UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Tratamiento de desechos hortofrutícolas utilizando la lombricultura como tecnología para la obtención de harina de consumo humano

TESIS

Que para obtener el título de

INGENIERA EN ALIMENTOS

Presenta:

Castro Esquivel Adriana
Jiménez Gómez Ericka Montserrat

Asesor: Dra. Clara Inés Álvarez Manriques
Co-asesor: I.A. Ana María De La Cruz J.

Cuautitlán Izcalli, Estados de México 2013

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Tratamiento de desechos hortofrutícolas utilizando la lombricultura como tecnología para la obtención de harina de consumo humano

Que presenta la pasante: **Adriana Castro Esquivel**
Con número de cuenta: **304849916** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de abril de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Clara Inés Álvarez Manrique	Clara Inés Álvarez M 29/04/13
VOCAL	Dra. María Eugenia Ramírez Ortiz	
SECRETARIO	IA. Sandra Margarita Rueda Enríquez	
1er SUPLENTE	IA. Miriam Álvarez Velasco	
2do SUPLENTE	IA. Ana María Sabina de la Cruz Javier	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
HHA/pm

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis**

Tratamiento de desechos hortofrutícolas utilizando la lombricultura como tecnología para la obtención de harina de consumo humano

Que presenta la pasante: **Ericka Montserrat Jiménez Gómez**
Con número de cuenta: **305774435** para obtener el Título de: **Ingeniera en Alimentos**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de abril de 2013.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Clara Inés Álvarez Manrique	Clara Inés Álvarez M 29/04/13
VOCAL	Dra. María Eugenia Ramírez Ortiz	
SECRETARIO	IA. Sandra Margarita Rueda Enríquez	
1er SUPLENTE	IA. Miriam Álvarez Velasco	
2do SUPLENTE	IA. Ana María Sabina de la Cruz Javier	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
HHA/pm

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a nuestra universidad por darnos la oportunidad de crecer en todos aspectos. A quienes permitieron fuera posible la realización de esta tesis: gracias a la Dra. Clara Inés Álvarez Manrique y a la I.A Ana María De La Cruz Javier por aceptar ser nuestras asesoras y brindarnos su tiempo y conocimientos. Gracias a la Sección de Básica III a la que la profesora Sandra Rueda nos permitió acceso para llevar a cabo las pruebas químicas necesarias, gracias a ambos Miguel y a Memo quienes cumplen excelentemente su función como laboratoristas y que gracias a ello las pruebas se llevaron en los tiempos establecidos. Gracias a la profesora I.A Ana María Soto por apoyarnos tanto en nuestro proyecto a pesar de no estar ligada como asesora.

Gracias al Maestro Trinidad Alamilla y a la Dra. Adriana Morales por facilitarnos el uso de las áreas verdes de la facultad para llevar a cabo gran parte de la experimentación, también gracias a todos los miembros de la seguridad de Campo 1 por estar al pendiente de nosotras. Gracias a la Dra. María Eugenia Ramírez por apoyarnos siempre que teníamos algún problema y por contactarnos con el Maestro Luis Presuel que nos apoyó con el préstamo del servicio de un equipo de difícil acceso en Campo 1 y aun que los resultados no pudieron ser presentados por cuestión de tiempo, igual se le agradece la disposición de apoyar desinteresadamente nuestro proyecto.

Yo, Ericka Jiménez, quiero agradecer a mis padres por el apoyo que me han dado todos estos años incondicionalmente con el fin de volverme una buena persona que pueda ser independiente, gracias por inculcarme curiosidad en el aprendizaje y la cultura de finalizar mis proyectos. Sin ustedes nada de esto habría sido posible.

Yo, Adriana Castro Esquivel, agradezco:

A Dios por darme la vida y por estar siempre presente en mi familia.

A mis padres y hermano, por su apoyo incondicional, por creer en mí siempre, por el ejemplo de perseverancia y dedicación, los amo muchísimo.

A mi abuelita, por darme su cariño y ser como una segunda madre para mí.

A mis tios por ser un apoyo incondicional en todos sentidos para mi familia.

Oscar, muchas gracias por el amor compartido y palabras de aliento durante este tiempo juntos.

Contenido

RESUMEN 4

INTRODUCCIÓN 5

1. ANTECEDENTES 7

1.1. Generación de desechos en México 7

1.2. Tratamiento de desechos 11

1.3. Descomposición de desechos orgánicos 12

1.3.1. Natural 12

1.3.2. Compostaje industrial 13

1.4. Lombricultura 14

1.4.1. Lombriz para la crianza 15

1.4.2. Acondicionamiento del sustrato 21

1.4.3. Etapas de la lombricultura 25

1.4.4. Explotación de los productos de la lombricultura 27

1.5. Uso de la harina de lombriz para el consumo humano 29

1.5.1. Las proteínas en la nutrición humana 30

1.5.2. Aminoácidos y la salud 32

1.5.3. Calidad proteica 34

1.5.4. Complementación proteica 38

1.5.5. Necesidades proteicas 39

1.5.6. Aspectos nutricionales y producción de la harina de lombriz 40

1.5.7. Seguridad alimentaria 44

2. METODOLOGÍA 47

2.1. CUADRO METODOLÓGICO 48

2.2. ACTIVIDADES PRELIMINARES 49

2.2.1. Recolecta y caracterización de los desechos 49
2.2.2. Compostaje 49
2.2.2.1. Caracterización de desechos 50
2.2.3. Elaboración del sustrato 53
2.2.3.1. Mezclas piloto 53
2.2.3.2. Mezclas experimentales 56
2.2.4. Caracterización de la zona 57
2.2.5. Diseño del lecho de crianza 58
2.3. DESARROLLO DE LOS OBJETIVOS 61
2.3.1. Objetivo particular 1 61
2.3.1.1. Caracterización del pie de cría 61
2.3.1.2. Caracterización del cajón de cría 61
2.3.1.3. Crianza de la lombriz 61
2.3.2. Objetivo particular 2 62
2.3.2.1. Elaboración de la harina de lombriz 62
2.3.2.2. Cuantificación del contenido proteico 63
2.3.3. Objetivo particular 3 63
2.3.3.1. Preparación de la muestra 63
2.3.3.2. Determinación de coliformes 64
2.3.3.3. Determinación de mohos y levaduras 65
3. RESULTADOS 66
3.1. Actividades preliminares 66
3.1.1. Recolecta y caracterización de los desechos 66
3.1.2. Elaboración de las formulaciones /sustrato 67
3.1.3. Ubicación de los cajones 74
3.2. OBJETIVO PARTICULAR 1 75

3.2.1. Caracterización del pie de cría 75
3.2.2. Siembra de lombrices 77
3.2.3. Monitoreo de la crianza 78
3.3. OBJETIVO PARTICULAR 2 98
3.3.1. Elaboración de la harina de lombriz 98
3.3.2. Cuantificación del contenido proteico 98
3.4. OBJETIVO PARTICULAR 3 99
CONCLUSIONES 100
ANEXO 101
Anexo 1-Datos de muestreo de las lombrices inseminadas 101
Anexo 2 -Datos del primer monitoreo 104
Anexo 3- Datos del segundo monitoreo 106
Anexo 4- Datos del tercer monitoreo 107
Anexo 5- Datos del cuarto monitoreo – Datos de peso en la recolección de la muestra en cada cajón 110
Bibliografía 118

RESUMEN

En el presente proyecto fueron aprovechados los residuos de origen hortofrutícola y desecho de cultivo de setas, se establecieron dos tipos de mezclas, el primer tipo se elaboró mezclando desechos hortofrutícolas y ajustándolos en su relación C/N (tasa que relaciona la cantidad de carbono y nitrógeno) con paja hasta obtener valores de 10 y 20, el segundo fue un sustrato patrón con relación C/N=30 dado por el proveedor de lombrices. Se contrastó el efecto de la alimentación con la producción de biomasa, en los primeros dos meses de crianza, la ganancia de peso fue mayor para el sustrato con relación C/N=10 (posee mayor presencia de composta hortofrutícola que los sustratos con relación C/N=20 y 30), duplicando el peso de la lombriz con respecto al sustrato patrón, al final de la crianza la tendencia continua pero las lombrices perdieron peso por la etapa reproductiva que atravesaron. Con la biomasa generada se realizó harina secando a 70°C durante 100 min, posteriormente se cuantificó el porcentaje de proteína presente, siendo mayor en la harina producida por la lombrices criadas con la relación C/N=10; finalmente se determinó la carga microbiana (coliformes totales y mohos y levaduras) como lo establece la NOM-247-SSA1-2008, obteniendo resultados dentro de los límites estipulados y aun que la norma está dirigida para harina de cereal, la harina a base de lombriz tiene características semejantes a ella por lo que al no existir hasta ahora norma para harina a base de lombriz, sirve como parámetro para considerarla apta en el consumo humano.

