiento.- Su propósito es faciliar a las enterobacterias presentes en la muestra de cascarón, una recuperación del estado en el que se encuentra.

En esta técnica se utilizará agua peptonada, procediendose de la siguiente manera:

- Preparar asépticamente una muestra representativa del cascarón de hue vo, moliendola en mortero estéril.
- Mantener el mechero encendido con previa limpieza del área de trabajo.

- Pesar 25g. de muestra y transferirlos a un frasco que contenga 225 ml. de agua peptonada. Agitar.
- Incubar a 35°C durante 24 horas.
- d.1.2) Enriquecimiento. Estos medios contienen sustancias inhibidoras y pretenden, por una parte la multiplicación de las enterobacterias que buscamos y por otra impedir la de la flora asociada; pero diversos facto res en un sentido u otro pueden afectar a su selectividad. Dos grupos de medios de enriquecimiento han sido utilizados con mayor profusión: el grupo del caldo tetrationato y el del caldo selenito.
- Después de incubar el agua peptonada, transferir 1 ml. de esta suspensión a un tubo que contenga caldo selenito y cistina (10 ml.) y otro mililitro a un tubo que contenga también 10 ml. de caldo tetrationato (no olvidar añadir el yodo antes).
- Homogeneizar.
- Incubar a 35°C durante 24 horas.
- d.1.3) Aislamiento en medios de agar selectivos. Este estudio hace el uso de medios sólidos, los que por otra parte mantienen un efecto inhibitorio sobre la flora asociada, e imparten características diferenciales a las colonías, con respecto a las de otros gérmenes. Ciertas características le dan preferencia a uno y otro medio, pero el análisis más correcto Incluye el empleo de dos medios uno moderado y otro fuertemente selectivo.

Esta técnica se realiza de la siguiente manera:

- Inocular a partir de cada uno de los medios de enriquecimiento, dos placas de los medios sólidos elegidos, como mínimo, de manera que puedan obtenerse colonias bien aisladas para su identificación posterior. El aislamiento se realiza con ayuda del asa de platino, doblada en su extremo en círculo y sembrando por estría.
- Incubar a 35°C durante 24 horas.

Los cultivos para identificar las colonias sospechosas son:

- Agar EMB según Levie (agar eosina-azúl de metileno-lactosa). Las características que presentan las <u>Enterobacterias</u> en este medio son las siguientes:
  - Escherichia coli: De 2 a 3 mm. de diámetro, con brillo metálico verdo so en luz reflejada y centro obscuro hasta negro en la luz refractada. Salmonella y Shigella: Transparentes, ambarinas.
- Agar SS (Agar para <u>Salmonella</u> y <u>Shigella</u>). Las colonias se presentan: <u>Shigellas</u> y la mayoría de las <u>Salmonellas</u>: Incoloras o ligeramente rosa, transparentes; ocasionalmente opacas. Algunas cepas dan colonias con centro negro.

E.coli: Colonias pequeñas de rosa a rojo. Las colonias presentan:

- Agar XLD (agar xilosa - lisina - desoxicolato).

E.coli, Enterobacter, Aeromonas: Amarillas con alrededores amarillos, opacas, con halo de precipitado.

Salmonella: Con el color del medio de cultivo, transparentes, a veces con el centro negro.

Salmonella typhi: Anaranjadas, ligeramente opacas.

Shigella, Providencia, Pseudomonas: Con el color del medio de cultivo, transparentes.

- Agar Verde Brillante - rojo de fenol-lactosa-sacarosa. (Agar BPLS).

Las colonias se presentan:

Salmonella: Lactosa-negativas, de rosa a incoloras, rodeadas de medio enrojecido; translúcidas y opacas; en la proximidad de coliformes aparecen verdosas.

E.coli, Citrobacter, Prot. vulgaris, Serratin: Lactosa positivos a sacarosa positivos, son verde amarillantas, con halo verde-amarillanto; aunque no obstante, ocasionalmente hay inhibición total.

 Agar-bismuto-sulfito. Los siguientes signos característicos de las colonias sirven para la diferenciación:

Salmonellas, con excepción de S. parathypi A y S. pullorum: Centro negro, borde claro, precipitado negro con brillo metálico alrededor de las colonias ("ojo de conejo" o "de pez") Bacterias coliformes, Serratia, Proteus (más o menos inhibidas, sólo ocasionalmente presentes):pe pueñas, verdes y pardas, algunas veces mucosas.

Shigella: Inhibidas pero algunas café con centro deprimido y bordes elevados.

d.i.4) Identificación presuntiva mediante pruebas bioquímicas.— La identificación presuntiva de las colonias de Enterobacterias, desarrolladas en las placas se efectúan mediante la aplicación de pruebas bioquímicas en medios de cultivo que llevan incorporado un sistema sencillo o múltiple de indicadores y ningún elemento restrictivo para la multiplicación bacteriana. Las inoculaciones han de efectuarse a partir de un cultivo puro de microorganismos.

Los medios que se utilizaran para las pruebas bioquímicas son - los siguientes:

- Agar TSI (Agar hierro y tres azúcares). Para inocular se utiliza el asa recta, ésta se aplica sobre la colonia seleccionada (evitar contaminación) y se transfiere el inóculo en un tubo con TSI por estría y picadura. Incubar a 35°C durante 24 horas.

- Agar citrato de Simmons. El modo de actuar se basa en la degradación de citrato que produce una alcalinización del medio, que se reconoce por un viraje de color azul oscuro del indicador de pH azul de bromoti mol.
- Se siembra por estría en superficie y se incuba de 24 a 48 horas a 37°C.
- Medio SIM.- Es un medio de cultivo de diferenciación, para probar la formación de sulfuro, de indol y la motilidad, dentro del márgen de -diagnóstico de las Enterobacterias.
- El cultivo se siembra con asa, por el procedimiento de picadura, en la capa superior del medio de cultivo solidificado. La incubación se efectúa a 37°C de 18 a 24 horas.
- Caldo RM-VP (caldo-rojo de metilo según Voges y Proskauer). Se utiliza particularmente para la diferenciación dentro del grupo coli-aeróge nes.

Se inocula el cultivo puro en un tubo que contiene Caldo de RM-VP. Incubar 48 horas a 35°C para VP y 96 horas para la prueba de RM.

- Para la prueba de V-P, transferir a un tubo 1 ml. del cultivo de 48 horas, añadir 5 ml. de la solución de sulfato de cobre y una coloración roja indica prueba positiva y si no hay cambio al cabo de unos minutos es negativo.
- Prueba RM, el cultivo restante con 96 horas de incubación se le añaden 5 gotas de solución indicadora rojo de metilo. Una coloración de anaranjado a rojo es positiva y una coloración de anaranjado a amarillo es negativa.
- Caldo manitol. Este medio diferencial basa su modo de actuar en el vire del indicador rojo de fenol a amarillo con un pH ácido lo cual indica una prueba positiva y cuando no hay cambio de color es una prueba negativa.

Se inocula con el asa un tubo que contiene caldo manitol y se incuba durante 48 horas a 35°C.

Caldo de malonato. Este medio de cultivo para ensayo demuestra la escisión de malonato. La incubación se efectúa a 37°C de 16 a 20 horas.

La prueba positiva es azúl y la negativa es verde.

- Caldo urea.- Es un medio de cultivo fluído, para la demostración micro biana de ureasa. Un viraje de amarillo a rojo-púrpura del indicador de pH rojo de fenol, indica una prueba positiva.

El medio de cultivo sembrado se incuba a 37°C y a ser posible, se inspecciona al cabo de 8, 12, 24 y 48 horas.

Los resultados obtenidos en las bioquímicas se llevan a la tabla correspondiente a "Diferenciación de <u>Enterobacteriaceas</u> mediante pruebas

bioquímicas" (22), se observa de qué microorganismos se trata, o bien - si el germen sospechoso está o no presente.

d.1.5) Identificación serológica.— Con los antisueros específicos para cada grupo; se tomará un inóculo del medio TSI y se colocará sobre un porta-objetos que contiene una gota del antisuero específico, se mezcla rá con el asa y la presencia de aglutinación indicará que es positiva la identificación del microorganismo buscado, confirmando así su presencia en la muestra. Se debe incluir una suspensión control preparada de la misma forma, con un ambiente de trabajo cercano al mechero; adicionando suero fisiológico en lugar del antisuero. Para que el ensayo ten ga validáz no debe aparecer aglutinación en la segunda gota. Se debe observar con buena iluminación y fondo obscuro la formación de grumos.

MATERIAL Y HETODOS PARA EL ANALISIS FISICOQUINICO

## IV .- MATERIAL Y METODOS PARA EL ANALISIS FISICOQUIMICO.

- A.- Material.
- 1.- Equipo e instrumentos.
- a) Balanza analítica con sensibilidad de O.1 mg.
- b) Balanza granataria con sensibilidad de O.I g.
- c) Baño maría o de vapor.
- d) Bomba de vacío.
- e) Compactador mecánico con registro de velocidad.
- f) Equipo de destilación Kjeldahl.
- g) Equipo de digestión Kjeldahl.
- h) Horno eléctrico con control de temperatura.
- i) Mecheros Bunsen.
- j) Holino manual o mecánico.
- k) Mufia con control de temperatura.
- Otros: algodón, anillo, cartucho de extracción Soxhlet (tamaño adecuado), espátula, lana de vidrio, papel filtro sin cenizas, para filtro Whatman No. 44, papel pH, papel tornasol, tela de algodón o lino (20 hilos por cm).
- m) Parrillas electricas con control de temperatura.
- n) Pinzas para crisol y bureta.
- o) Potenciómetro.
- p) Probeta de plástico 100 ml.
- q) Tamices (40, 60, 80 y 100, 120, 150).
- r) Termometro (-10 a 200°C).
- s) Tripies.
- t) Soporte universal.
- u) Vibrador mecanico.
- 2.- Material de vidrio.
- a) Buretas de 10 ml., 25 ml. y 50 ml.
- b) Cápsulas de porcelana (con tapa de 5cm. de diámetro).
- c) Crisol de Gooch.
- d) Crisol de porcelana con tapa.
- e) Desecudor.
- f) Embudos de cola corta y cola larga.
- g) Embudo de Buchner con tapa filtrante.
- h) Extractor Soxhlet.
- i) Franco ambar 1000 ml.
- Matráz de bola de 250 ml. para Soxhlet.
- k) Matraces Erlenmeyer de 250 ml. y 500 ml.
- 1) Matrãz Kitosato.
- m) Matraces Kjeldahl 800 ml.
- n) Matraces volumetricos 250 ml. y 1000 ml.
- o) Mortero de porcelana.
- p) Perlas para ebullición o pedazos de vidrio poroso.

- q) Pipetas de 1, 5 y 10 ml.
- r) Pipetas serológicas de 1 y 10 ml.
- a) Probetas de 50 y 100 ml.
- t) Refrigerante de bolas para Soxhlet.
- u) Refrigerante de reflujo.
- v) Vasos de precipitado de 100, 500 y 2000 ml.
- w) Vidrio de reloj.
- x) "Y" de vidrio.

## 3.- Reactivos y soluciones.

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado - analítico a menos que se indique otra cosa. Cuando se hable de agua - debe entenderse por agua destilada o desmineralizada.

- a) Acido acático 1:2.
- b) Acido acético glacial.
- c) Acido bórico al 2%.
- d) Acido clorhídrico 0.1N, 1%, 1:3, 2N, 5N y concentrado.
- e) Acido sulfúrico 1.25%, 1:9 y concentrado.
- f) Alcohol etilico neutro 95%.
- g) Amoniaco en solución 1:2.
- h) Anaranjado de metilo 0.01% y 0.1%.
- i) Antiespumante o alcohol octinílico.
- j) Asbesto digerido.
- k) Bromocresol al 0.05% en solución alcohólica.
- Cinc granulado.
- m) Eter dietilico.
- n) Eter etflico anhidro.
- o) Fenolftaleina al 1% en alcohol etilico al 95%.
- p) Hidróxido de sodio 1.25%.
- q) Hidróxido de sodio 1:1.
- r) Hidróxido de sodio al 5%.
- s) Oxalato de amonio (disolución saturada).
- t) Permanganato de potasio 0.05N.
- u) Rojo de metilo.
- v) Solución amortiguadora pH = 7
- w) Solución amortiguadora pH = 9
- x) Sulfato de cobre pentahidratado.
- y) Sulfato de sodio anhidro.
- Shidro Tashiro (indicador). Disolver 0.2 g. de rojo de metilo en 60 ml. de alcohol etflico y aforar a 100 ml. con agua. Disolver 0.2 g. de azul de metileno y aforarlos a 100 ml. con agua. Hezclar dos partes de rojo de metilo y una de azul de me tileno.
- B.- Métodos para el análisis bromatológico (2.27).
- 1.- Humedad.
- a) Preparación de la muestra.- Para colectar la muestra se tomará de diferentes localidades por la técnica del cuarteo, en la cual se -

rechazan los dos cuartos opuestos y se mezclan los otros dos repítiendo el proceso hasta que se obtiene la cantidad apropiada. El tamaño muestral se establece igual que para el análisis microbiológico.

La muestra debe pasar a través de un molino manual o mecánico y se homogeneiza en un mortero para guardarla después en un frasco de vi drio bien cerrado.

b) Procedimiento. Pesar de 2 a 3 g. de cascarón en la balanza ana lítica en una cápsula previamente puesta a peso constante (20 minutos a 110°C). Colocar la cápsula con la muestra en la estufa y horno entre 100 y 110°C durante 3 horas.

Transferir la cápsula al desecador y dejar enfriar a la temperatura ambiente. Pesar.

Repetir el procedimiento indicado hasta obtener peso constante (la diferencia máxima permisibles es de 0.1%).

c) Calculos.