INTRODUCCIÓN

El problema de la generación de residuos es cada día más grande, conforme aumenta la población se requiere de más recursos para su bienestar, dejando con ello grandes volúmenes de desechos que en su mayoría no son tratados. Tan solo en México se generaron 34.6 millones de toneladas de Residuos Sólidos Municipales (RSM) en 2004 (SEMARNAT, 2005), éstos incluyen los generados por las industrias.

De los RSM, 51% son desechos orgánicos que pueden ser tratados de una manera sencilla y controlada, la lombricultura es una alternativa que además de ayudar al problema de la basura permite obtener productos con valor económico (carne de lombriz y humus) para la industria de los alimentos donde día a día se desechan grandes cantidades de materia orgánica, esto podría abrir un nuevo mercado para este sector industrial.

En países cálidos, como el nuestro, la lombricultura es un sistema productivo sostenible que puede integrarse fácilmente en la industria, ya que garantiza la reutilización de los desechos orgánicos generados, biotransformándolos en un abono orgánico (humus de lombriz) y en biomasa de lombriz, la cual constituye un alimento de alta calidad. Por lo que se reconoce a la lombricultura como un recurso biotecnológico de elevado interés ecológico y nutrimental (Hernández, 2013; Vielma y otros, 2003).

La harina producida por la biomasa de lombriz tiene un contenido alto en proteínas (mayor a 60%) de interés nutricional, ya que proporciona 9 aminoácidos esenciales para la dieta humana, entre ellos es importante mencionar a la lisina, aminoácido que suele estar ausente en los alimentos básicos, el contenido de este aminoácido en la harina de lombriz es significativo (5.9%), ya que satisface los requerimientos para niños entre 2-5 años exigidos por la FAO/OMS (Vielma y otros, 2003), se ha demostrado *in vitro* que esta proteína tiene también alta digestibilidad de nitrógeno (92.73%) (García y otros, 2005b). Además, contiene ácidos grasos esenciales, tales como linoleico y linolénico, vitaminas y minerales importantes en la nutrición humana (Vielma y otros, 2008). Sin embargo, tiene como limitación su bajo contenido de materia seca, no obstante mediante una adecuada tecnología de cultivo con sustratos o mezclas de residuos que sacie sus necesidades, puede obtenerse una alta relación de crecimiento y reproducción; de esta manera puede constituir realmente una fuente de proteína no convencional, sin afectar la calidad del humus generado, la cual podría ser una fuente de ingreso extra (García y otros, 2005b).

En las últimas décadas los estudios realizados demuestran que la harina de lombriz es de alto valor nutricional al ser comparada con otras fuentes proteicas de origen animal como la harina de pescado (Sales, 1996). En los últimos años, la harina de lombriz se ha comercializado para dietas de consumo animal, desplazando a la harina de pescado la cual es utilizada como el aporte proteico en la dieta; incluso para consumo humano ya existen presentaciones en cápsulas como suplemento alimenticio las cuales pueden ser ingeridas desde niños con más de 10 Kg, recomendados para deportistas constantes, personas con desnutrición, con lesiones o deficiencias musculares (Promin-Suplementos e Insumos, 2013). En este tema se han efectuado estudios sobre la aceptación en la dieta humana con galletas enriquecidas con harina de lombriz en la población, haciendo análisis sensoriales del producto elaboradas con harina de lombrices provenientes de diversos sustratos alimenticios (Hernández, 2013). Aunque algunos autores resaltan que el prejuicio cultural y la falta de información de los beneficios que presenta la harina de lombriz son los que no han permitido de manera oficial la utilización en el campo alimenticio humano.

1. ANTECEDENTES

1.1. Generación de desechos en México

Los desechos se vuelven un problema cada vez más grave debido al constante aumento de la población y a su pobre manejo, se vuelven basura inaprovechable esparcida en grandes áreas de terreno; el problema no se limita al área de la ingeniería ambiental ya que solo es un eslabón de una cadena de diversos especialista (ingenieros, ecólogos, biólogos, químicos, biotecnólogos, sociólogos, entre otros) (Gutiérrez y Herrera, 2001; SEMARNAT, 2001). Tan solo en México (ver Figura 1), los residuos sólidos municipales (RSM), incluidos los desechos generados por negocios e industrias de carácter orgánico no peligrosos, ascendió a 34.6 millones toneladas en 2004: 50% se concentran en la región central (17 659 400 t) y 13% más en el D.F. (4 500 450 t) (SEMARNAT, 2005).

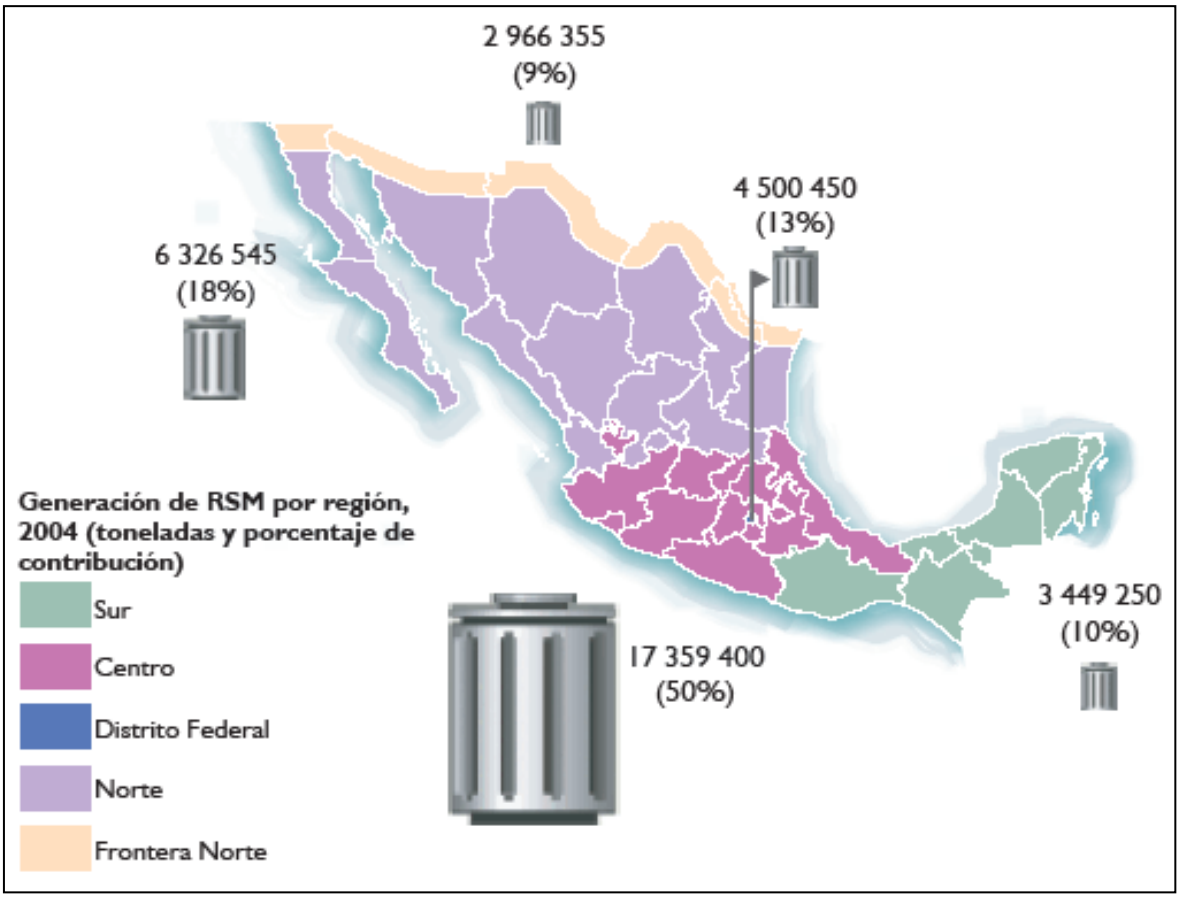


Figura 1 Distribución de la producción de desechos en México (SEMARNAT, 2005)

Desde 1997 hasta el 2004, la zona centro, la frontera norte y la zona sur incrementaron en 24, 35 y 17% respectivamente su producción de RSM (ver Figura 2) (SEMARNAT, 2005).

Otra forma de expresar los desechos generados en México es la generación de RSM per cápita, para

el 2004 se llegó a 328 kilogramos por habitante al año, en los estados más urbanizados se concentra mayoritariamente la producción de desechos (ver Figura 3) (SEMARNAT, 2005).

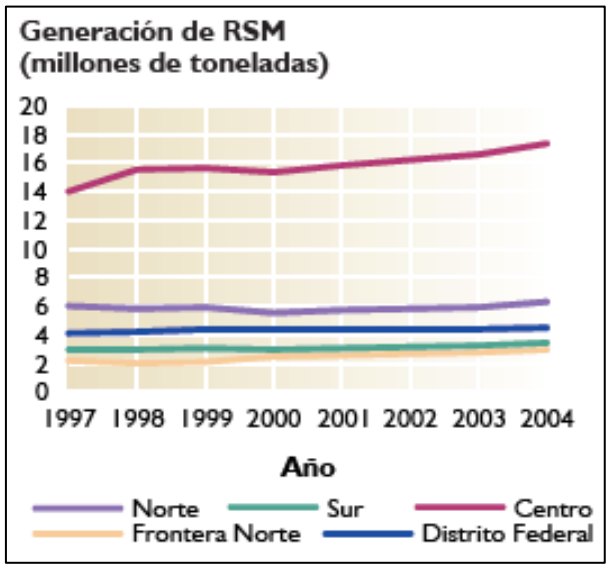


Figura 2 Aumento de la producción de RSM a través de los años (SEMARNAT, 2005)

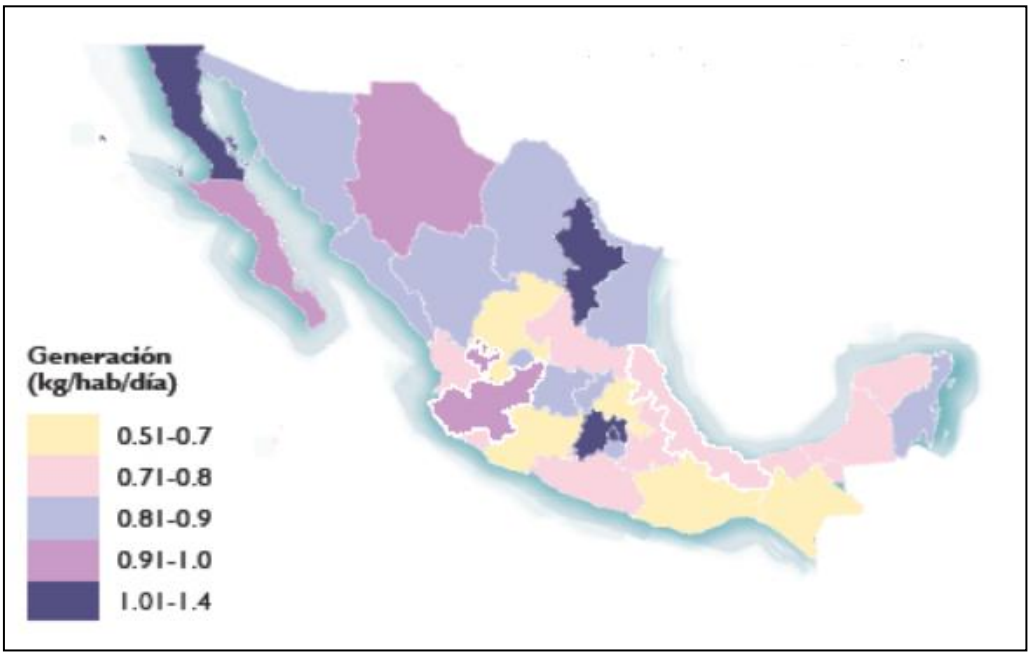


Figura 3 Generación de desechos per cápita por día (SEMARNAT, 2005)

De estos, se conoce la composición de los desecho, la proporción más importante (51%) es de desechos pertenecientes a la categoría de materia orgánica (ver Figura 4) (basura de comida, jardines, entre otros), estos desechos son degradados naturalmente, sin embargo, si no es controlada, se pierden grandes cantidades de nitrógeno a la atmósfera (elemento de suma importancia para las plantas y animales) en forma de amonio que contamina el aire (SEMARNAT, 2005).

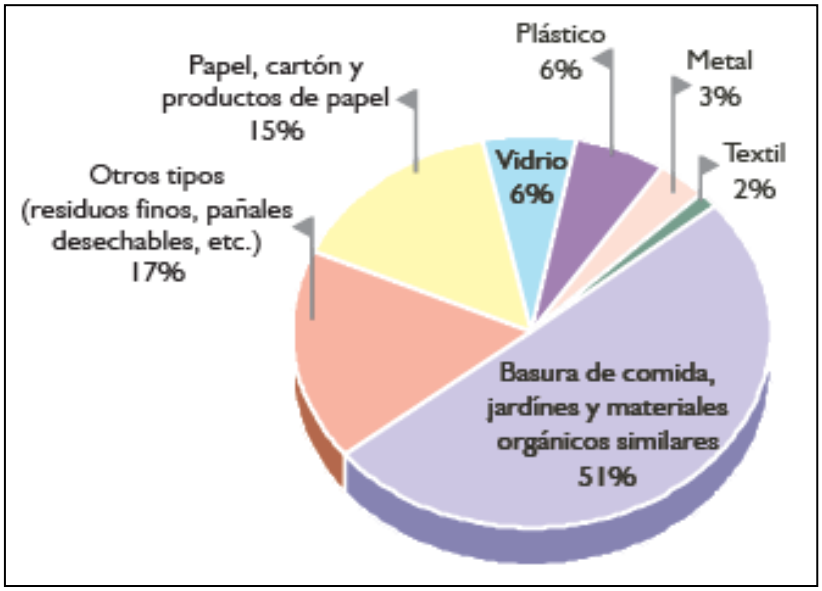


Figura 4 Proporción del tipo de desecho en los RSM (SEMARNAT, 2010)

Si se aprovechan los desechos orgánicos, se tiene una fuente económica en constante crecimiento, desde el 2003 se ha visto que el aumento de desechos orgánicos año con año es de 500 toneladas, pasando de 16 000 a 21 000 toneladas en solo 8 años (ver Gráfico 1) (SEMARNAT, 2010).

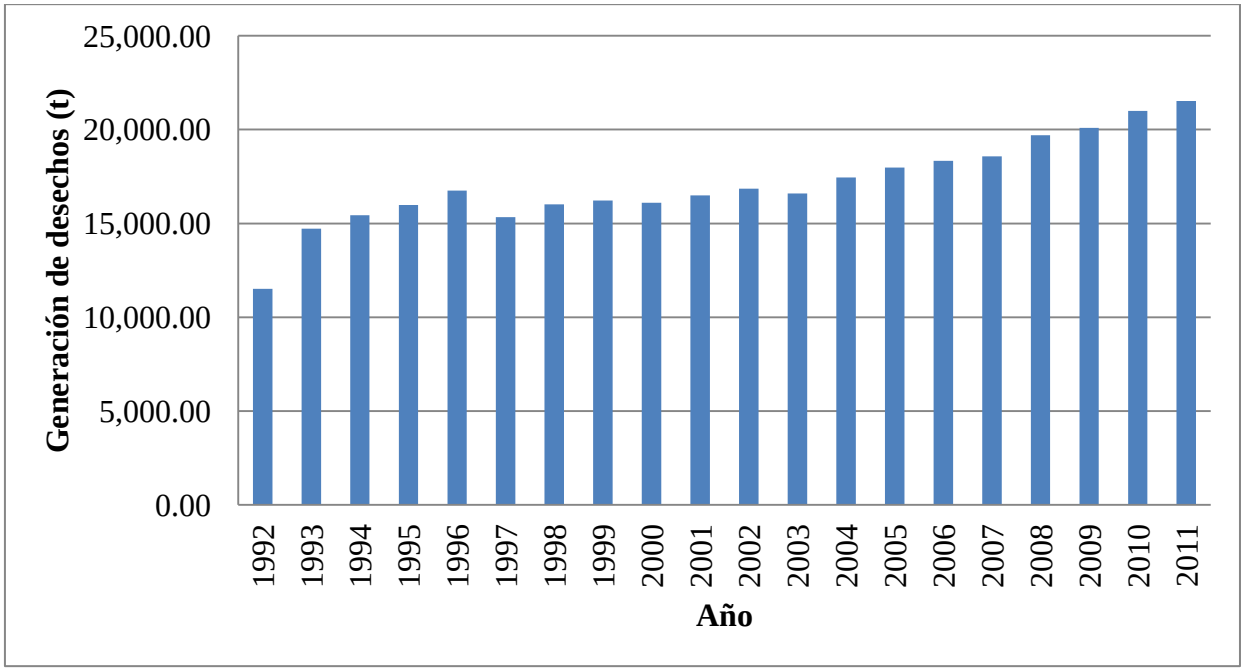


Gráfico 1 Aumento en la producción nacional de desechos orgánicos a través de los años

No solo es la población general si no también las industrias las que generan grandes volúmenes de desechos, entre los desechos orgánicos (rápida degradación) se encuentran los generados en la producción de derivados de frutas y verduras, éstos pueden utilizarse para la extracción de ácidos

orgánicos, flavonoides, aceites esenciales, carotenoides, pectinas y otros compuestos de importancia para la industria alimenticia encontrados en bagazo y cáscaras, dependiendo del método, el remanente de las fibras pueden ser aprovechados como fuente de carbono para otros organismos por ejemplo en la producción de abono (Arvanitoyannis, 2008).