En donde:

- p peso del recipiente con la muestra húmeda, en gramos.
- p1 = peso del recipiente con la muestra seca, en gramos.
- p<sub>2</sub> = peso de la muestra, en gramos.
- 2.- Cenizas (2,27).
- a) Preparación de la muestra. Se procederá igual que en el caso de humedad.
- b) Procedimiento.— Se pesan de 3 a 5 g. de cascarón en un crisol—puesto previamente a peso constante (se calienta el crisol en la llama del mechero Bunsen durante un minuto se pasa a un desecador para su en friamiento y se pesa). La muestra ya en el crisol se quema lentamente con la llama del mechero hasta que ya no se desprendan humos, para evitar que se proyecte cascarón fuera del crisol se colocan la tapa (pues ta también a peso constante). Después se lleva el crisol a la mufla para efectuar la calcinación completa. Suspender al calentamiento cuan do se obtienen cenizas blancas o grises; si se obtienen cenizas con—puntos negros se les añaden unas gotas de agua destilada y se vuelve a calcinar. Se enfría en el desecador y se pesa.
- c) Cálculos.

$$x \text{ Cenizas} = \frac{(p-p_1)}{M} \times 100$$

- p = Masa del crisol con las cenizas, en gramos.
- Pi Masa del crisol vacío (incluye tapa), en gramos.
- M = Maso de la muestra, en gramos.

Indicar tiempo y temperatura de calcinación.

- 3.- Grasa cruda por al metodo de Soxhlet (2,27).
- a) Prepación de la muestra. Se procederá igual que para humedad.
- b) Procedimiento.— Transferir de 2 a 5 g. de cascarón exactamente pesado, en un cartucho o papel filtro también pesado. Colocar el cartucto y la muestra cubierta con un poco de algodón, en el extractor Soxhlet (Fig. 7).

Por otro lado, se pesa un matraz redondo de 250 ml. con piedras porosass, que se ha llevado a peso constante (horno entre 100 y 110°C). Ajustar el matraz en la parte inferior del Soxhlet y colocar el refrigerante de bolas.

Añadir éter etilico anhidro por el extremo del refrigerante en cantidad suficiente para tener 2 a 3 descargas del extractor (agregar 2 cargas y la tercera se deja en el Soxhlet toda la noche para que cubra la muestra), aproximadamente 80 ml.

Hacer circular el agua por el refrigerante y calentar utilizando parrilla con control de temperatura además de un baño de vapor, hasta que se obtenga una frecuencia de 2 gotas por segundo. Para evitar la rapida evaporación de éter etílico, colocar un algodón humedecido en el embudo por donde se añadió el solvente al extractor; además rodear el refrigerante con hielo.

Efectuar la extracción de 6 a 8 horas o durante toda la noche reposando. Suspender el calentamiento y se hace la prueba para ver si ya se extrajo toda la grasa: quitar el extractor del matráz y dejar caer una gota de éter a un vidrio de reloj, si al evaporarse el éter se observa una mancha de grasa, volver a ajustar el extractor y continuar. Si ya no queda residuo de grasa, quitar el Soxhlet y se procede a evaporar el éter de matráz redondo, utilizando baño de vapor, evitando que suba la temperatura a más de 60°C. Finalmente se lleva el matráz a la estufa a 100°C hasta peso constante.

c) Cálculos.

$$x$$
 de extracto etéreo =  $\frac{(p-p_1)}{M}$  X 100

En donde:

- p = masa en gramos del matráz con grasa.
- p, = masa en gramos del matraz sin grasa.
- M = masa en gramos de la muestra.

Indicar tiempo y temperatura.

- Proteinas. Método de Kjeldahl (2,27).
- a) Preparación de la muestra. - Se procederá igual que para humedad.
- ь) Procedimiento. - Determinar la masa, en una balanza analítica. de 5 g. de coscarón y pasorlo cuantitativamente a un matráz Kjeldahl, añadirle 2 g. de sulfato de cobre, 10 g. de sulfato de sodio anhidro, 25 ml. de ácido sulfúrico concentrado, aproximadamente 1 ml. de anties pumante y unas perlas de vidrio.

Colocar el matráz en el digestor y calentar cuidadosamente a ba ja temperatura hasta que el material esté carbonizado, aumentar gradual mente la temperatura hasta que la disolución esté completamente clara y dejar 30 minutos más a esa temperatura. La digestión se realiza den tro de la campana de extracción de vapores (Fig. 8).

Enfriar y añadir aproximadamente 200 ml. de agua para disolver completamente la muestra, agregar 50 ml. de hidróxido de sodio 1:1 de 3 a 5 gránulos de cinc.

Inmediatamente conectar el matráz a un sistema de destilación en la cual previamente se le ha colocado en la salida del refrigerante un matráz Erlenmeyer de 250 ml. que contenga 50 ml. de ácido bórico al 2% y unas gotas del reactivo Shiro-Tashiro como indicador (Fig.8).

Destilar hasta que unas gotas del destilado no den alcalinidad con el papel tornasol, aprox. 200 ml.

Nota: El ácido bórico con el indicador de un color azul y las primemeras gotas del destilado cambian el color a verde.

Retirar el matráz recibidor y títular el destilado con ácido clorhídrico O.IN: el indicador vira de verde a violeta.

Cálculos. c)

El nitrógeno presente en la muestra, expresado en porciento se calcula mediante la siguiente formula:

#### En donde:

- V volumen de ácido clorhídrico empleado en la titulación en ml.
- N = normalidad del acido clorhidrico.
- m = masa de la muestra, en gramos.
- 0.014 = miliequivalente del nitrogeno.

El porciento de proteínas se obtiene multiplicando el porciento de nitrógeno por el factor 6.25.

- 5.- Fibra cruda (2,27).
- a) Preparación de la muestra.- Utilizar la muestra del cascarón a la que se le extrajo la grasa por el método de Soxhlet.
- b) Procedimiento.— Se pesan con aproximación de mg. de 2.5 a 3 g. de cascarón al que ya se le extrajo la grasa; pasa la muestra a un ma tráz Erlenmeyer de 500 ml., adicionar 0.5 de asbesto digerido y después 250 ml. de ácido sulfúrico al 1.25% (0.255N), esta solución debe estar hirviendo al agregarse. Se calienta de inmediato utilizando un refrigerante de reflujo; los primeros 30 a 40 ml. sirven para dispersar la muestra; ésta debe empezar a hervir antes de l minuto. Se mantiene así exactamente 30 minutos con un volumen constante (se marca el volumen al empezar a hervir, e ir añadiéndole agua hirviendo), girar el matróz de cuando en cuando para mezclar y arrastrar partículas de las paredes.

Mientras tanto, se prepara el embudo Buchner provisto de placa perforada y se le ajusta una tela de algodón o lino de manera que cu bran los orificios de la placa y que servirán de soporte del adecuado papel filtro. Se vierte agua hirviendo sobre el embudo, se deja estar hasta que el embudo se coliente y después se succiona el agua.

Al final del período de ebullición de 30 min. se deja en reposo la mezcla ácida durante l min. y se vierte inmediatamente sobre una capa de agua caliente puesta en el embuoo. Se ejerce una succión ajustada de tal forma que la filtración de la mayor parte de los — — 200 ml. se realice en 10 min. Si se pasa de ese tiempo se repite la determinación. Se lava la materia insoluble con agua hirviendo hasta que no de reacción con rojo de metilo (amarillo).

El residuo se regresa al matrãz y se lava con 200 ml. de solución de hidróxido de sodio al 1.25% (0.313 N), tanto este volumen como el del  ${\rm H}_2{\rm SO}_4$  se miden a la temperatura ordinaria y se calientan a ebullición. La mezcla se hierve durante 30 min. tomando semejantes precauciones que en el primer tratamiento y ebullición. Se deja reposar la mezcla durante l min. e inmediatamente se filtra en un - Gooch que ha sido preparado con asbesto digerido. Se transfiere la totalidad con agua hirviendo y se lava primero con esa misma agua, -

después con ácido clorhídrico al 1% (10 ml. de HCl por litro) y finalmente con agua hirviendo hasta eliminación de ácido. Se lava dos veces con alcohol etílico y tres veces con éter dietílico. Se seca a 105°C hasta peso constante y se calcina a 600°C volviándose a posar.

Preparación del asbesto: de digiere a ebullición durante 8 horas con sosa al 5%. Se lava con agua caliente; se pone nuevamente a digerir pero con HCi 1:3 el mismo tiempo, se lava de nuevo con agua, se filtra, se seca y se calcina al rojo brillante.

c) Cálculos.

7 Fibra cruda = Peso al secar la muestra - Peso incinerada X 100 Feso muestra original

- 6.- Sólidos totales (2).
- a) Cálculo.

Z de Sólidos totales = 100 - Z de humedad

- 7.- Extracto libre de nitrógeno (2).
- a) Cálculos.
- Z Carbohidratos

Asimilables = 100 - (% humedad + % cenizas + % grasa + % proteinas + % fibra)

- C.- Determinación de calcio y otras características fisicoquímicas.
- Determinación de calcio como oxalato por valoración con permanganato (1).
- a) Preparación de la muestra.-Obtener una muestra representativa, de la misma forma que se ha venido haciendo, en cuanto al tamaño y molienda de la misma recurrir a la técnica de cuarteo.
- b) Procedimiento.- Pasar con aproximación de 0.0001, 0.25 g. a -0.5g. de muestra, calcinar a 500°C. Tratar las cenizas frías con 10ml.
  de HCI 5N y evaporar en baño de vapor. Añadir 10 ml. de HCI 2N y calen
  tar a ebullición, diluir con 10 ml. de agua y filtrar en un vaso de -250 ml. Repetir la extracción varias veces. Añadir mas gotas de bromo
  cresol a los filtrados y elevar a pH alcalino con amoniaco diluído.
  Posteriormente acidular con la solución de ficido acético diluído y aña
  dir en exceso de 0.5 ml. de ficido acético glacial. Calentar a ebullición y añadir lentamente 10 ml. de la solución saturada de axalato de
  amonio. Adicionar de la solución de amoniaco hasta que la mezcla tenga
  un color verde amarillento (pH aprox. 3.8) filtrar a través de papel
  Whatman, comprobando que no haya más precipitado. Pasar el precipitado
  a un matráz de Erlenmeyer empleando agua luego con 10 ml. de ácido sulfúrico diluído a una temperatura de 60°C y por último con agua caliente
  hasta tener un volumen final de 150 ml. Valorar la solución con perman

ganato de potasio 0.05N a 75°C hasta que el color rosa persista por 30 segundos.

c) Calculos:

1 ml. de  $KMnO_2O_1$  05N = 0.001002 g. de Ca.

- 2.- Determinación de mustancias insolubles en acido (1,2).
- a) Preparación de la muestra. Tomar une muestra representativa de cascarón.
- b) Procedimiento. Suspender 10g. de muestra, pesados exactamente en 100 ml. de agua destilada. Lenta y cuidadosamente adicionar 20 ml. de ácido clorhídrico concentrado y diluir con agua a 150 ml. Calentar la solución a ebullición; al hervir se expele el CO2, entonces la digestión se cubra con un vidrio de reloj y se somete a baño de vapor por una hora. Filtrar la solución en un crisol filtrante, previamente puesto a peso constante. El residuo se lava con agua y se seca a 105°C hasta peso constante. Enfriar en un desecador y pesar.
- c) Cálculos:

$$I = \frac{(a-b) \times 100}{c}$$

- I = X de insolubles en ácido.
- a = Peso del crisol más residuos.
- b = Peso del crisol vacio.
- c Peso de la muestra.
- 3.- Determinación de alcalinidad libre como Ca(OH)2.(1.2).
- a) Preparación de la miestra. Tomar una muestra representativa de cascarón.
- b) Procedimiento. Pasar alrededor de 10g. de muestra, transferirlos a un matraz. Añadir 100 ml. de agua deutilada y calentar a ebulli ción. Filtrar a través de un papel filtro y lavar el precipitado con 100 ml. de agua. Agregar al filtrado tres gotas de naranja de metilo y se titula con solución de HCl O.IN.
- c) Calculos:

$$A = \frac{(74 \times a \times f \times 100)}{2c}$$

A = 2 de : Ca (OH) 2

- a = ml. de ácido clorhídrico empleados en la titulación.
- f = factor de la solución de HCl
- c cantidad de muestra empleada en mg.

- 4.- Gravedad específica aparente (Bulk Index) (2).
- a) Preparación de la muestra. Pesar 100g. de cascarón seco y molido.
- b) Procedimiento.- La muestra de cascarón se pesa exactamente en -una probeta de 100 ml. de plástico, que tiene mas de 15 ml. por encima
  de la marca. La probeta se cierra con un tapón de corcho. Se coloca
  en un compactador mecánico a una velocidad constante durante dos minutos (Fig. 9).
- c) Cálculos.- Pesar nuevamente el contenido de muestra para verificar si no se derramó parte del polvo; pero antes medir el volumen ocupado después que se compactó y así se calcula su densidad de gramos --por mililitro.

# D = Peso de la muestra en gr. Volumen de la muestra en ml.

- D = Gravedad específica aparente (2).
- 5.- Determinación de finura.
- a) Preparación de la muestra.- De igual manera, se utilizarán 100g. de cascarón seco y molido.
- b) Procedimiento. Colocar 100g. de muestra en un juego de 3 6 4 tamices (cribas) que abarcan desde el número 40 (dependiendo del tamamo de particula) en intervalos hasta posiblemente el 150. Llevarlos durante 5 minutos por cada malla a vibración constante (Fig. 10).
- c) Cálculos.- Pesar la porción que quedó en cada malla y ésto nosindicará el porciento que hay en las mismas.
- 6.- pH (27).
- a) Preparación de la muestra. Pesar aproximadamente 10g. de cascarón y licuarlo perfectamente con 100 ml. de agua destilada recientemente hervida y enfriada. Dejar reposar de 20 a 30 minutos y eliminar el sobrenadante.
- b) Procedimiento.- Calibrar el potenciómetro con las soluciones -amortiguadoras de pH (pH=7 y pH=9). Determinar la temperatura de la -muestra y ajustar también el potenciómetro. Introducir los electrodos
  en la muestra preparada y tomar la lectura directamente.
- c) Cálculos. La lectura nos representa el valor del pH. Efectuar la determinación por duplicado.