Con la lombricultura es posible convertir estos desechos en productos útiles con valor económico y de gran impacto en la actual crisis agroalimentaria que se vive a través de la generación de la proteína de lombriz y al usar el humus en el aumento de la producción en los cultivos, cada vez se demanda mayor cantidad de alimento de bajo costo conforme aumenta el índice de pobreza y desnutrición por lo que es necesario buscar fuentes no convencionales constantemente (SEMARNAT, 2001).

Con la implementación de la lombricultura pueden disminuir los costos de transporte al tener una alternativa para el tratamiento *in situ* de los desechos generados. Un ejemplo de ello es el caso de los plantíos en el Rancho Medio Kilo, proveedor de las hortalizas para algunos de los productos de la empresa La Huerta y Gerber, poseen un centro de compostaje donde procesan cada año 384.3 t de materia vegetal al mezclarlas con 283.4 t de rastrojo de maíz y 5764.5 t de estiércol, con ello producen 5764.5 t de composta lista para usarse en un periodo de dos meses más la maduración, sin embargo, utilizando la lombricultura para la producción masiva de proteína de origen animal se podrían evitar los gastos de la compra del rastrojo y estiércol para el compostaje o bien sí utilizarlos con solo necesitar la mitad del tiempo para poder procesar los desechos y ser utilizados como sustrato. Otra aplicación en la industria alimenticia es el uso del agua de lavado (sin jabones) como agua de riego en los lombricultivos, también se pueden utilizar otros desechos líquidos que tengan azúcares u otros compuestos disueltos que pueden servir como nutrientes obtenidos durante el proceso de la empresa (Parnaudeau y otros, 2006).

La tendencia actual en lugares como Europa es implementar un análisis del ciclo de vida (Life Cycle Analysis, LCA por sus siglas en inglés) de los desechos para poder ser incorporados efectivamente al ciclo de Krebs (estipulado así por la ISO 14040), también se busca controlar la forma en que se descomponen los desechos para cumplir lo estipulado en el protocolo de Kioto y evitar la producción de gases que promuevan el efecto invernadero (Arvanitoyannis, 2008), la tendencia en las empresas es la producción verde, buscan utilizar productos orgánicos y disminuir su huella medio ambiental, el compromiso de la empresa con los recursos que necesita, mejora la imagen de la misma hacia sus clientes, poco a poco en México se está intentando introducir esto también.

El tratamiento de desechos a partir de la lombricultura es un proceso sencillo que requiere de pocos cuidados, se aprende sobre la marcha con mucha tolerancia al error por la alta resistencia de las lombrices, es fácil de implementar y puede utilizarse a nivel nacional para aumentar la eficiencia del uso de recursos o bien puede ser aplicado a menor escala dependiendo del volumen de desechos que necesiten ser procesados puesto que la técnica es adaptable, lo más importante para su explotación es entender los procesos involucrados en el tratamiento de los desechos (Compagnoni y Putzolu, 2001).

1.2. Tratamiento de desechos

Los métodos de disposición final de la basura se dividen principalmente en dos, se presenta una descripción para los más importantes (Unda, 1994):

1) Aquellos que implican disponer de los desechos en el mismo estado en que se recogen:

- Basurales abiertos: Consiste en grandes depósitos receptores de basura situados en lugares que generalmente no han sido seleccionados para tal fin, en la mayor parte de los casos son sitios con depresiones naturales o artificiales que se ocupan por su disponibilidad. Este es el sistema menos recomendado, pues nunca se cumplen las disposiciones aconsejadas y pasan a constituir un foco permanente de insalubridad. Generalmente se realiza una selección manual de los desperdicios, que luego son vendidos a diferentes fábricas (papeles, vidrios, etc.). Ocasionan molestias por los malos olores y por la abundancia de moscas, cucarachas, hormigas, roedores e incendios ocasionales, especialmente en épocas calurosas (SEMARNAT, 2001).
- Incorporación al subsuelo o relleno sanitario: Es un sistema de disposición final de basura económico y satisfactorio desde el punto de vista de la salud pública. Consiste en vaciar, en un lugar convenientemente seleccionado, los desechos sólidos recogidos en el día y recubrirlos apropiadamente, previa compactación, con tierra, cenizas, arena o restos de materiales de construcción. Sin embargo, es muy criticable en algunos casos la idea de perder el material que puede ser recuperable (papeles, vidrios, etc.), por lo que en algunas ocasiones se combina con un sistema de recuperación. Uno de los problemas más serios es la elección del terreno. Con una instalación adecuada se pueden recuperar gases de efecto invernadero utilizables como combustible (SEMARNAT, 2001).
- Vaciamiento al mar
- Grandes cursos superficiales de agua

2) Aquellos que sufren un tratamiento o son usados total o parcialmente de los desperdicios recogidos:

- Incineración: La eliminación de la basura a través del proceso de la incineración, la cual representa una buena solución, desde el punto de vista sanitario. Todas las bacterias y los insectos se destruyen en forma rápida, se eliminan en forma muy satisfactoria los materiales combustibles. Los componentes no combustibles tales como vidrio y otros, se eliminan posteriormente sin inconveniente sanitario. Trae consecuencias medioambientales por la generación de gases invernadero.
- Fermentación o digestión bacteriana: También conocida como *composting*, se define como la descomposición biológica de la materia orgánica tendente a obtener un humus estabilizado que puede ser utilizado para mejorar los terrenos dedicados a la agricultura.

La forma de disponer de los desechos trae diversas consecuencias benéficas o contraproducentes dependiendo de las consideraciones que se tenga al utilizar un método u otro, para ello se debe conocer el curso que seguirá la descomposición de acuerdo a las condiciones a las que se sometan los desechos.

1.3. Descomposición de desechos orgánicos

1.3.1. Natural

La descomposición es un proceso natural en cascada donde intervienen diferentes organismos que aportan sustancias nutritivas al suelo, al ser un proceso que se da en varias etapas de acuerdo a la temperatura, ayuda a que otros organismos que aparecen en las etapas subsecuentes se desarrollen, los primeros microorganismos sirven como alimento a los intermedios, volviéndose éste un ciclo que comienza cuando la materia orgánica muerta experimenta una sucesión de transformaciones físicas y químicas en el suelo, conduciendo a la mineralización de una parte del recurso, los microorganismos producen las enzimas responsables de la descomposición bioquímica de la materia orgánica, donde son abundantes, las lombrices son elementos claves del proceso e influyen a través de efectos directos e indirectos (Domínguez y otros, 2009).

Los principales microorganismos responsables del proceso de descomposición son hongos, actinomicetos, algas y bacterias:

- Las bacterias: son las que presentan mayor actividad durante la degradación, se estima representan al menos 80-90%, son las principales responsables del calentamiento del

material en descomposición, la población real de bacterias depende del tipo de material y de las condiciones.

- Actinomicetos: pertenecen al orden de los actinomicetales, parecen hongos por formar micelo ramificado (colonias) pero están más relacionados con las bacterias, se detectan por un aspecto grisáceo, aunque a veces no son tan notorios por su constante agitación, se dice que los actinomicetos dan el ligero olor a tierra; juegan un papel importante en la descomposición de los compuestos celulósicos.
- Hongos: hacen presencia casi al mismo tiempo que los actinomicetos, son una gran gamma de especies pudiendo encontrar hasta 304 aislados mono fúngicos. Aunque la celulosa y la hemicelulosa son degradados más lentamente que los azúcares o el almidón, la lignina es el residuo orgánico más resistente y normalmente el último producto degradado en la cadena alimenticia (es degradada por hongos) (Stoffella y Kahn, 2005).

Si no es un proceso controlado, libera grandes cantidades de gases invernadero a la atmósfera, por lo que los grandes volúmenes de desechos generados por el hombre deben ser procesados por métodos que reduzcan este impacto ambiental.

1.3.2. Compostaje industrial

El hombre ha intentado acelerar la descomposición de sus desechos orgánicos a través de plantas de compostaje y/o vermicompostaje, sin embargo, a pesar de que esta práctica lleva más de 60 años, en ocasiones no es exitosa pues la materia prima no es siempre constante, e increíblemente, en la década pasada todavía no se había determinado con exactitud la variable principal de operación (Moreno y Moral, 2008).