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

## V. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En este capítulo se describe de una manera general la recepción, el muestreo, el lavado y quebrado mecânico del huevo, que normalmente se lleva a cabo en una planta especializada. Después, se exponen de una forma más explícita los diferentes procedimientos estudiados para secar y moler el cascarón de huevo. Vale la pena mencionar que el objetivo —principal de la planta aqui mencionada es obtener yema salada, para la elaboración de mayonesa, por lo cual en las operaciones descritas a continuación se busca siempre obtener el mayor rendimiento y óptima calidad de este subproducto.

- A.- Operaciones en la planta quebradora de huevo (Fig. 11)
- 1.- Recepción y muestreo del huevo entero.

Actualmente el huevo es recibido por almacenes en cajas de aproximadamente 22kg., conteniendo 360 huevos cada una.

Se toma una muestra representativa, haciendo un tunel a lo largo del camión para tomar muestras de todo el embarque hasta obtener de un 47 a un 57 del cargamento.

La muestra pasa al Departamento de Huevo donde se va a lavar y a quebrar. En este momento un inspector de Control de Calidad checa principalmente los siguientes defectos: huevo flojo, con aroma desagradable, podrído (0%), con sangre (0.15% máximo) y roto, pegado a los conos o sucio (2.5% máximo de los tres defectos); así como también tamaño y frescura del mísmo (un huevo fresco tiene menos de 4 días de postura). Además de estos aspectos se toma en cuenta: moniobra de selección de la muestra, estado de la caja (rota, doblada o mojada), temperatura del camión y apariencia externa del embarque. En base a los factores anteriores si la muestra representativa no sobrepasa el 10% de defecto total entonces el luevo es aceptado. Cuando ésto sucede, se almacena a 5°C/1 hora mínimo para facilitar la separación de los ingredientes durante el quebrado.

#### 2.- Lavado y quebrado del huevo.

La finalidad de lavar el huevo es desprender del cascarón la suciedad que se encuentre adherida a él, así como darle sancamiento.

El lavado mecânico (Fig.12) se lleva a cabo de la siguiente mane

- El huevo es vaciado, con ayuda de una lámina, sobre una malla relativamente flexible de acero inoxidable y que se encuentra en una posición de 30°.
- El huevo rueda y cae a una zona donde unas varillas lo jalan y lo colocan sobre los rodillos transportadores o huesos (cada espacio entre dos huesos tiene capacidad para llevar seis huevos).
- Los huesos transportan los huevos al tunel de lavado en donde los cepillos (de movimiento vibratorio vertical), los lavan, liberándolos de las suciedades adheridas al cascarón. Los huesos hacen que gire completamente el huevo para que pueda lavarse en su totalidad. En es te punto por medio de bombas de recirculación se manda agua de la tina hacia los cepillos por medio de los dispersores. El agua contiene an tiespumantes y una solución clorada de detergente, cada uno en una con centración de 200 ppm.
- Al salir del tunel de lavado, el huevo recibe un rocio con hipoclorido de sodio (200 ppm), el cual desprende el exceso de antiespumante y detergente.
- Después pasa por el ovoscopio (lámpara de inspección) donde se observa si el interior del huevo viene descompuesto o con sangre; éstos se separan y se devuelven al proveedor, así como los rotos y pegados a los conos.

Una vez que el huevo ha sido lavado pasa en seguida a la māquina quebradora en donde los transportadores de lavadora y las pinzas receptoras de la quebradora deben estar sincronizados para evitar que el hue vo se tire.

Además, existe un rango de velocidad en el cual se basa la producción de esta máquina, a este estándar se le denomina "ciclos/min" siendo el número de veces que los huesos depositan en las pinzas los huevos de forma sincronizada colocando seis en cada ciclo. La idea es trabatar en el rango de 45 a 50 ciclos/minuto.

La velocidad de la máquina se revisa cuando se muestrea el huevo y varía dependiendo de la calidad de éste, y que si viene flojo entonces la velocidad será la mínima aceptable, pero si está fresco, aumenta rá.

Las quebradoras constan de las siguientes partes (Fig. 13):

- a) Pinzas receptoras de huevo: Tienen movimiento horizontal y al es tar juntas sostienen el huevo de tal manera que al abrirse hacen que el huevo roto caiga a la copa.
- b) Martillo: Tiene un movimiento vertical que sujeta el huevo en las pinzas y sirve de contrapunto cuando las navajas golpean el cascarón ha ciendole una incisión para que después con una leve presión se agriete el cascarón en toda la circunferencia.

- c) Navajus: Tienen un movimiento vertical y con un golpe seco hacen el corte, partiendo al huevo por la mitad.
- d) Copas: Cuando se abren las pinzas caen la yema y clara a la copa que tiene un orificio por donde pasa la clara hacia la cuchara, quedando la yema en la copa por tener mayor densidad.
- e) Vibradores: Para ayudar a separar la clara de la yema. Se cuenta con una sección en donde se hace vibrar toda la quebradora, terminan do con una corriente de aire que desprende la Gltima porción de clara de las copas.
- f) Cuchara: Se encuentra debajo de la copa y recibe a la clara.

De la maquina se obtienen tres subproductos principales: la yema que a través de una charola se deposita en una cubeta; la yema-clara -- (clara mezclada por yema) se recibe en otra cubeta y la clara limpia -- que cae en una tercera cubeta.

El cascarón que hasta el momento lo sigue sujetando las pinzas y el martillo, pasa a una cámara donde el martillo se levanta y una corriente de aire lo expulsa de las pinzas. El cascarón se recibe en tambos y se compacta manualmente por medio de un aprisionador.

La finalidad de obtener estos subproductos es en particular:

- A la yema se le añade 10% de sal con el fin de favorecer la propriedad de la lecitina, inhibir el crecimiento bacteriano, además de bajar el punto de congelación de la yema e impedir su gelación.
- Los sólidos de la yema se ajustan con la yema-clara.
- La clara filtrada, desazucarizada y deshidratada se le conoce como al búmina, la cual se utiliza en la elaboración de chocolates, pasteles, pegamentos, pastas alimenticias, etc.
- Por otra parte, el cascarón hasta el momento es desechado.

#### B.- Equipo industrial.

El equipo industrial utilizado para las pruebas de lavado, deshi dratado y molienda del cascarón es el siguiente:

- 1.- Autoclave vertical abierta o similar de fierro dulce, (Fig. 14), con una capacidad aproximada de 1500 1. Con tres canastillas interiores de lámina negra perforada.
- 2.- Básculas de 15kg. (Berkel No.5051 Mod. 2,008/M), y de 130kg. máximo de capacidad (Toledo Mod. 2081GG, No. Serie 25094).

- 3.- CentrIfuga (Fig.15), con tambor interior de acero inoxidable con perforaciones de 3/16" a 1" de distancia cada una. Capacidad aproximada de 150 l. (para cascarón 30kg.). Motor de 1740 rpm. y 3 C.V., polea motríz 4" y polea conductora 10". Velocidad angular 696 rpm.
- 4.- Cocedor (Fig.16) (1963, No.Serie 522) de acero inoxidable con paletas mezcladoras. Dimensiones interiores de la cámara de proceso -  $1.52 \times 4.8 \text{ m}$ , presión máxima exterior 90 lb/pulg², presión máxima interior 60 lb/pulg², temperatura máxima  $340^{\circ}\text{C}$ , capacidad aproximada 6,700 litros (para cascarón 3,000 kg). Motores de 40 C.V.
- 5.- Molino de martillos (Fig.18) Fitz Mill (The Fitz Patrick Company 832 Industrial Drive, Elmhurst, Illinois 60126 USA "Comminutor" Código No. DASO 6, Serie No. 7810), de aproximadamente 600kg/hr. de capacidad con malla 0.040", y una velocidad de 3600 rpm. Con un motor de 7.5 C.V.
- 6.- Molino de turbina (Fig.19) (PULVEX Mod. 400) de 150kg/hr. Construcción: turbina de impacto en fundición de acero, montada en la flecha. El rotor gira sobre rodamientos de bolas de alta velocidad. Forro de molienda dentado y desmontable. Criba de media luna. Carcasa en fundición de hierro gris. Tolva de carga en lámina. El movimiento es por medio de poleas, correas trapazoidales y motor eléctrico de 15 C.V.
- 7.- Paila (Fig.20) de acero inoxidable de 400 1. de capacidad, provig ta de chaqueta de vapor y paletas raspadas.
- 8.- Secador de charolas piloto para pruebas preliminares (Fig. 21 y 22), de 1.45 x 1.58 m. con 7 divisiones interiores donde se colocan 49 charolas (70x20 cm) que poseen mallas 0.033". Con la opción del uso de resistencia eléctrica o radiador de vapor; con termostato y extractor para recircular el aire caliente.
- 9.- Secador de vapor rotatorio (Fig.23) de acero inoxidable con sistema de 72 tubos (ANDERSON IBEC, 1980, No.10510). Con una capacidad de 500kg., velocidad angular de 9 rpm. y una temperatura máxima de 232°C en el interior de los fluxes, con una presión de 1501b/pulg². El motor es de 10 C.V.
- C.- Descripción de los procesos estudiados para la obtención del cas carón en polvo.

Actualmente el cascarón de huevo procede de la máquina quebradora para depositarse en tambos de aproximadamente 200kg. de capacidad, donde se tritura manualmente con el fin de reducir su espacio y colocarse en la zona de desechos de la planta.

El contenido de humedad que presenta el producto es muy variable:

# ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA SULVOTECA

 Muestra
 Z Agua

 Cascarón recien quebrado
 30-35

 Cascarón triturado
 25-30

 Cascarón depositado en la basura
 20-25

Esta humedad proviene básicamente del agua de lavado de los hue -- vos antes de quebrarse.

A continuación se describen los diferentes procedimientos que se siguieron para la obtención del cascarón en polvo:

1.- Proceso No. 1.- Como primera instancia, se determina la efectividad del equipo en el caso del secador de charolas a nivel piloto. Cuando se trabajan con resistencia eléctrica (1800 Watts), para la producción de calor, tarda 150 minutos en elevar la temperatura a 65°C, siendo ésta la máxima que se alcanza; en cambio si el suministro es por medio de vapor la temperatura llega a 100°C en 20 6 30 minutos. También se llenaron las charolas con diferentes proporciones de cascarón (0.5 kg a 5 kg) para determinar cuál es el tiempo mínimo requerido para secar la máxima cantidad.

El cascarón recien triturado pasa a depositarse directamente en las charolas del secador; se utilizan sólo 10 para las pruebas, en ellas se coloca un máximo de 1.5 kg de producto en forma dispersa y homogénea, una cantidad mayor de muestra obstruye la circulación del aire y retarda el tiempo de secado. Las condiciones generales del sistema son: presión de entrada de vapor 1.6 kg/cm², presión de solida 0.4 kg/cm²; temperatura 100°C, tiempo de secado es de 120 a 150 minutos; humedad final 2% máximo. Una vez obtenida esta humedad, el cascarón pasa a molerse en el molino de martillos con malla # 0.04" (Fitz Mil).

2.- Proceso No. 2.- Una muestra representativa de cascarón es tomado directamente de los tambos de basura, se coloca en una canastilla para pasar a lavarse en el autoclave vertical durante 10 minutos con agua hir-viendo, de manera que toda la espuma que produce la clara adherida, se de rrame por los bordes del tanque con el fin de reducir en alguna forma la contaminación ya que se remueven las particulas de suciedad incrustadas en el cascarón.

El cascarón ya lavado conserva su humedad en un ± 2%. Este se centrifuga durante aproximadamente 90 minutos para reducir el contenido de a agua entre 5 y 10%. Después pasa a secarse en el sacador de charolas a 100°C durante 30 minutos hasta un máximo de 2% de humedad. Finalmente se muele en el molino de martillos.

Cabe aclarar que este cascarón puede o no proceder directamente — de los tambos de basura ya que si se toma directamente a la salida de — la máquina quebradora, el grado de contaminación inicial es menor ya que-

la clara que aun lleva adherida es un material rico en proteínas y por consiguiente un buen nutriente para los microorganismos presentes en los desechos.

- 3.- Proceso No. 3.- El cascarón proveniente de la basura se lava en el autoclave para remover la misma suciedad. Sin ser centrifugado pasa a secarse y molerse bajo las mismas condiciones descritas en el procedimiento No. 1.
- 4.- Proceso No. 4.- Con el fin de comparar el grado de contaminación del cascarón proveniente de la basura o de el que se obtiene directamen te de la quebradora, el que se encuentra depositado en la basura pasa a secarse en las charolas durante 120 ó 150 minutos y finalmente se muele en el mismo equipo antes mencionado.
- 5.- Proceso No. 5.- Quinientos kg. de cascarón almacenado en los tambos de basura se transporta en bolsas de polietileno a un secador rotatorio, donde la temperatura alcanzada en el interior de los fluxes es de 120°C, trabajando con una presión de 2.5kg/cm², durante 45 minutos a proximadamente, logrando una humedad final máxima de 2%. Molerlo en el molino de martillos en la forma acostumbrada.
- 6.- Proceso No. 6.- De igual manera que en el punto anterior se llevan 500kg. de cascarón a un Cocedor para secarse a 180°C durante 40 minutos hasta lograr 27 de humedad final.
- 7.- Proceso No. 7.- Se toman 2,500kg, de cascarón de los tambos de basura y se introducen en el Cocedor donde se mantiene la presión de va por a 45 lb/pulg<sup>2</sup> durante 30 minutos. Conservar a 180°C durante tres horas para secar el producto, el cual se obtiene molido con un tamaño de partícula menor, debido al incremento en la presión y al sistema de agitación.
- 8.- Proceso No. 8.- Tomar aproximadamente 250kg, de cascarón directa mente de la salida de la quebradora y colocarlos en una paíla de acero inoxidable provista de chaqueta de vapor y paletas raspadoras como sistema de agitación. Encender el vapor entre 2 y 2.5kg/cm² de presión y mantener la agitación hasta obtener un producto seco durante aproximada mente 120 a 160 minutos. Moler el cascarón en el molino de turbina.

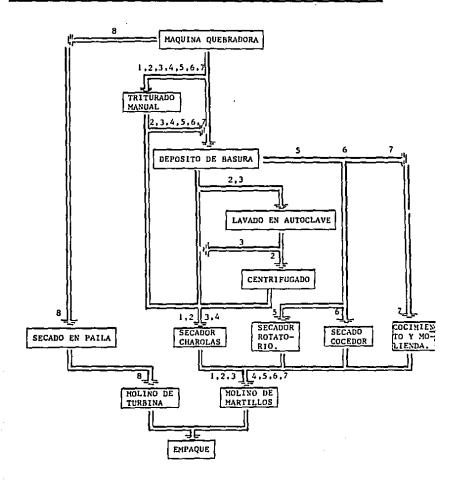
Después de realizar cada uno de los procedimientos entes mencionados hay que tomar en cuenta que en cada paso se han efectuado los ana liais microbiológicos correspondientes con el fin de observar el grado de contaminación que pueda existir en el cascarón en polvo, así también se realizó el analisis fisicoquímico final para determinar las especifi caciones del producto y poderlo utilizar como complemento alimenticio. Estos datos serán expuestos en los resultados.

## D.- Empaque y almacenamiento.

El cascarón en polvo se puede mantener a granel o de preferencia en bolsas de papel kraft (sacos de 50kg) con cierre cocido y en-cintado, para protegerlo contra la humedad, ataques de insectos o evitar que se derrame. El empaque se realizará en el caso de necesitar un producto de mejor calidad debido a que el costo se verá incrementa do.

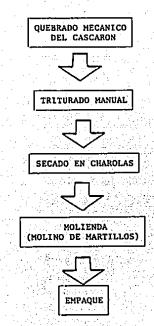
Para el almacenamiento se tomaron muestras de cascarón seco y molido conservandose durante un año a temperatura ambiento y a 37°C observando la estabilidad que existe en este período tanto fisicoquímica como microbiológicamente.

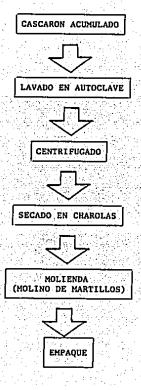
## ESQUEMA DE LOS PROCESOS CONJUNTOS PARA LA OBTENCION DE CASCARON EN POLVO

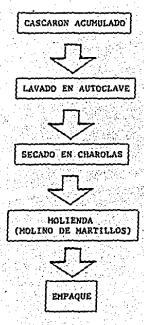


## DIAGRAMAS DE BLOQUES

## Proceso No. 1







CASCARON ACUNULADO



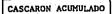
SECADO EN CHAROLAS



MOLIENDA (MOLINO DE MARTILLOS)



EMPAQUE





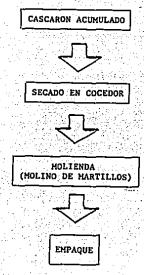
SECADO EN SECADOR ROTATORIO

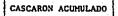


MOLIENDA (MOLINO DE MARTILLOS)



EMPAQUE







COCIMIENTO Y MOLIENDA



QUEBRADO MECANICO DEL CASCARON



SECADO EN PAILA



MOLIENDA (MOLINO DE TURBINA)



EMPAQUE

# RESULTADOS

#### VI. RESULTADOS

## A) Análisis microbiológico I.- Análisis inmediato

Huestra	Cuenta de bacterías mesofflicas aerobias(col/	Organismos g) coliformes(col/g)	Hongos Levaduras (col/g) (col/g)	Salmonella Otros patógenos (+ 6 -) (+ 6 -)
Original Quebrado manual Quebrado mecânico Triturado manual Acumulado (desecho)	600 13,000 19,200 40'800,000	5,000 12,200 2'730,000	Negativo Negativo Negativo Negativo 200 30 700 250	Negativo Negativo Negativo Positivo Negativo Positivo Positivo Positivo
Procesada				
Proceso No. 1 Proceso No. 2 Proceso No. 3 Proceso No. 4 Proceso No. 5 Proceso No. 6 Proceso No. 7 Proceso No. 7 Proceso No. 8 CaCO <sub>3</sub> grado alimenticio	450 180 800 400 360 190 200 350 150	Negativo	Negativo	Negativo

<sup>1</sup>Proveedor "Jo'Ben"
2Proveedor "Liquid Carbonic"
Tabla VI.1

## A) Análisis microbiológico

#### 2.- Análisis post-almacenamiento

El cascarón procesado se almacenó a diferentes temperaturas (21°C y 37°C) durante dos años empacado en bolsas du papel kraft, evitando corrientes de aire y presencia de insectos. Las cuentas obtenidas en ambas temperaturas son muy se mejantes, por lo cual los resultados se exponen en la tabla siguiente:

Muestra procesada	Cuenta de bacterios Organismos Hongos Levaduras Salmonella Otros patógei mesofflicas aerobías(col/g) coliformes(col/g) (col/g) (col/g) (+ 6 -)	nos
Proceso No. 1 Proceso No. 2 Proceso No. 3 Proceso No. 4 Proceso No. 5 Proceso No. 6 Proceso No. 7 Proceso No. 8 CaCO <sub>3</sub> grado alimentic CaCO <sub>3</sub> grado alimentic		

lproveedor "Jo'Ben"

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Proveedor "Liquid Carbonic"

Tabla VL.2

# B) Análisie fisicoquímico 1.- Análisis bromatológico

Muestra original	Humedad Cenizas (Z) (Z)	Grasa cruda (2)	Proteinas Fibra cruda (2)	Sõlidos totsles (Z)	Estracto libre de N2 (%)
Quebrado manual Quebrado mecánico Triturado manual Acumulado (desecho)	23.6050 54.0540 33.6150 45.7070 27.1170 48.9020 20.1070 56.0500	1.2457 0.9223 0.9564 1.1428	4.8590 0.7921 3.1680 0.7243 3.7510 0.3527 4.4130 0.2872	76.3950 66.3850 72.8830 79.8930	15.4442 15.8634 18.9209 18.0000
Procesada					
Proceso No. 1 Proceso No. 2 Proceso No. 3 Proceso No. 4 Proceso No. 5 Proceso No. 6 Proceso No. 7 Proceso No. 8	0.6489 74.6931 0.5148 75.9560 0.9742 74.1315 0.5354 75.0821 0.6500 75.9000 0.9014 73.2292 1.3200 69.500 0.6807 75.1048	9.6502 0.1459 0.2141 0.7362 0.6800 0.2130 0.1100 0.6649	5.2431 0.4297 3.8620 0.4713 4.0122 0.4940 5.0104 0.4689 5.2300 0.5100 4.9400 0.3412 4.9700 0.2300 5.0215 0.4578	99.3511 99.4852 99.0258 99.4646 99.3500 99.086 98.6800 99.3193	18.3350 19.0500 20.1740 18.1670 17.0300 20.3752 24.3100 18.0703
CaCO <sub>3</sub> grado alim. 1 CaCO <sub>3</sub> precipitado <sup>2</sup>	0.5698 98.1840 0.2580 98.7572			99.4302 99.7420	

Proveedor "Jo'Ben"

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Proveedor "Liquid Carbonie" Tabla VI.3

B) Análisis físic químico 2.- Determinación de culcio y otras características físicoquímicas.

Muestra Calcio original (%)		dnd libre Gravedad ospac <u>f</u> 2) fica aparente. (g/ml.)	Pinura (Z)	pll -
Quebrado manual 25.93 Quebrado mecánico 36.44 Triturado manual 36.50	0.14 0.0 0.17 0.0 0.19 0.0 0.20 0.0	81 52 43		9.3 9.5 9.5 8.9
Acumulado (desecho) 36.72				
Process No. 1 36.74 Process No. 2 36.89 Process No. 3 36.61 Process No. 4 36.71	0.18 0.0 0.15 0.0 0.17 0.0 0.20 0.0	32 1.235 34 1.248 69 1.224	46% pasa malla 150 47% pasa malla 150 47% pasa malla 150 46% pasa malla 150	9.4 9.2 9.2 9.0
Proceso No. 4 30.71 Proceso No. 5 36.73 Proceso No. 6 36.84 Proceso No. 7 35.15 Proceso No. 8 36.80 CaCOn grado alim. 1 38.50	0.19 0.0 0.19 0.0 0.17 0.0 0.18 0.0 0.18 0.0	77 1.214 51 1.619 42 1.222	46% pasa malla 150 45% pasa mulla 150 20% pasa mulla 40 95% pasa malla 150 45% pasa malla 150	9.0 9.0 8.9 9.0

<sup>1</sup>proveedor "Jo'Ben" 2proveedor "Liquid Carbonic" Tabla VI.4

D I S C U S I O N D E R E S U L T A D O S Y R E C O M E N D A C I O N E S

#### VII DISCUSION DE RESULTADOS Y RECOMENDACIONES.

#### A.- Discusión de resultados.

Las operaciones sanitarias se consideran fundamentales para el mejoramiento en las condiciones de manejo de los desechos en una planta, ya que ofrecen un beneficio en las áreas de limpieza y orden, incrementando la productividad dentro de la misma, continuando de esta manera con las prácticas de manufactura. Por ello los procesos descritos anteriormente son evaluados con el fin de obtener un producto con características óptimas de calidad y rendimiento para el consumo tanto animal como del hombre.

A continuación se hace un examen comparativo de los análisis efectuados después de cada proceso. Cabe aclarar que tanto los procesos como los análisis se realizaron en forma repetitiva hasta encontrar resultados constantes o sin discrepancias.

En primera instancia se determinaron los análisis del cascarón de acuerdo al origen de la toma de muestra, es decir, si fue quebrado - manualmente o en forma mecánica y cuando éste se tritura en los tambos de 200 kg., para pasar a depositarse junto con todos los desperdicios de la planta.

En cuanto los análisis microbiológicos se observó que a medida que pasa el tiempo de lavado del cascarón, se eleva el grado de contaminación y por consiguiente su cuenta bacteriana; debido principalmente al gran contenido de nutrientes que posee la clara adherida y en ocasiones también de yema; por ello las celulas de Salmonella que pudiesen es tar presentes en la cóscara del huevo entero, se desarrollan con gran facilidad en este medio húmedo, a pesar de la presencia del detergente y/o hipoclorito. El análisis fisicoquímico do muestra diferencias significativas en las cuatro tomas de cascarón, a excepción del contenido de humedad, el cual se ve reducido cuando se acumula en los desechos—por la presencia del sol. El porcentaje de calcio es semejante en todos ellos. No se les determinó gravedad específica ni granulometría porque el tamaño de partícula no lo ameritaba.

Basandose en que el cascarón de huevo en polvo parte de diferentes condiciones iniciales y sufre diversos procesos de secado. Se han revisado los puntos generales y se tiene que todos los procesos nos dan efectividad de resultados ya que al producto se le han logrado eliminar todos los gérmenes patógenos y reducir en gran parte la cuenta microbio lógica, garantizando de esta manera una vida de anaquel de por lo menos dos años para ser comestible, puesto que el contenido de humedad de aproximadamente 1% impide la proliferación microbiana.

El análisis bromatológico no ofrece discrepancia en cada uno de los procesos, sólo se observa una disminución de proteínas cuando el --cascarón se lava en autoclave o centrifuga, porque se arrastra cierta cantidad de clara adherida. Por lo mismo se pueden eliminar cualquiera de estos pasos y por consiguiente reducir el costo y tiempo de opera--ción, aunque se haya reducido el contenido de humedad antes de entrar al secador.

El contenido de calcio de aproximadamento 36% permanece mas o me nos constante en los ocho procesos, siendo ligeramente menor al carbona to de calcio que se encuentra en el mercado, pero ésto puede ser de importancía secundaria considerando que el cascarón posee otros componentes (proteínas, fibras o sales minerales) asimilables en una dieta tanto animal como humana, dándole la capacidad y ventaja de competir con otros proveedores de una materia prima pensada como fuente de calcio a nivel nutricional.

La granulometría o finura de este producto depende básicamente del molino a utilizar ya sea el de martillos o el de turbina, esta característica se ajusta de acuerdo a la finalidad que se desea cumplir.

Con respecto a los otros parámetros fisicoquímicos se observa que se encuentra dentro de especificaciones y que es posible considerarlo un complemento alimenticio en dietas balanceadas.

Haciendo una revisión general de las ventajas y desventajas que ofrece el equipo, se tiene lo siguiente:

- 1.- Auroclave.- Al lavar el cascarón dentro de las canastillas, tiene la inconveniencia de que arrastra el óxido de las paredes del equipo y pierde parte de las proteínas que lleva adheridas a él.
- 2.- Centrifuga.- A pesar de que reduce en gran parte el contenido de agua del cascarón, tiene la desventaja de ser un paso más que antecede al secodo y además baja el porcentaje final de proteína.
- 3.- Cocedor.- Es un equipo bastante sofisticado para este desarrollo ya que no es necesario hidrolizar la proteína del cascarón para hacerla asimilable. Sin embargo, si cumple con la finalidad del secado.
- 4.- Paila.- El cascarón se quema en las paredes de la chaqueta de va por y el mezclado no es homogéneo. El producto final presenta un color ligeramente café. Además su calentamiento es muy lento.
- 5.- Secador charolas.- Fue el punto de apoyo en este trabajo y da re sultados positivos para el secado del cascarón, sin necesidad de que lo anteponga ningun otro proceso después del quebrado mecánico. Por otro lado, se puede decir que la distribución del producto en las charolas de be ser adecuada ya que si es excesiva se incrementa demaslado el tiempo

de secado. Además, se recomienda remover manualmente la posición de los cascarones para que el aire caliente pueda fluir libremente y haye un tiempo de exposición menor.