Existen diferentes sistemas de compostaje, por ejemplo el abierto con tecnología sencilla, aplicable a pequeñas o medianas comunidades aunque se requiere de gran terreno, donde la forma de amontonamiento puede ser en pilas, meseta o zanjas y el sistema de aireación suele ser por volteo o con pequeños túneles en la pila. Este sistema tiene como objetivo fundamental producir abono (Moreno y Moral, 2008; Unda, 1994). Ya que se realiza en condiciones aerobias la ecuación bioquímica se expresa con la ecuación 1:

$$MO + bacterias\ aerobicas \rightarrow CO_2 + NH_3 + productos + energía \cdots\cdots \text{Ec. 1}$$

Otro sistema es el semi-cerrado, este se lleva a cabo dentro de una gran nave cubierta, son para atender poblaciones medianas o grandes, consigue un control de las operaciones de trabajo superior a las logradas con los sistemas abiertos, pero se requiere mayor inversión. El sistema más conocido

es el de las “trincheras” o “calles” en las que el material se coloca entre muros pequeños longitudinales y es volteado por distintos procedimientos.

En el sistema cerrado o en reactores, la fase inicial de fermentación se realiza en reactores que pueden ser horizontales o verticales, mientas que la fase final de maduración se hace al aire libre o en naves abiertas, reduce de manera considerable el espacio requerido para el proceso y lograr un mejor control de los parámetros y olores generados en la fermentación (Elias, 2009). La evolución de los sistemas de compostaje a sistemas cerrados ha representado un avance de gran importancia, durante el procedimiento y en la obtención del producto final, siendo una tecnología moderna de tratamiento de la materia orgánica. Las variables de proceso (temperatura, pH, humedad, etc.) podrían ser registradas, controladas y optimizadas para ayudar en la degradación más rápida y completa con un mínimo impacto ambiental, bioquímicamente se expresa con la ecuación 2:

$$MO + bacterias\ anaerobicas \rightarrow CO_2 + NH_3 + productos + energía + H_2S + CH_4 \cdots\cdots \text{Ec. 2}$$

Los gases liberados son condensados para evitar sean liberados a la atmósfera y puedan ser utilizados como biogás.

Una vez descompuesta la materia orgánica, los materiales residuales en el reactor son aptos para ser destinados a otras prácticas o para ser tratados como un producto final, compost. Gracias a que en la descomposición los microorganismos comienzan la desintegración de los compuestos y estabilizan las condiciones del medio.

1.4. Lombricultura

La lombricultura es una biotecnología en crecimiento con gran importancia por su repercusión en el ámbito nutricional y ecológico, aunado a esto, ésta puede disminuir los costos de transporte al ser una alternativa para el tratamiento *in situ* de los desechos orgánicos generados, la lombricultura es superior al compostaje tradicional por el menor tiempo y temperatura utilizados, además la lombricultura mantiene a los microorganismos benéficos para el proceso y destruye a los patógenos (Frederickson y otros, 1997).

En México la lombricultura está en expansión desde el 1980, actualmente ésta práctica se desarrolla en diversos ámbitos y con diversos propósitos como el doméstico (humus para jardinería, floricultura), pecuario (alimento para animales), industrial (producción de fertilizantes, expansión de cultivos), la gestión de residuos sólidos (tratamiento de residuos orgánicos, industriales, agrícolas, urbanos, etc.) y la investigación científica (Edwards y otros, 2010). La industria farmacéutica se

interesa en ésta con miras a la producción de antibióticos a partir del lubricante que exuda por la piel (APROAM, 2008).

1.4.1. Lombriz para la crianza

En la selección de la lombriz adecuada para su cría intensiva en la descomposición de materia orgánica, existen diferentes opiniones; la rama de los anélidos comprende las clases de los poliquetos (marinos), oligoquetos (de aguas continentales y principalmente terrestres) e hirudineos (sanguijuelas, dulceacuícolas y en menor grado terrestres), totalizando más de 9000 especies. El número de especies terrestres fluctúan entre 3100 y 7254 (García y otros, 2005a).

Existen algunos aspectos que se deben considerar para la elección de la especie a criar, entre ellos se encuentra:

- Tener una comunidad en donde todos los integrantes se reproduzcan solo entre si, proporcionando descendencia fértil; en algunas ocasiones cuando se tiene un cultivo con *Eisenia fetida y Eisenia andrei* sí se reproducen, no obstante su descendencia será infértil, por consecuencia solo la especie que tenga mayor reproducción entre sí será la que predomine, ambas especies poseen características similares en la transformación de desechos y comportamiento poblacional.
- La cantidad de humus y la capacidad reproductora que se puede obtener en un tiempo y espacio dado, está relacionado con la densidad poblacional, su metabolismo y rangos de actividad. Esto implica el descarte de muchas especies, las que han presentado mejores resultados por ser más aptas son la *E. fetida y E. andrei*.
- El clima de crianza es fundamental, existen especies como *Perionyx excavatus*, *Polypheretima elongata* y *Pheretima* las cuales se encuentran en lugares de extrema calidez (norte de Brasil, India, África). Como fuente de proteína es interesante *Eudrilus eugeniae* una lombriz grande de África, la cual crece muy rápido, muy prolífica, sin embargo, tiene limitaciones con respecto a la temperatura de sobrevivencia pues no tolera temperaturas inferiores a 16°C. Todas las especies poseen diferentes tazas de reproducción (ver Tabla 1).

Por lo anterior, la lombriz común no es apta para el procesado de los residuos orgánicos pues ésta cava galerías verticales, vive a más de 100 cm de profundidad, deposita sus deyecciones sobre la superficie terrestre, es menos prolífica, se reproduce únicamente en el verano y de cada cocón

(estructura de donde nacen las lombrices, no son huevos, sino que los contiene) nace solamente una lombriz (Toccalino y otros, 2001).

Tabla 1. Reproducción de las lombrices de tierra

Especies	Número de cocones/semana	Nacimientos por cocón	Reproducción/ semana	Días/ eclosión	Días/madurez sexual
Eisenia fetida	3.8	3.3	10.4	32-73	53-76
Eudrilus eugeniae	3.6	2.3	6.7	13-27	32-95
Perionyx excavatus	19.5	1.1	19.4	16-21	28-56
Dendrobaena veneta	1.6	1.1	1.4	40-126	57-86

Fuente: (García y otros, 2005a)

Puesto que existe gran cantidad de especies de lombrices un científico americano llamado Gate (citado en (Toccalino y otros, 2001)) realizó una clasificación para Sudamérica de las cuales las más estudiadas son:

- *Allopora caliginosa* (lombriz de campo): se reproduce poco, sin embargo es útil para la agricultura.
- *Ocasium lacteum* (lombriz parda) se desarrolla en suelos arenosos y húmedos.
- *Eisenia fetida* (lombriz de estiércol o roja californiana) es de gran actividad reproductiva, recibe su nombre por que al estar en condiciones desfavorables despide un olor desagradable.
- *Dendrobaena alpina* (lombriz del lodo) viva asociada con *Eisenia fetida.*
- *Lombricus terrestris* (lombriz de tierra) cava galerías muy profundas, prefiere regiones frías y se reproduce poco.
- *Lumbricus rubellus* (lombriz de residuos orgánicos), vive en la superficie y el interior del suelo (Toccalino y otros, 2001).

1.4.1.1.Eisenia fetida

Las lombrices participan en la descomposición de la materia orgánica a través de los procesos asociados al paso a través de sus intestinos que influyen en todas las modificaciones de la materia orgánica en descomposición, estas modificaciones incluyen: la reducción de tamaño de partícula, la adición de azúcares y otras sustancias, la modificación de la actividad y de la diversidad microbiana. Todos estos cambios, a su vez, modifican a las poblaciones de la microfauna, las cuales producen moco y sustancias excretoras como la urea y el amonio, constituyentes de una fuente de nutrientes de fácil asimilación para los microorganismos (Compagnoni y Putzolu, 2001; Domínguez y otros, 2009).

La descomposición se ve también favorecida por la acción de microorganismos que viven en el intestino de las lombrices, estos microorganismos producen enzimas extracelulares degradadoras de celulosa y distintos compuestos fenólicos, aumentando la degradación del material ingerido. La actividad directa de las lombrices aumenta significativamente la mineralización del carbono y nitrógeno en el sustrato, la mineralización del nitrógeno está regulada básicamente por la disponibilidad de nitrógeno orgánico disuelto y del amonio, la actividad de los microorganismos y de los requerimientos de éstos últimos relativos al carbono y el nitrógeno. Las lombrices también tienen un gran impacto en las transformaciones del nitrógeno a través de modificaciones de las condiciones ambientales y de sus interacciones con los microorganismos, así su actividad en los restos orgánicos producen condiciones que favorecen la nitrificación, ésta resulta en la conversión rápida del nitrógeno amoniacal en nitritos (Domínguez y otros, 2009).

Dentro de las numerosas funciones benéficas que las lombrices tienen sobre la fertilidad del suelo sobresalen:

- Favorecen la aireación y drenaje del suelo.
- Favorecen la porosidad del suelo.
- Favorecen la propagación de bacterias benéficas en el suelo.
- Aceleran la mineralización del carbono y nitrógeno.
- Aceleran la descomposición de materia orgánica.
- Mantienen controladas las poblaciones de microorganismos (Gómez, 2011).

En general los cultivos tanto de *E. fetida* y de *E. andrei*, conocida como lombriz roja “de california” o lombriz comercial, se llevan a cabo globalmente con excelentes resultados, son las de mejores

condiciones para la cría en cautiverio pues ofrece una serie de ventajas sobre las otras conocidas como lombrices silvestres o comunes (Ferruzi, 1988). Las razones por las que se fundamenta la utilidad de la lombriz roja son:

- Longevidad: vive aproximadamente 16 años.
- Prolificidad: producen hasta 1500 pequeñas lombrices por año.
- Deyecciones: excretan abono orgánico con flora bacteriana de $2X10^{12}$ colonias/g.
- Ciclo biológico: es un animal que desarrolla todo su ciclo biológico en un ambiente de no más de 30 cm de profundidad en el sustrato.
- No se fuga del criadero, no cava galerías verticales, si no circulares y deja el humus (deyecciones) dentro de las galerías (Toccalino y otros, 2001).
- Apetito voraz: pueden procesar su propio peso de materia orgánica al día.
- Se puede obtener otros productos base para la industria farmacéutica, a partir del líquido celomático (mucosidad que produce), se han producido antibióticos para uso humano, su elevada capacidad de regeneración la hace interesante para este sector (APROAM, 2008).

Pese a que las lombrices son hermafroditas, son incapaces de autofecundarse, para tal efecto es necesario el apareamiento de dos individuos, en donde se entrelazan estrechamente en posición invertida, haciendo que los segmentos donde se localiza la zona de los poros genitales queden en contacto el poro genital masculino con el femenino e intercambien el material espermático, así en el clitelo almacenan el huevecillo fértil (cocón). El clitelo es la estructura glandular en forma de anillo completo que abarca segmentos continuos, no es visible durante toda la vida del espécimen, éste se hace visible cuando la lombriz alcanza la madurez sexual (ver Figura 6). Su reproducción depende mucho de la densidad poblacional pero en general se puede decir que produce 2 cocones (cápsulas que contienen los embriones), emergiendo de cada cocón un número variable de especímenes (1-21), esto depende del sustrato con el cual son criadas. El desarrollo es directo, es decir, no presenta estadíos larvales. El estado adulto se da a los 7 meses, sin embargo a los 3 meses alcanza la madurez sexual, esto depende principalmente de su peso (ver Figura 5), se reporta que al llegar a los 0.25 g la lombriz desarrolla clitelo, signo de madurez sexual (Schuldt, 2006).

Esta especie tiene características fisiológicas distintas a las demás lombrices en cuanto a color, longitud, etc. (ver Tabla 2 y Figura 6). Para obtener buenos resultados en la crianza de *E. fetida* es importante criarlas en condiciones óptima para su desarrollo (Ver Tabla 3).

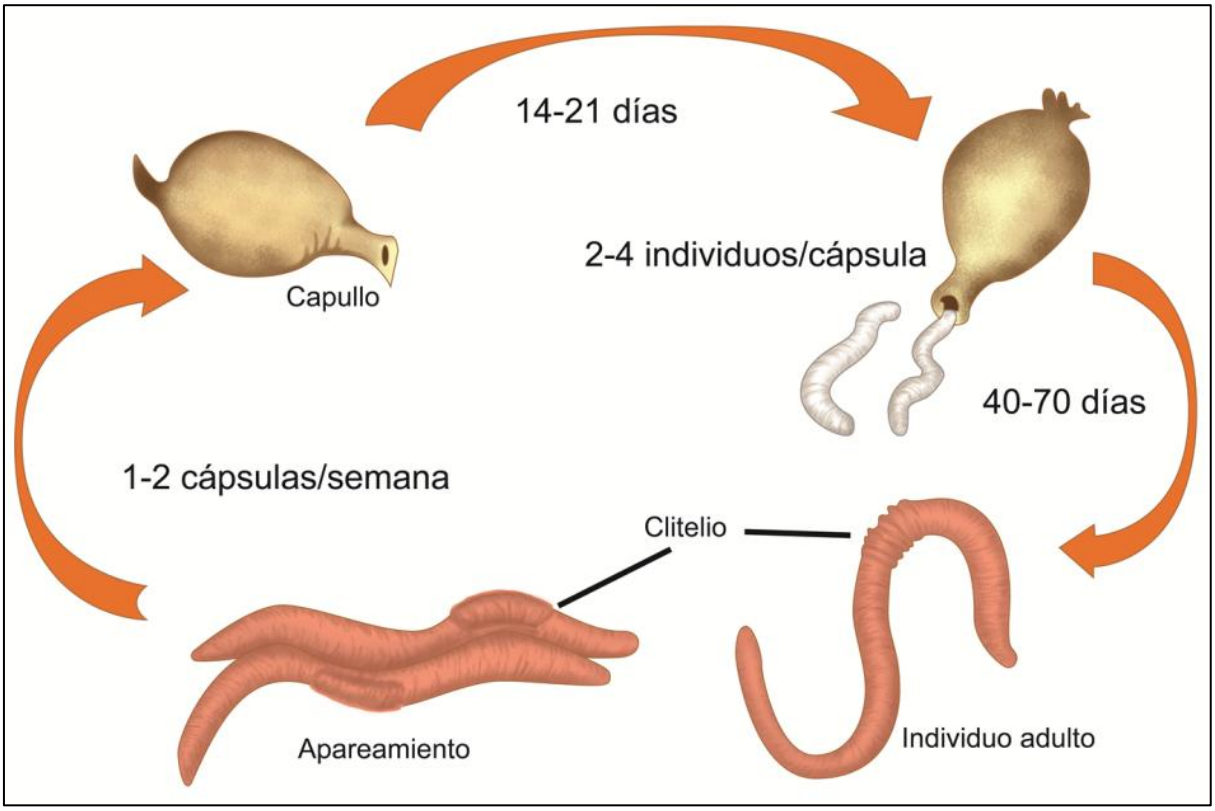


Figura 5 Ciclo biológico de la lombriz (Schuldt, 2006)

Puesto que las lombrices no tienen ojos, poseen un sentido de tacto muy desarrollado y un gran número de células sensoriales responsables de la identificación de intensidad luminosa y del grado de acidez o alcalinidad del alimento, utilizando ambos para poder alejarse cuando las condiciones del lecho no permitan su crecimiento y desarrollo (Gabetta, 2004b).

Tabla 2. Características fisiológicas de la lombriz *E. fetida*

ESTRUCTURA	CARACTERÍSTICAS
Longitud	Entre 3.3 y 12.1 cm
Diámetro promedio	Entre 5 y 8 mm
No. de segmentos	Entre 108 y 210
Clitelo	Comienza en los segmentos 24/25 y se extiende hasta el 32
Color	Rojizo oscuro, la superficie ventral y dorsal con intersegmentos amarillos.
Cocones	Peso: 0.00395-0.0888 g. Largo: 4 mm. Ancho: 3 mm
Color de cocones	Inicialmente, verde esmeralda y turgentes; posteriormente, verde oliva con una mancha de coloración más densa hacia uno de los polos; finalmente, verde oliva con pérdida de turgencia al acercarse la eclosión

Fuente: (García y otros, 2005a)

Tabla 3. Condiciones óptimas para el cultivo de *E. fetida*

CONDICIONES	
Temperatura	15-20 °C (limitantes 4-30°C)
Contenido de humedad	80-90 % (limitantes 60-90%)
Requerimiento de oxígeno	Aeróbico
Contenido de amonio en los residuos	Bajo: <0.50 mg/g
Contenido de sal en los residuos	Bajo: <0.5%
pH	>5 y <9

Fuente: (García y otros, 2005a)