6.— Secador de vapor rotatorio. Es el equipo idóneo para secar cas carón de huevo ya que el tiempo de operación es mínimo y por consiguien te habrá una mayor producción. La cantidad de cascarón (3.000kg/día) - es muy pequeña para justificar un equipo de esta magnitud.

Por lo anterior, se puede decir que este producto cumple con las condiciones de secado y con las características tanto fisicoquímicas como microbiológicas que requiere el mercado de complementos alimenticios y que está orientado hacia el carbonato de calcio como fuente - de este mineral.

#### B.- Recomendaciones.

Como se ha venido mencionando, la finalidad de este estudio ha sido el encontrar un procedimiento óptimo para secar y moler el cascarón de huevo y cualquiera de los procesos anteriores tienen la capacidad de cumplir con los objetivos fijados.

Dando una mirada general hacia atras se puede justificar la būs queda de la operación de secado en el mismo equipo localizado en la ~- planta, para minimizar el foco de contaminación que produce el cascarón acumulado, pero en realidad esta maquinaría no es de gran utilidad para dar un proceso continuo. Es por lo mismo que se ha seleccionado sólo un equipo de fácil manejo, que elimina pasos intermedios y que pueda re munerar el costo de la inversión. También se ha considerado que hasta el momento sólo la planta proporciona esta materia prima, o sea 3 tons. de cascarón quebrado por día.

Considerando la distribución y las características, específicas de esta planta, se ha definido un sistema operacional del cascarón de huevo, que consiste en optimizar y mejorar el rendimiento, la eficiencia y el tiempo de manejo del producto, que lleva en última instancia a un proceso funcional, limpio y económico. El procedimiento y equipo se leccionado se describen a continuación:

#### 1.- Equipo.

El equipo por el cual se requiere hacer una inversión es: el se cador de charolas y el molino de turbina. El resto de maquinaria es de uso común en la planta y de manera específica, en el quebrado de huevo, por ésto sólo se está dirigiendo el camino del cascarón hacia un proyec to de aprovechamiento.

Las especificaciones del equipo sugerido son:

a) Secador de charolas. – Horno CAISA Mod. ET4-7-4-H (Fig. 24 y 25) con calefacción eléctrica con una temperatura normal de 120°C y una máxima de 150°C.

## a.1) Dimensiones aproximadas:

Interiores	Exteriores
Frente 1.120 mm.	1,560 mm.
Altura 2,100 mm.	2,460 mm. (+458mm. del -
Largo 1,430 mm.	1,740 mm. ventilador de extracción)

- a.2) Construcción.- Tipo túnel, por medio de paneles tipo telescopiados fabricados en lámina C.R. calibre 20 en el interior y lámina C.R. calibre 22 en el exterior, soportados por medio de aditamentos especiales, terminado en pintura de aluminio alta temperatura en el interior y pintura industrial en el exterior. Tendrá piso aislado.
- a.3) Aislamiento.- Fibra de vidrio blanca tipo RW-4150 de 3º (76mm) de espesor, especial para la temperatura.
- a.4) Puertas.- En cada extremo del horno se tendrá una puerta de una hoja de bisagras con cierres a prueba de explosión.
- a.5) Chimenea.- De tiro forzado con un ventilador tipo Jaula de Ardilla, accionado con un motor de 3/4 H.P. de 220/440V, 3F, 60 Cy. Este ventilador tiene la capacidad de eliminar 70 kg/hr. de agua, al producto a tratar. Incluye también sombrero y damper.
- a.6) Distribución.- Por medio de ductos localizados en ambas paredes laterales y ductos de retorno en la parte superior, ambos ajustables para formar un flujo tipo H horizontal y tener así el mayor contacto con el cascarón.
- a.7) Calefacción.- Por medio de un banco de resistencia de alambre en espiral (27kw).
- a.8) Cămara del horno.- Capacidad para 50 charolas dispuestas en dos partes con capacidad de 4kg. en cada una. Las charolas se construyen con cejas y soportes en lâmina calibre 14 de acero inoxidable, calidad 304 y malla de plástico, con dimensiones:

Frente	100	800	mm.
Altura	wei.	. ₹30	mm.
Largo 🔝	22.00	600	шц.

a.9) Condiciones.- El piso donde se instale el horno, deberá estar a nivel y en buenas condiciones. Las conexiones eléctricas deberán ser:

> Circuito de fuerza 220 V, 3F,60Cy Circuito de control 110 V, 1F,60Cy

- b) Molino de turbina.- Turbo molino PULVEX 400, con un rendimiento del 95% y una capacidad de 100 a 150 kg/hr.
- b.1) Sistema.- Turbina de impacto D 12-6A.
- b.2) Construcción.— La turbina de impacto en fundición de acero especial, balanceada, tratada y montada en la flecha de la máquina. Este rotor (turbina de impacto, flecha y pre-triturador), gira sobre rodamientos de bolas de alta velocidad, sobre dimensionados. Forro de molienda dentado desmontable en la parte superior de la cámara de molienda. Criba de media luna (se suministran tree) en la parte inferior de la cámara de molienda, con dispositivos sujetadores. Carcasa en fundición de hierro gris, así como la tapa. Esta tapa gira sobre la bisampra y cierra herméticamente por medio de perilla. Tolva de carga en lámina rolada en frío, reforzada y con compuerta ajustable para regular el flujo del producto hacia la entrada de la cámara de molienda.
- b.3) Movimiento uniforme.- Por medio de poleas, correas trapezoides y motor eléctrico de 15 C.F. 220-440/60/3, TECCV.
- b.4) Montaje.- Sobre caballete tubular con plancha en placa de 9.5mm, con tolva de descarga de dos salidas, cada una con válvula de mariposa de 152mm Ø, cubre-correas, rieles tensores para el motor, cuatro man-gas-filtro para captar finos y desalojar aire, y cuatro dispositivos sujetadores para las mangas-filtro.

#### 2.- Proceso.

- a) Quebrado del cascarón.- Se realizará de la misma forma acostumbrada en la máquina quebradora de huevo.
- b) Triturado.- Un obrero se encargara de triturar manualmente el cascarón con un aprisionador, de la manera que se ha venido haciendo.
- c) Secado en el secador de charolas.— El mismo trabajador pesa y -coloca los 4kg. de producto sobre las 50 charolas; durante este lapso (20 minutos) se aprovecha para programar el secador y que alcance la -temperatura de 120°C.

Una vez colocadas las 50 charolas la temperatura se abate a 65°C y el tiempo de recuperación es de una hora. Una vez alcanzados los -- 120°C se mantiene el producto durante 20 minutos, para remover ligeramente el cascarón con una pala en forma manual. Mantener de 15 a 20 - minutos más y vaciar. Colocar de la misma manera, más muestra en cada charola.

- d) Molienda.- El molino que se recomienda usar es el de turbina ya que se obtiene un tamaño de partícula menor. El tiempo que tarda en moler una carga de cascarón salida del secador es de aproximadamente 60 minutos (entre 130 y 160kg).
- e) Empaque.- A la salida del molino se colocan las dos bolsas de -papel kraft, que contendran cada una 40 kg. de cascarón en polvo. El cocer las bolsas es casi instantáneo. En estos dos últimos pasos se -continua trabajando con el mismo obrero.

### DIAGRAMA DE BLOQUES

QUEBRADO MECANICO DEL CASCARON



TRITURADO MANUAL



SECADO EN CHAROLAS



MOLIENDA (MOLINO DE TURBINA)



EMPAQUE

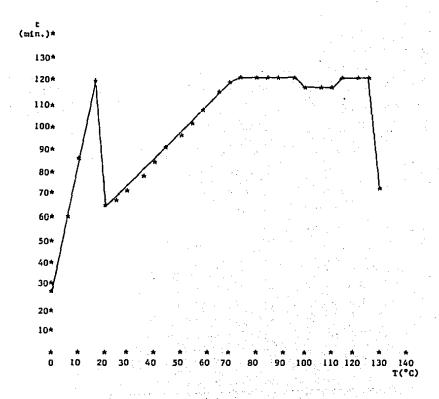
#### Aspectos técnicos del secado.

a) A continuación se describen algunos datos experimentales obtenidos en la prueba de secado. Condición 20% humedad inicial, hubo perdidas durante el transporte de la muestra hacia el secador.

Relación tiempo - temperatura.

Operación	Tiempo (min.)		Temperat	:ura
Encendido horno	n		28	
Manager House	5		60	y i
Precolentamiento (15min.)	10 15	连属语言	85 120	AL Ş
Introducción de Charolas (5 min.)	20		. 64	
	25 30		66 70	
	35		76	
기계에 되는 일이 남편 하는 말로?	40 45		83 88	
	50		94	
	55 60		100	
	65		114	
Levente de temperatura (55 min.)	70 75		118 120	
revalue de remberardia (35 min)	80		120	
	85 90		120 120	
	95		120	
Mantenimiento de la temperatura a- 120°C (20 min.)	100 105		116 116	
	110		116	
Remosión del cascarón (15 min.)	115 120	rania Taliakwa 1901 i	120 120	.es. 5
Mantenimiento de la temperatura a-	125		120	٠, .
120°C (15 min.) Apagado de la resistencia y encen-	130		72	
Aldo del ventilador				

#### CURVA DE SECADO



Relación Tiempo - Temperatura

b) Balance de materia.

Para 200 kg. de cascarón con 30% de humedad se tiene:

Cascarón húmedo - Cascarón seco + Agua eliminada

Basandose en la ecuación siguiente:

Donde:

Wi = Peso cascarón húmedo = 200 kg.

Wf = Peso cascarón seco = ?

Hi = Humedad inicial del cascarón = 30%

Hf = Humedad final del cascarón = 12

Wf = 161.62 kg. de cascarón con 1%

Por lo canto la cantidad de agua que se debe eliminar es de -38.38 kg

c) Balance de energía. A continuación se calcula la cantidad de energía térmica necesaria para secar el cascarón.

Para calcular el calor en este proceso se considera como temperatura media de secado 90°C. Por consiguiente el calor será la suma

Donde:

- Q1 = Calor sensible, necesario para calentar el cascarón húmedo de 20°C a 90°C;
- Q2 = Calor latente de evaporación (de 38.38 kg. de agua evaporada) a 90°C.
- Q<sub>3</sub> = Calor sensible, necesario para calentar el cascarón seco y el vapor da agua de 90°C a 120°C.

Como ya se mencionó esta consideración se hace para facilitar - los cálculos y el error se minimiza, de otra forma se tendría que hacer el cálculo en períodos más reducidos de tiempo.

Por lo anterior las equaciones son:

$$\lambda$$
 vap H<sub>2</sub>O a 90°C (194°F) = 980.18  $\frac{\text{BTU}}{\text{1b}}$   
980.18  $\frac{\text{BTU}}{\text{1b}} \times \frac{1 \text{ Kcal}}{3.9657 \text{BTU}} \times \frac{2.2051 \text{b}}{1 \text{ kg}} = 544.99 \frac{\text{Kcal}}{\text{kg}}$ 

Por consiguiente:

El Cp del cascarón seco es:

$$T = \frac{120 + 90}{2} = 105 ^{\circ}C$$

Cp (CaCO<sub>3</sub>)<sub>105</sub>°C = [19.68 + 0.01189 (378) - 
$$\frac{307600}{378}$$
] x  $\frac{1}{PM}$   
Cp (CaCO<sub>3</sub>)<sub>105</sub>°C = 0.2202

Por lo que:

Enconces:

$$Q_3 = 161.62 (0.228) (120°C - 90°C) + 38.38 (0.456) (120°C-90°C)$$

$$Q_3 = 1630.5 \text{ Keal}$$

Sumando  $Q_1 + Q_2 + Q_3$ :

$$Q_T = 6230 + 20,917 + 1630$$

QT = 28,777 Kcal

 $Q_T = 114,194.44$  BTU

El tiempo experimental <sup>1</sup>de secado es de 105 minutos equivalente a 1 hora 45 minutos.

Un cálculo teórico no se realizó por carecer de datos suficientes, pero puede consultarse la ec.(7.10-12) de Geankopolis,Ch: Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias. CECSA, Máxico, 1986. p474.

Entonces:

114,194,44 BTU se necesitan para secar el cascarón en 1 hora - 45 minutos.

Por consiguience en una hora:

Q = 65,253.96 BTU × 
$$\frac{1 \text{ KW}}{3415 \text{ BTU}}$$

Q = 19.1 Kw/hr.

En base a que el secador contiene un banco de resistencias de -- 27 Kw, se puede obtener la eficiencia del equipo.

Efficiencia = 
$$\frac{19.1}{27}$$
 × 100

Eficiencia = 70.77 %

Por lo anterior se puede decir que el equipo brinda un calenta--miento adecuado en nuestro producto.

## EVALUACION ECONOMICA

#### VIII. EVALUACION ECONOMICA.

Para concluir con este proyecto se debe hacer mención de uno de los puntos más importantes que es el estudio económico<sup>1</sup>; con el fin de ver la rentabilidad del proceso de secado y molienda del cascarón. Sólo se tomarán en cuenta los gastos que implican la inversión en un nuevo -equipo o material, no se aplicara el costo de la maquina que es de uso común para este proceso, es decir, con la que ya se ha venido trabajando para quebrar huevo y obtener por separado la clara, la yema y el casca-rôn.

Por ello los aspectos a considerar son:

- A) Inversión fija.
- B) Costos de operación.
- C) Precio venta.
- D) Capital de trabajo.
  - E) Inversión total.
  - F) Utilidad bruta.
  - G) Utilidad neta.
- H) Rentabilidad del proyecto.
- I) Punto de equilibrio.
- Inversión fija.
- Costos directos.
- Equipo. Dentro de este punto se consideran: a)
- Equipo de proceso.- Consiste en todo el equipo básico, necesariopara el secado y la molienda del producto.

Horno ET-474-H	\$34'200,000
50 charolas	\$ 61250,000
Molino de Turbina 400	\$141420,604
COSTO EQUIPO DE PROCESO	\$54'870,604

Equipo de servicios. - Se refiere al equipo necesario para el funcionamiento dentro del proceso. Se considera un 10% del equipo de proce

#### COSTO EQUIPO DE SERVICIOS \$5'487.060

a.3) Instalación -- Referente a la instalación del equipo y servicios. Se estima un 10% de todo el equipo.

#### COSTO DE INSTALACION s 6'035.766

<sup>&</sup>lt;sup>l</sup>Los costos corresponden al segundo bimestre del año 1988, en moneda na⊶ cional.

a.4) El costo del edificio y terreno no se toma en cuenta en este estudio.

TOTAL ACTIVO FIJO DIRECTO \$66'393.430

2.- Costos indirectos.- Corresponde al estudio de investigación. En este caso no tiene cargo.

TOTAL INVERSION FIJA \$66'393.430

- B.- Costos de operación.
- I.- Costos variables.
- a) Materias primas. Por tratarse de un producto de desecho, el cascarón no tiene costo: Pero, si en un momento dado se llegase a pensar en aumentar la producción, se consideraría el flete (\$50,000/4 Tons); o el precio que le asignara a la compañía que se recoge.

En el caso de este proyecto se toma en cuenta el cascarón de la misma planta.

 Mano de obra directa. Es la que está involucrada directamente en la manufactura del producto y se fija por las condiciones del proceso.

> Número de obreros: un obrero por turno Salario: \$ 8,000 + 35% de prestaciones = \$ 10,800 Por dfa: \$21,600 Por año: \$21,600 x 7 x 52 = \$ 7'862,400

> > COSTO MANO DE OBRA DIRECTA \$ 7'862,400

- c) Servicios al proceso.
- c.l) Agua.- Se considera el gasto para lavar. Gasto Aproximado: 400 1/día = 0.4 m<sup>3</sup>/día 0.4 x 5 x 52 = 104 m<sup>3</sup>/año Costo unitario: \$ 617:/ m<sup>3</sup> agua

COSTO DEL AGUA \$64,168 /año.

c.2) Electricidad.- Se consideran por el secador, ventilador y molino.

Gasto estimado - 450 KWH/día - 450 x 5 x 52 - \$117,000 KWH/año.

Costo unitario - \$140/hr.

COSTO ELECTRICIDAD \$16'380,000/año.

COSTO TOTAL DE SERVICIOS AL PROCESO \$ 16'444,168/año.

d) Empaque. - Dobie bolsa de papel Kraft im x 0.5m, y una bolsa de --PVC interior para 40 kg. de cascarón.

Producción aproximada de cascarón: 2,400 kg/día.  $2,400 \times 5 \times 52 = 624,000 \text{ kg/año}$ .

Cantidad de bolsas papel: 31,200 bolsas/año Precio unitario: \$ 150 Costo bolsas papel: \$ 4'680,000 /año Cantidad bolsas PVC: 15,600 /año Precio unitario: \$ 176 Costo bolsas PVC: \$ 2'745,600 /año

Cantidad de hilo torzal (algodón): 1.5 m/costal 23.400m/año

Equivalente a 5.192 Kg/año

Precio unitario: \$ 9,000/Kg. Costo del hilo: \$46,728 /año

COSTO TOTAL DE EMPAQUE: \$7'472.328 /año

TOTAL DE COSTOS VARIABLES: \$31'778.896 /año

#### 2.- Gastos fijos.

a) Mano de obra indirecta. Corresponde al personal no directamente relacionado con la producción pero necesario para que la planta realice sus funciones. En este caso se tomó un 67 de los costos variables.

COSTO MANO DE OBRA DIRECTA: \$ 1'906,734

b) Mantenimiento.- La mano de obra de mantenimiento se calculó dentro de la mano de obra indirecta. Los costos de materiales y refacciones se calculan como un porcentaje del costo del equipo instalado. En este caso es un 2%.

COSTO MANTENIMIENTO: \$1'097.412

c) Supervisión.- Generalmente se calcula como un 12% de los costos de mano de obra directa e indirecta.

COSTO SUPERVISION: \$1'172.296

d) Depreciación. - Se considera un 10% para equipo.

DEPRECIACION ANUAL: \$ 5'487,060

AMORTIZACION ANUAL: \$22'131.143

f) Seguros.- Representa el 2% del valor por asegurar como es la maquinaria.

SEGURO ANUAL: \$1'097,412

GASTOS FIJOS ANUALES: \$32'892.057

TOTAL DE COSTOS DE OPERACION: \$64'670.953

C .- Precio de venta.

Precio - Costos de operación + 407 utilidad Producción diaria por días laborables

Precio por kilogramo = $\frac{64^{\circ}670,953 \times 1.4}{2,400 \times 260}$ 

Precio/Kg. cascarón = \$ 145

D.- Capital de trabajo.

El capital de trabajo es un elemento de la inversión total de un proyecto que consiste en el dinero que se tiene que tener invertido enla empresa para que ésta pueda operar además de la inversión de capital fijo.

Los elementos del capital de trabajo son los siguientes:

1.- Activo circulante.

Son las cajas, bancos y bonos. Se debe calcular lo necesario para cubrir los gastos indirectos de producción y gastos de administración durante un período de 8, 15 6 30 días. Consiste principalmente en la mano de obra directa y gastos administrativos.

Para un cíclo de un mes:

A) Mano de obra.

Directa \$ 655,200 Indirecta \$ 158,894 Mantenimiento \$ 91,451 Supervisión \$ 97,691

b) Clientes (cuentas y documentos por cobrar). El crédito al cliente varía segun la naturaleza del mercado en el que se trabaje. Pudiera ser desde ventas al contado o crédito por 30 6 60 días. Tomando un promedio para 45 días de crédito.

CREDITO - \$ 15'660,000

- c) Inventario del producto terminado, en proceso y como materia prima. Dependerá del mercado en que se está.
- c.1) Materia prima.- Hasta el momento sin cargo.
- c.2) Empaque.

Bolsas papel para 30 días:

$$(120 \frac{\text{bolyas}}{\text{dis}})$$
 (30 diss) (\$\frac{150}{\text{bolya}} = \$540.000

Bolsas PVC:

Hilo torzal:

(0.0199 
$$\frac{\text{Kg.}}{\text{d} x}$$
) (30  $\frac{\text{d} x}{\text{d} x}$ ) ( $\frac{(\$ 9,000)}{\text{Kg.}}$ ) = \$5,392

INVENTARIO TOTAL DE EMPAQUE: \$ 862,192

c.3) Producto terminado para 30 días:

(2.400 
$$\frac{\text{Kg.}}{\text{dka}}$$
) ( $\frac{\text{S}}{\text{145}}$ ) (30 d $\frac{\text{fas}}{\text{s}}$ ) = \$ 10'440,000  $\frac{\text{Kg.}}{\text{Kg.}}$ 

PRODUCTO TERMINADO: \$ 10'440,000

TOTAL DE CAPITAL DE TRABAJO: \$ 27'965.428

#### E.- Inversion total.

La inversión total equivale a la suma de la inversión de activo fijo más el capital de trabajo:

INVERSION TOTAL: \$ 94'358.858

F.- Utilidad bruta.

Es el 40% de los costos totales de operación:

\$ 64'670,953 (0.40) - \$ 25'868,381

UTILIDAD BRUTA: \$ 25'868,381

G .- Utilidad netn.

Es el producto de la utilidad bruta por el porcentaje de impuestos y reparto de utilidades. Generalmente es un 50% de la utilidad bruta:

\$ 25'868,381 (0.5) = \$ 12'934,190

UTILIDAD NETA: \$ 12'934,190

H .- Rentabilidad del proyecto.

Es el coeficiente del valor de la utilidad neta entre la inver--- dión total.

R= 13.71 %

1.- Punto de equilibrio.

Este parámetro indica a que espacidad operará la unidad sin que haya pérdidas.

Cálculo del punto de equilibrio en función de la capacidad.

Ventas anuales = \$ 145 x 260 dfás x 2.400 kg \_ \$90'480,000

$$PE_C = \frac{$32'892.057}{$9'480.000 - $31'778.896} \times 100$$

 $PE_c = 56.033 %$ 

b) Cálculo del punto de equilibrio en función de ventas.

$$PE_{V} = \frac{\$ 32'892,057}{1 - \frac{\$31'778,896}{\$90'480,000}}$$

 $PE_v = $50^{\circ}699,103$ 

c) Cálculo gráfico del punto de equilibrio (Gráfica I).

Las variables necesarias para su determinación son:

Costo fijo anual: \$ 32'892,057
Total de costos de operación: \$64'670,953
Ventas anuales: \$145 x 260 x 2,400: \$90'480,000
Utilidad neta: \$12'934,190

Por otro lado si se considera con precio de venta superior a \$145, por ejemplo de \$ 300 se está aun en ventaja con respecto a los competidores (\$ 500 y \$ 720).

Entonces la venta anual es:

\$ 300 x 260 dfds x 2,400 kg = \$187,200,000

Y la utilidad se obtiene:

Precio - Costos de operación x utilidad Producción diaria x días laborables

Utilidad =  $\frac{2,400 \times 260 \times 300}{64,670,953}$ 

Utilidad = 2.89 Equivalente a un 189 X

La utilidad bruta es el 1.9 % de los costos de operación: 64'670,953 (1.90) = \$122'874,810

UTILIDAD BRUTA = \$ 122'874,810

La utilidad neta:

122'874,810 (0.5) = \$61'437,405

UTILIDAD NETA - \$61'437,405

Por lo tanto la rentabilidad del proyecto con un precio de venta de \$ 300 es:

$$R = \frac{61'437,405}{187'200,000} \times 100$$

$$R = \frac{32.82 \text{ Z}}{2}$$

El cálculo del punto de equilibrio para este caso es:

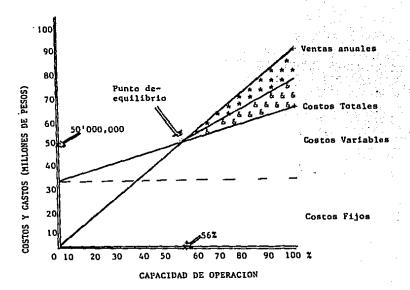
$$PE_{ventas} = \frac{$32.892,057}{1 - $31.778,896} \\ \hline $187.200,000$$

En cute caso el cálculo gráfico se expresa de la siguiente manera (Gráfica 11):

Costo fijo anual: \$ 32'892,057
Toral de costos de operación: \$64'670,953
Ventas anuales: \$ 187'200,000
Utilidad neta: \$ 61'437,405

Como se puede observar en la Gráfica II, se tiene una capacidad de operación menor y a su vez una mayor utilidad.

#### PUNTO DE EQUILIBRIO

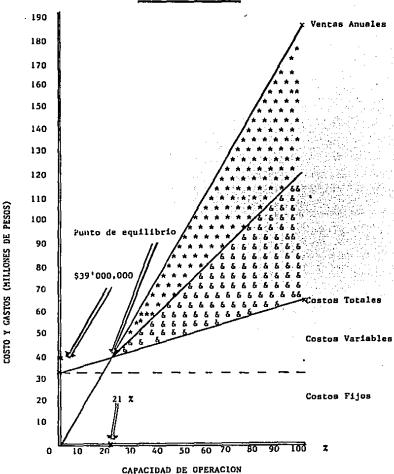


\*\* Utilidad Neta.

🏂 Impuestos y Reparto de Utilidades.

\*\* + 65 = Utilidad Bruta.

Gráfica I : Para un precio de venta de \$ 145.



📬 Utilidad Neta.

Gráfica II: Para un precio de venta de \$ 300.

<sup>55</sup> Impuestos y Reparto de Utilidades.

<sup>🎎 + 🥳 =</sup> Utilidad Bruta.

## CONCLUSIONES

#### IX. CONCLUSIONES.

Por medio de este estudio y en base a los resultados obtenidos se puede concluir que el proceso es rentable y satisfactorio.

El conseguir este tipo de operación ayudará a mejorar las condiciones de la planta evitando un foco más de contaminación y consiguiendo un provecho tanto para el productor como para el consumidor, ya sea el avicultor o el fabricante de alimentos balanceados.

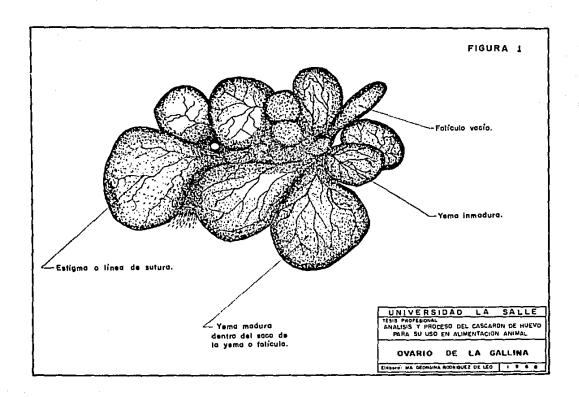
El cascarón de huevo en polvo tiene la capacidad de competir con el carbonato de calcio grado alimenticio ya que cumple con todas las especificaciones y añade otras a su haber, como lo es el contenido de proteínas, fibra y sales. Su color a pesar de ser "marfil" es aceptable y aplicable a infinidad de formulaciones de dietas infantiles y adultas. Tiene facilidad de almacenamiento, mayor vida útil, pudiendo ser además utilizado en gran variedad de alimentos preparados o compuestos.