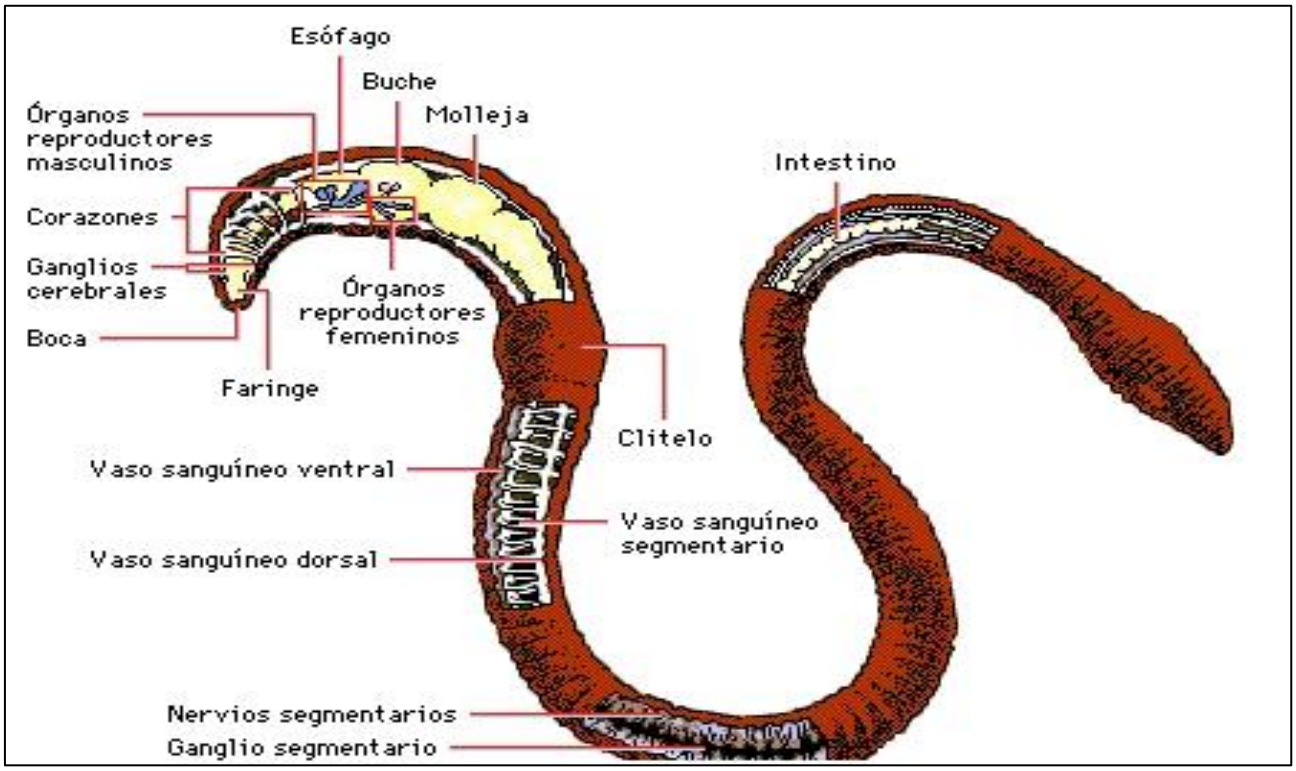


Figura 6 Fisiología de la lombriz E. fetida (Granie'sworms, 2013)

Respiración: Se cumple a través de la epidermis. Cuando la humedad del medio es insuficiente, no permite la difusión de los gases, entre ellos el oxígeno, y cuando hay un exceso de agua esta los desaloja, por ello la importancia de mantener la humedad del medio entre 80 y 90% (Schuldt, 2006).

Su cuerpo está revestido por una fina cutícula transparente, segregada por las células epidérmicas, que las protege de la desecación y permite los intercambios gaseosos al absorber oxígeno.

Aparato reproductor: Los testículos se hallan presente por pares en cada segmento (de 1 a 4 pares) en segmentos del tercio anterior del cuerpo. Los ovarios (generalmente solo existe un par) se hallan en segmentos posteriores a los que los alojan los testículos (ver Figura 6).

Sistema circulatorio: La sangre circula por vasos sanguíneos. Los troncos principales del sistema consisten en los vasos sanguíneos ventral y dorsal. Cuenta con 5 corazones localizados en la parte superior de la lombriz (ver Figura 6) (Schuldt, 2006).

Aparato digestivo: Inicia en la boca (sin dientes), el cual da paso a la faringe (dilatable, succiona los alimentos), continúa con un esófago delgado, donde unas glándulas calcíferas se encargan de segregar carbonato de calcio para neutralizar los ácidos presentes en el alimento, éste se dilata proporcionando dos cavidades: el papo (o buche) y la molleja, en ésta última se tritura el alimento gracias a su musculatura potente, todo esto está presente en el primer tercio, en el resto se encuentra el tubo digestivo el cual presenta un pliegue, el cual cumple la función de aumentar la superficie de absorción del intestino, y termina en el ano (ver Figura 6) (Compagnoni y Putzolu, 2001).

1.4.2. Acondicionamiento del sustrato

1.4.2.1. Transformación de desecho a sustrato

El sustrato es el alimento el cual cumple dos funciones principales: sirve de hábitat y proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo y supervivencia de la comunidad de lombrices. Generalmente las lombrices comen todo tipo de residuos orgánicos en proceso de descomposición y presentan particular afinidad por los azúcares, las sales y la celulosa, ingieren además los microorganismos como: bacterias, hongos, algas microscópicas y algunos protozoos asociados al material consumido (Gabetta, 2004a).

Para las exigencias de la lombriz se requiere un previo compostaje el cual se basa en la acción de diversos microorganismos aerobios que actúan de manera sucesiva sobre la materia orgánica original, en función de la influencia de determinados factores, produciendo elevadas temperaturas, acidificación del medio, reduciendo volumen y peso de los residuos así provocando su humidificación y oscurecimiento, esto provoca un descenso en la relación C/N de los desechos. Se ha sugerido en la literatura que la mayoría de la actividad digestiva en la lombriz se da por la ingesta de microflora puesto que solo carbohidratos simples y proteínas son fácilmente absorbidos por las lombrices, mientras que los constituyentes de paredes vegetales no lo son. Absorbe en pocas cantidades la celulosa y nada de lignina (Curry y Schmidt, 2007; Frederickson y otros, 1997),

produce en pequeñas cantidades quitinasas sin necesitar de la microflora intestinal y al pasar los hongos por el tracto intestinal son eliminados (Flack y Hartenstein, 1984).

Para que esta transformación se dé exitosamente se requiere controlar diversos factores con el objetivo de facilitar el consumo a la lombriz. Si no se lleva a cabo esta transformación, la lombriz podría morir a las condiciones extremas de humedad, temperatura, pH u otros.

1.4.2.2. Influencia de las variables

Las variables más importantes en el proceso pueden ser clasificadas en dos tipos: parámetros de seguimiento (aquellos medidos durante todo el proceso y ajustables, en caso de ser necesario) como son la temperatura, humedad, pH, aireación y espacio de aire libre y parámetros relativos a la naturaleza del sustrato (aquellos medidos y adecuados al inicio del proceso) como son tamaño de partícula, relaciones de C/N, nutrientes, materia orgánica y conductividad eléctrica (Schuldt, 2006).

- Temperatura: Debido al crecimiento de los microorganismos, se genera calor, aumentando la temperatura del material (síntoma más claro de la actividad microbiana). Por la evolución de la temperatura se puede juzgar la eficacia y el grado de estabilidad del proceso, ya que existe una relación directa de la temperatura y la magnitud de la degradación de la materia orgánica. Se observan tres fases en el proceso de descomposición aeróbica en la cual actúan distintos tipos de microorganismos: fase mesófila inicial ($T < 45°C$), al final de la cual se produce ácido orgánico; fase termófila ($T > 45°C$) y fase mesófila final considerándose el proceso cuando se alcanza de nuevo la temperatura inicial (ver Figura 7) (Moreno y Moral, 2008).
- Humedad: Ya que es un proceso biológico, la presencia de agua es imprescindible para las necesidades fisiológicas de los microorganismos, es el medio de transporte de las sustancias solubles. La humedad de la masa no debe ocupar totalmente los poros de dicha masa. Se requiere una humedad relativa de 70% aproximadamente (Compagnoni y Putzolu, 2001).
- Tamaño de partícula: Variable para la optimación del proceso, ya que cuanto mayor sea la superficie expuesta al ataque microbiano por unidad de masa, más rápida y completa será la reacción de descomposición. Las dimensiones consideradas óptimas según distintos autores, varían entre 1 y 5 cm. Mientras más pequeña sea la partícula, mejor será la absorción de los nutrientes, por tanto, mayor crecimiento y fecundidad en las lombrices (Moreno y Moral, 2008).

- Conductividad eléctrica: La conductividad eléctrica se utiliza normalmente para indicar la concentración total de componentes ionizados en las solución, estos determinan la presencia en solución de una serie de combinaciones de los cationes: calcio, magnesio, sodio, potasio y de aniones como: carbonatos, bicarbonatos, cloruros, sulfatos, etc. El valor de la conductividad eléctrica está relacionado con la suma de cationes y en general tiene correlación con los sólidos totales disueltos y estos dependen del origen y composición de los desechos que se destinen al comspostaje; los desechos de alimentos en general se sabe que cuentan con un alto contenido en sales que se traducen a un valor de conductividad eléctrica alta (Soriano y Pons, 2001).

  En el proceso de compostaje la conductividad eléctrica decrece conforme transcurre el tiempo, causado posiblemente por la lixiviación de las sales solubles durante el proceso.