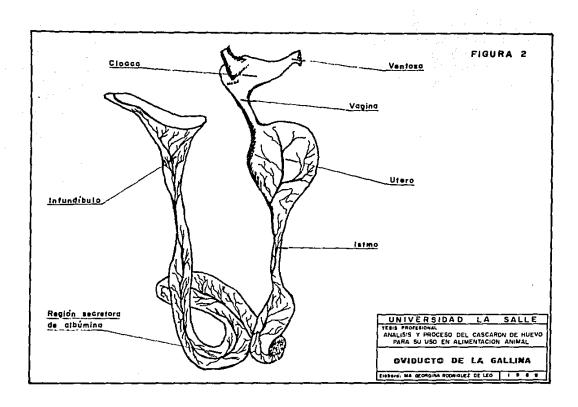
Otra ventaja de este producto es su precio de venta fijado en --- \$ 300 contra \$ 500 y \$ 720, como se encuentra en el mercado acutal.

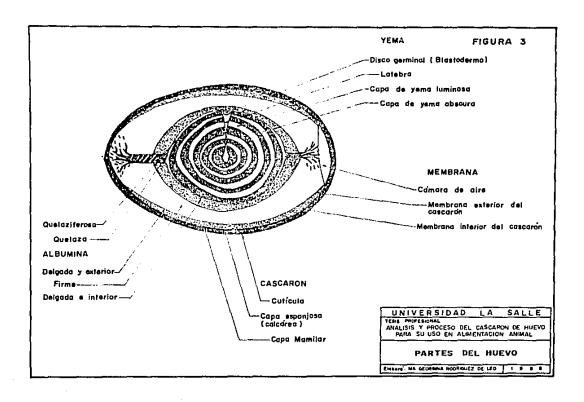
La capacidad del equipo satisface la producción y da la opción a utilizarse para deshidratar otros productos de desecho alimenticio en - la misma empresa.

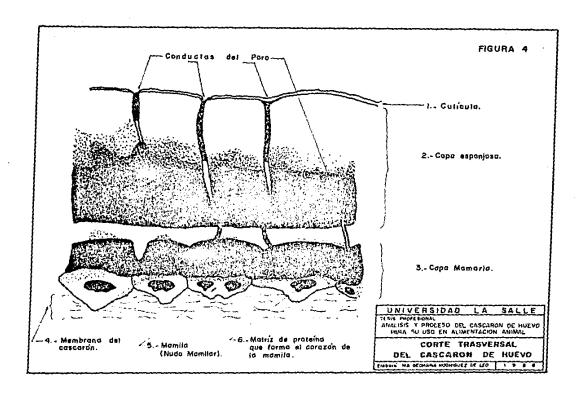
Por lo anterior, se considera conveniente hacer un estudio posterior para incrementar el secado de esta materia prima, recogiendolo o - comprándolo a diversas compañías que quiebran huevo. Sugiriendose tam-bién utilizar un equipo con sistema de secado rotatorio, para obtener ma yores dividendos dentro de la compañía.

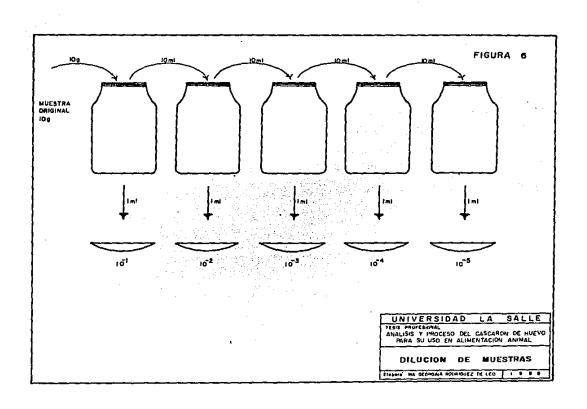
# ESQUEMAS

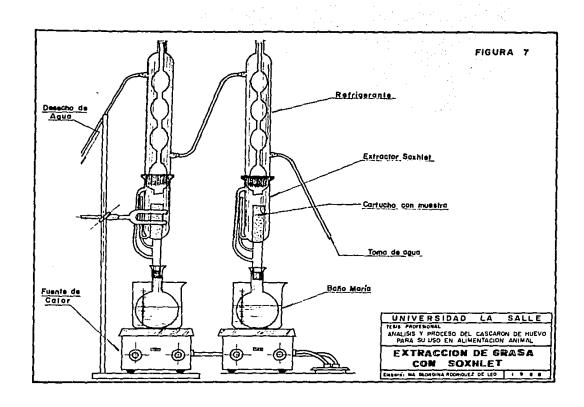


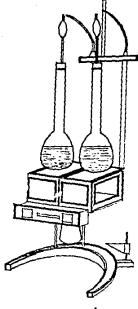




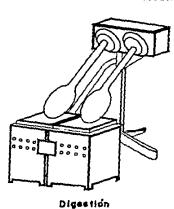












UNIVERSIDAD LA SALLE

ANALISIS Y PROGESO DEL CASCARON DE MUEVO PARA SU USO EN ALIMENTACION ANIMAL

DESTILACION Y
DIGESTION MJELDAHL

Elepera MA GEORGINA PODRIGUES DE LEO | , & B #

FIGURA 9 UNIVERSIDAD SALLE LA TESIS PROFESIONAL ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE HUEVO PARA SU USO EN ALIMENTACION ANIMAL COMPACTADOR MECANICO EIRBONE, MA. GEORGINA ROOMSUEZ DE LED 1 9 8 8

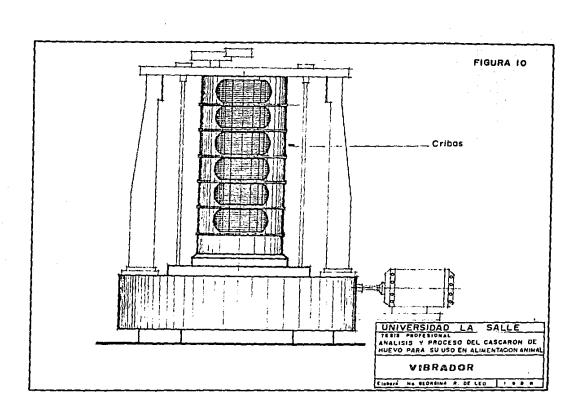
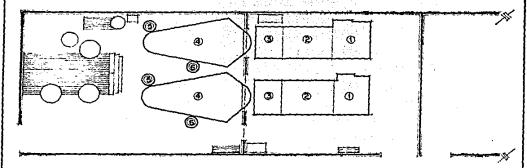




FIGURA II



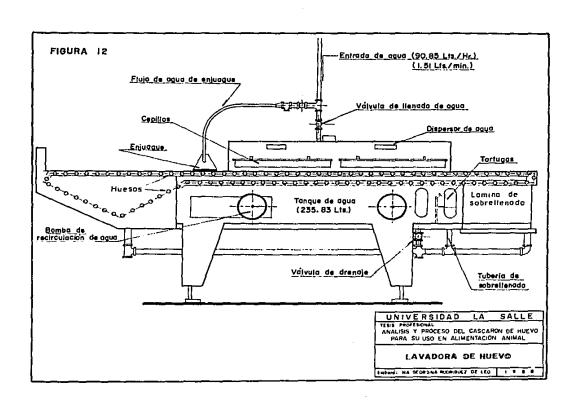
- 1) ALIMENTACION.
- 2) LAVADO.
- 3) SELECCION (OVOSCOPIO).
- 4) QUEBRADO.
- 5) SELECCION SUBPRODUCTOS.
- 6) RECEPCION DEL CASCARON,

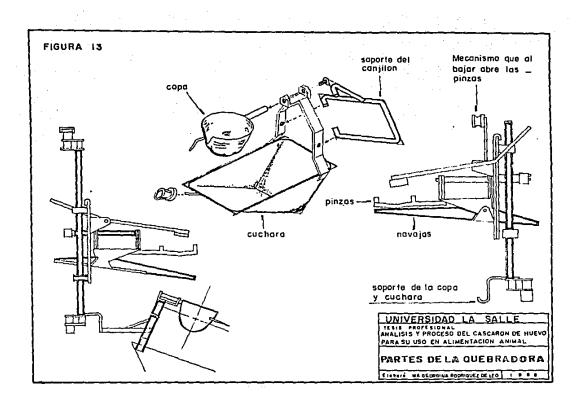
#### UNIVERSIDAD LA SALLE

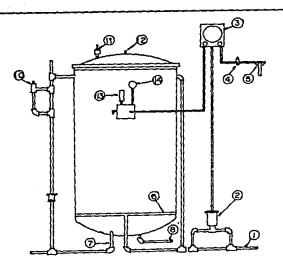
Trus Profesional Analisis y proceso del Cascaron de Huevo Para su uso en alimentación animal

LINEAS DE LAVADO Y QUEBRADO

EMBOY MA. MEDIGINA ROCHINEZ DE LEO | 1 9 4 4







I. Vapor

2. Volvula reguladora

3.\_ Controles 4\_ Valvula reguladora

5. Fittro 8.\_ Distribuidor de vopor

7.\_ Drenoje

8.\_ Agua.

9.\_ Tubo para purgo

IQ. Valvula de alivia II. Volvula de seguridad

12.- Purga de incondensobles 13. Termómetro

14. Monometro.

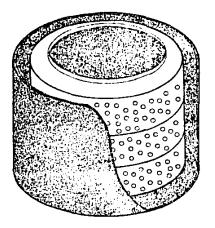
UNIVERSIDAD LA SALLE TESIS PROFESIDANA ANNLISIS Y PROCESO DELOSCARON DE MUEVO PARA SU USO EN ALIMENTACION ANIMAL.

FIGURA 14

AUTOCLAVE VERTICAL

Elabere: MA. SEORSINA HODRISUEZ DE LEO 19 8

## FIGURA 15



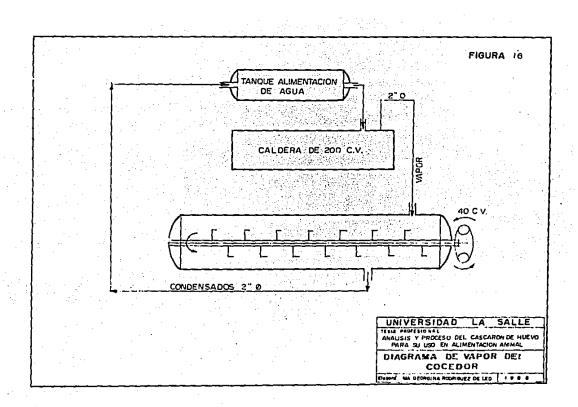
## UNIVERSIDAD LA SALLE

TESIS PROFESIONAL ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE HUEVO PARA SU USO EN ALIMENTACION ANIMAL

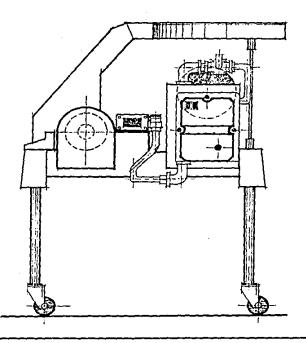
# CENTRIFUGA

Eleberé: MA. SEORSINA ROCRISUEZ DE LEO

. . . .



## FIGURA 17



#### UNIVERSIDAD SALLE

TESIS PROFESIONAL
ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE HUEVO
PARA SU USO EN ALIMENTACION ANIMAL

MOLINO DE MARTILLOS

Elmpré- MA GEORGINA RODINGUEZ DE LED 2 9 8 8

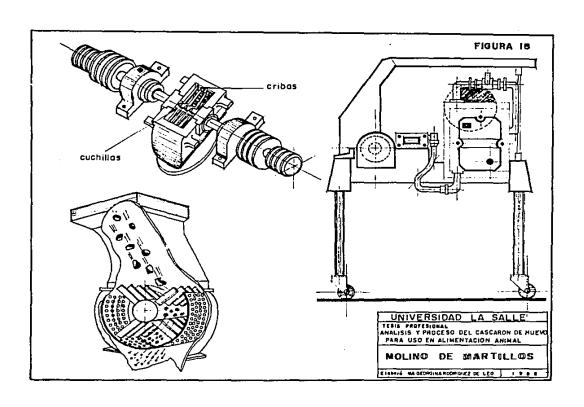
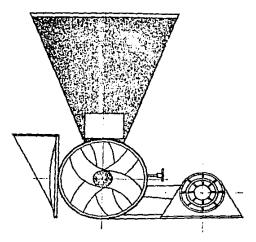


FIG. 19



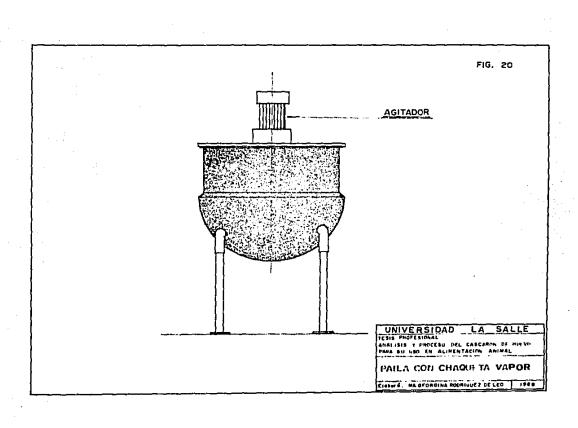
UNIVERSIDAD LA SALLE

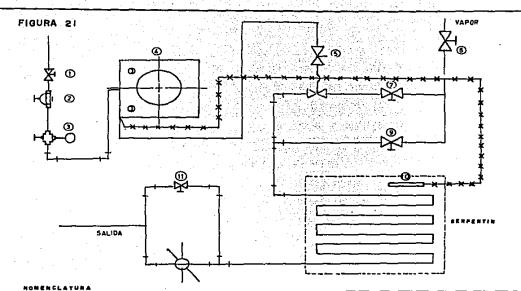
TESIS PROPESIONAL:

ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE NUEVO PARA SU USO EN ALIMENYACION AMIMAL

MOLINO DE TURBINA

Elabord; WA GEORGINA RODRIGUEZ DE 120 | 1988





I... VALVULA ALIMENTACION DE AIRE

3.\_ REGULADOR DE AIRE

----

4.\_ CAJA DE CONTROL

B. VALVULA TAYLOR

S ... VALV, COMP. ALIMENTACION VAPOR

7.\_ VALV. COMP. CONTR LABA

8. VALV. TAYLOR CONTROLAGA

B, .. VALV. COMP. BIRECTA

10- BULBO

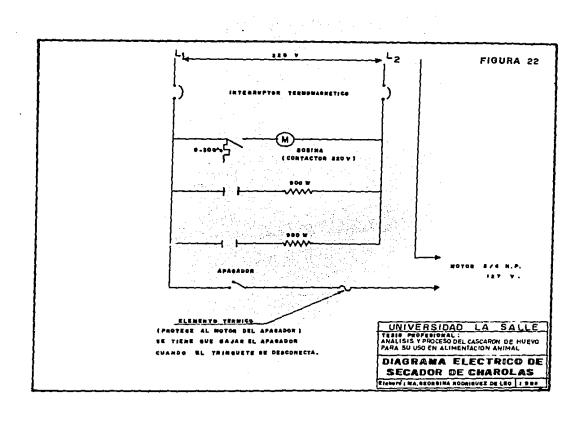
II.- VALV. SLORS PARA PURSA.

UNIVERSIDAD LA SALLE. TROIS PROFESIONAL: ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE H<u>ue</u>

VO PARA SU USO EN LA ALIMENTACION ANNAL DIAGRAMA DE VAPOR DE

SECADOR DE CHAROLAS

Eleboré; MA. GEORGINA RODINGUEZ DE LEO | 1 9 8 8



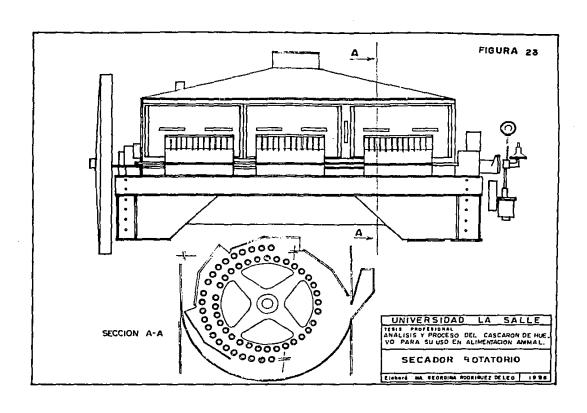
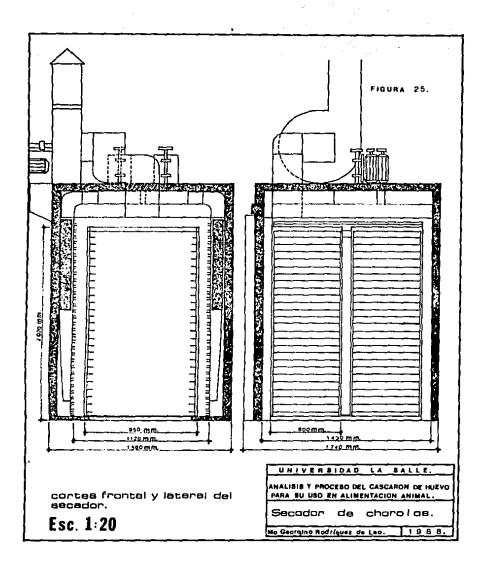


FIGURA 24. UNIVERSIDAD LA SALLE. ANALISIS Y PROCESO DEL CASCARON DE HUEVO PARA SU USO EN ALIMENTACION ANIMAL. Secodor de charalas. Ma Georgina Rodríguez de Leo.



# B I B L I O G R A F I A

## BIBLIOGRAFIA.

- Altomirano, A.: Manuel de Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. 2a. Edición, Departamento de Ciencia y Technología de Alimentos División de Nutrición Experimental y Ciencia de Alimentos, México, 1984.
- Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis. 14s. Ed., AOAC, U.S.A., 1984.
- 3.- Charley, H.: Food Science. John Wiley & Sons, Inc., 1970.
- 4.- Charm, S.E.: The Fundamentals of Food Engineering, 3a Ed. The --AVI Publishing Company, Inc., U.S.A. 1978.
- 5.- Desrosier, N.W.: Conservación de Alimentos. Compañía Editorial-Continental, S.A., U.S.A., 1972.
- 6.- Devl, I.: Yoga para todos. 11s. Edición, Editorial Diana México, 1966.
- Earle, R.L.: Ingenieria de los Alimentos. Editorial Acribia, Zara goza, España, 1979.
- Food Chemicals Codex. 2a. Ed., National Academy of Sciences, Washington, D.C., U.S.A., 1972.
- Foust, A.S. y col.: Principios de Operaciones Unitarias. Compañía Editorial Continental, S.A México, 1970.
- Frazier, W.C.: Microbiología de los Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1976.
- 11.- Genong, W.F.: Manual de Fisiología Médica 7a. Edición, Editorial El Manual Moderno, México, 1980.
- 12.- Gómez G.S. y Urrusti, J.: Estandarización del Proceso Bacteriológico del Programa de Control de Guarderias en la Jafatura de Servicios Médicos en Estados, Campo y Solidaridad Social. Bioxon de México. S.A.. México.
- Graham, H.D.: Food Colloids. The AVI Publishing Company, Inc., --U.S.A., 1977.
- 14.- Himmelbiau, D.M.: Principios y Cálculos básicos de la Ingeniería Química. Compañía Editorial Continental, S.A. México, 1980.
- 15.- Jamieson, M. y Jobber, P.: Manejo de los Alimentos; Ecología del Almacenamiento. Editorial Pax-México, México, 1974.
- 16.- Jamieson, M. y Jobber, P.: Manejo de los Alimentos; Técnicas de su Conservación. Editorial Pax-Héxico, México, 1975.
- Kirk-Othmer: Encyclopedia of Chemical Technology. Ja. Ed., John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., Vol. IV, pp 429-435, 1978.

- Kirk-Othmer: Encyclopedia of Chemical Technology. 3a. Ed., John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., Vol. VIII, pp 429-445, 1979.
- Kirk-Othmer: Encyclopedia of Chemical Technology. 3a. Ed., John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., Vol. XIV. pp 343-382, 1981.
- 20.- Menual de Medios de Cultivo de Bioxon. Bioxon de México, S.A., On xaca, México.
- 21.- Merck Sharp & Dohme International: El Manual Merck. 4a. Ed. , New Jersey, U.S.A., 1968.
- 22.- Mota de la Garza y col.: Manual de Laboratorio de Microbiología Sanitaria, Escuela Nacional de Ciencia Biológicas, I.P.N., México. 1982.
- Mountney, G.L.: Poultry Products Technology. 2a. Edición, The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A., 1976.
- 24.- Ocon, G.J. y Tojo B.G.: Problemas de Ingeniería Química Operaciones Básicas. Ja. Edición, Colección Ciencia y Técnica Aguilar, España, Tomo I, 1980.
- Ocon, G.J. y Tojo B.G.: Problemas de Ingeniería Química Operaciones Básicas. la. Edición, Colección Ciencia y Técnica Aguilar, Es paña, Tomo II, 1980.
- 26.- Orozco, D.F.: Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Porrua, S.A., México. 1979.
- 27.- Pearson, D.: Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1976.
- 28.- Perry, J.H.: Chemicals Engineers Handbook. Mc. Graw Hill Book Company, Inc. U.S.A., 1950.
- 29.- Pike, R.L. y Brown. M.L.: Nutrition, An Integrates Approach. 2a. Ed., John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., 1975.
- 31.- Rase, H.F. y Barrow, M.H.: Ingeniería de Proyectos para Plantas de Proceso. Compañía Editorial Continental, S.A., México, 1981.
- 32.- Romanoff, A.L. y Romanoff, A.J.: The Avian Egg. John Wiley & Sons, Inc., U.S.A., 1949.
- 33.- Standelman, W.J. y Cotterill, O.J.: Egg Science and Technology, -The AVI Publishing Company, Inc., U.S.A., 1973.
- 34.- Vogel, A.I.: Química Analítica Cuantitativa. Editorial Kapelusz, Argentina, Vol. I., 1960.
- 35 .- Yamane, T.: Estadística.3a., Editorial Harba, S.A., México, 1974.
- 36.- Winton, A.L. y Winton, K.B.: Structure and Composition of Foods.
  John Wiley & Sons, Inc. U.S.A., Vol. III, 1949.

### HEMEROGRAFIA.

- a.- Arhienbuwa, F.E., Alder, H.E. y Wiggins, A.D.: A Methods of Survei llance for Bacteria on the Shell of Turkey Eggs. Poultry Sci., - -59: 28-33. 1980.
- b.- Arvat, V. y Hinners, S.W.: Evaluation of Egg Shells as a Lot Cost Calcium Source for Laying Hens. Poultry Sci., 52: 1996, 1973.
- c.- Baker, J.R. y Balch, D.A.: A Study of the Organic Material of Hen's Egg Shall. Biochem. J., 82: 352-370, 1962.
- d.- Britton, W.M.: Shell Membranes of Eggs Differing in Shell Quality from Young and Old Hens. Poultry Sci., 56: 647-653, 1977.
- e. Britton, W.H. y Hale, K.K.: Amino Acid Analysis of Shell Membranes of Eggs from Yound y and Old Hens Varying in Shell Quality. Poultry Sci., 56: 865-871, 1977.
- f.- Cohen, A., Bar, A., Eisner, U. y Hurwitz, S.: Calcium Absortion, Calcium Binding Protein, and Egg Shell Quality in Laying Hens Fed Hydroxylated Vitamin D Derivatives. Poultry Sci., 57: 1646-1651, 1978.
- g.- Damron, B.L. y Harms, R.H.: Interaction of Dietary Salt, Calcium and Phosphorus Levels for Laying Hens. Poultry Sci., <u>59</u>: 82-85, --
- h.- Denton, J.H., Mellor, D.B. y Gardner, F.A.: The Effect of Egg Carton and Case Type on Egg Shell Damage. Poultry Sci., 60: 142-144, 1981.
- 1.- Prank, F.R., Burger, R.E. y Swanson, M.H.: The Relationship among shell membrane, selected chemical properties, and the resistance to shell failure of <u>Gallus domesticus</u> eggs. Poultry Sci., <u>44</u>:63-69 1965.
- j.- Givens, J.W. Almquist, H.J. y Stokstad, E.L.R.: Transmission of -Light Trough Egg Shell. Industrial an Engineering Chemistry, - -27: 972-973, 1935.
- k.- Gleaves, E.W., Mather, F.B. y Ahmad, M.M.: Effects of Dietary Calcium, Protein and Energy en Food Intake, Egg Shell Quality and Hen Performance. Poultry Sci., 56: 402-406, 1977.
- Heath, J.L., Owens, S.L. y Goble, J.W.: Ultrasonic Vibration as an Aid in the Acetic Acid Method of Cleaning Eggs. Poultry Sci., 59: 737-742, 1980.
- m.- Kuhl, H.J., Holder, D.P. y Sullivan, T.W.: Influence of Dietary Calcium Level, Source and Particle Size on Performance of Laying Chickens. Poultry Sci., 56: 605-611, 1977.
- n.- Lott, B.D. y Reece, F.N.: The Effect of Ambient Air Moisture and Temperature on Egg Shell Breaking Strength. Poultry Sci., - - -60: 142-144, 1981.

- e.- Mc. Naughton, J.L.: Effect of Calcium Carbonate Particle Size on the Available Phosphorus Requirement of Broiler Chicks. Poultry --Sci., 60: 197-203, 1981.
- p.- Roland, D.A., Putman, C.E. y Hilburn, R.L.: The Relationship of -- Age on Ability of Hens to Mantain Egg Shell Calcification When - Stressed With Inadequate Dietary Calcium. Poultry Sci., 57:1616-1621 1978.
- q.- Stemberger, B.H., Muller, W.J. y Leach, R.M.: Hicroscopic Study of the Initial Stages of Egg Shell Calcification. Poultry Sci., ~ - -56: 537-543, 1977.
- r.- Stevenson, I.L.: The Removal of Egg Shell Membranes by Enzime Treatment to Facilitate the Study of Shell Microstructure. Poultry Sci., 59: 1959-1960, 1980.
- s.- Stout, J.T. y Buss, E.G.: Influence of the Interval of Shell Deposition on Egg Shell Quality. Poultry Sci., 59: 168-171, 1980.
- t.- Vendepopuliere, J.M., Mc Kinney, C.W. y Walton, H.V.: Value of Egg Shell Meal as a Poultry Feedstuff, Poultry Sci., 52: 2096, 1973.
- u.- Vandepopuliere, J.M., Walton, J.M. y Cotterill, O.J.: Nutritional Evaluation of Egg Shell Meal, Poultry Sci., <u>54</u>: 131-135, 1975.
- v.- Walton, H.V., Cotterill, O.J.: Composition of Egg Shell Wastes from Egg Breaking Plants. Poultry Sci., 51: 1884, 1972.
- w.- Walton, H.V., Cotterill, O.J., Vandepopuliere, J.M.: Composition of Shell Waste from Egg Breaking Plants. Poultry Sci., <u>52</u>: 1836-1840, 1973.