  Para la práctica de la lombricultura se requieren desechos que no sobrepasen de 5 mS, ya que a valores superiores, la epidermis de la lombriz se ve afectada (es en la epidermis donde existe un porcentaje alto de agua y puede provocar un efecto de deshidratación que provoca su desecación) para combatir este problema se recomienda mezclas con rastrojo haciendo que decrezca el valor de conductividad eléctrica asegurando así la supervivencia y bienestar de los especímenes (Curry y Schmidt, 2007).
- Relación C/N: Esta relación tiene gran importancia en el proceso de descomposición de la materia orgánica. La mayor parte del carbono sirve de fuente de energía para los organismos y como consecuencia de las reacciones metabólicas, el carbono se desprende en forma de anhídrido carbónico. Como el carbono sirve de fuente de energía, se requiere mayor cantidad de carbono que nitrógeno. Generalmente, alrededor de dos terceras partes del carbono se desprende como anhídrido carbónico. Si existe un exceso de carbono en relación con el nitrógeno la actividad biológica disminuye y se requieren de varios ciclos de organismos para utilizar el carbono. Cuando algunos de los organismos mueren, el nitrógeno y el carbono almacenado en ellos quedan disponibles para otros organismos; el nitrógeno de las células muertas se utiliza para formar materia de las nuevas células. Como consecuencia, la cantidad de carbono se reduce y la limitada cantidad de nitrógeno vuelve a ser empleada por otros organismos. Cuando la relación C/N disponible es suficientemente baja, hay desprendimiento de amoniaco (Unda, 1994).

  En el proceso de descomposición aeróbica, los organismos usan nitrógeno, fósforo y otros elementos para desarrollar el protoplasma de la célula, reducen el nitrógeno orgánico a

ácidos orgánicos y amoniaco. El carbono proveniente de los compuestos orgánicos se libera principalmente en forma de CH_4 y una pequeña porción de CO_2.

Si el residuo tiene una alta relación C/N, sin embargo, la materia orgánica es poco biodegradable, la relación C/N disponible realmente para los microorganismos es menor y el proceso evolucionará rápidamente, pero afectará sólo a una parte de la masa total (Moreno y Moral, 2008).

– Grado de descomposición: De no haber hecho un compostaje de aproximadamente 2 semanas las lombrices no comerían del sustrato, perderían peso y eventualmente morirían (Curry y Schmidt, 2007; Gunadi y Edwards, 2003).

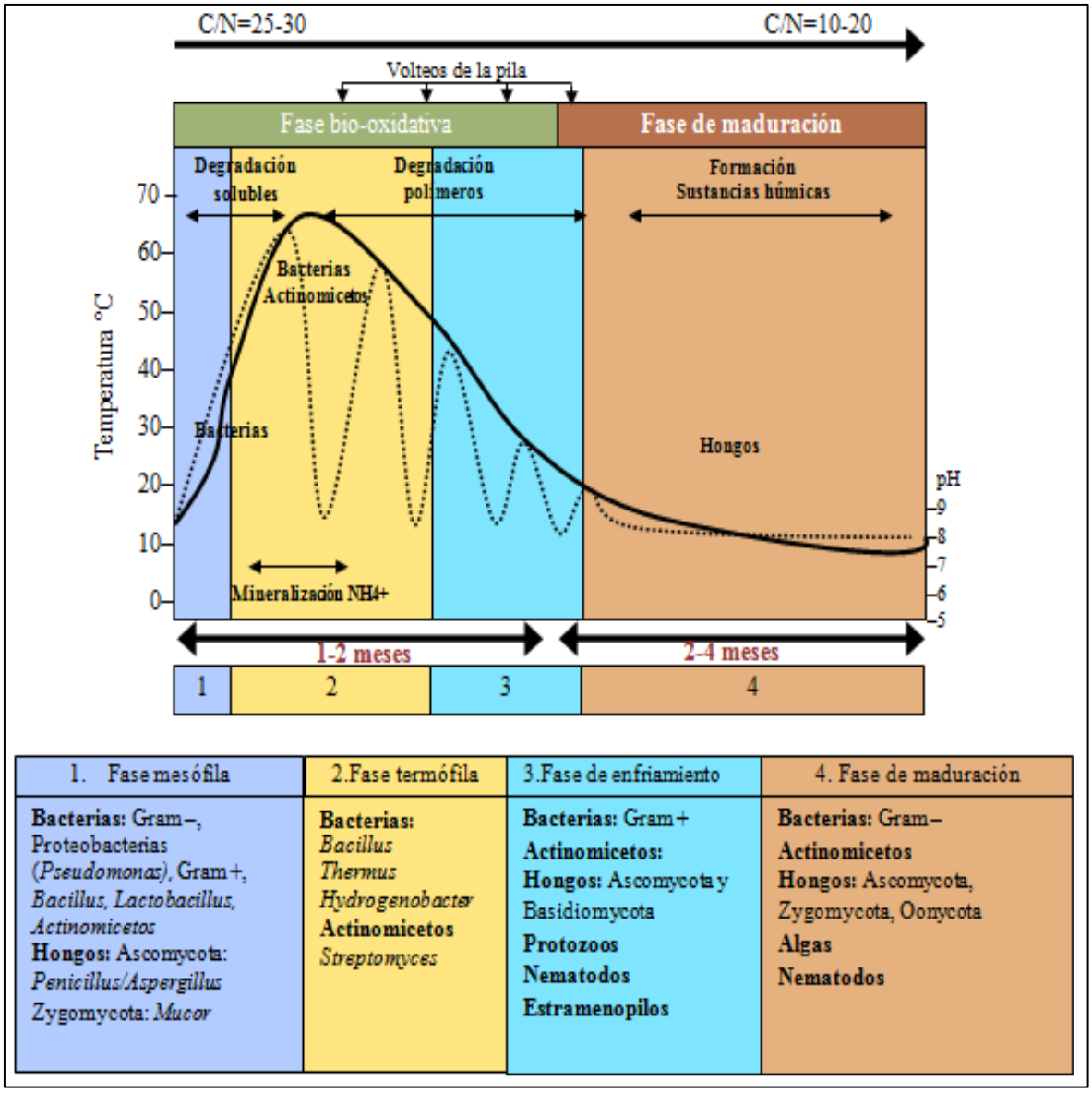


Figura 7. Evolución del proceso de compostaje (Moreno y Moral, 2008)

En la Figura 7 se observa la evolución de la relación C/N, temperatura y por consiguiente de los microorganismos que actúan en el proceso, sin embargo, estas variables dependen de factores como la periodicidad de los volteos, del material a compostar, de su origen y de la altura de las pilas de desechos. Para la práctica de la lombricultura se requiere una relación C/N aproximadamente de 10 cuando los hongos comienzan a actuar, no obstante cuando la materia orgánica ya este estabilizada y no exista algún cambio brusco de alguna de las variables que pueden afectar al bienestar de las lombrices (incremento de la temperatura, acumulación de ácidos orgánicos, desprendimiento de amonio). Por lo tanto para la crianza de lombrices es fundamental determinar experimentalmente la relación C/N y observar el efecto que tiene con toda la práctica de la lombricultura en general (Moreno y Moral, 2008).

1.4.3. Etapas de la lombricultura

La cantidad de especímenes necesarios para comenzar un lombricultivo dependerá de la cantidad de desechos que se deseen transformar en el lugar donde se implementa la lombricultura, la visión de expansión futura y el espacio disponible: se debe considerar que las lombrices comen diariamente su propio peso en desechos degradados, una relación 20 000 lombrices/m^2 como máximo, siendo incluso recomendado disminuirlo en un 10 ó 20% para no afectar la reproducción por el hacinamiento y evitar la falta de alimento de lombrices adultas y sus crías conforme se desarrollen, si se cuidan las condiciones, pasados 6 meses se podrá dividir la población final a la mitad o en varios lechos más (Compagnoni y Putzolu, 2001).

1.4.3.1.Primera etapa: Obtención y siembra del pie de cría

Las lombrices iniciales deben ser de un criador confiable conocedor de la especie que cría pues la *Eisenia fetida* posee un pariente muy similar (*Eisenia andrei*), éste se asemeja físicamente y solo se distingue por que la *E. andrei* es más oscura que la *E. fetida*, el problema de colocar ambas en un mismo lecho es en que el resultado de la cruza de ambas es una cría infértil, limitando el crecimiento de la población (Gabetta, 2004a).

Para la siembra se acondiciona el sustrato, se controlan las condiciones de pH, humedad y temperatura recomendadas (Gabetta, 2004b) y de acuerdo a la estación y localización del lecho de crianza, se recomiendan distintos espesores de sustrato (ver Tabla 4).

Para el primer lecho se necesita colocar 5 cm de material compostado el cual haya pasado las pruebas de aceptación y regarlo (sin que con esto escurra), la incorporación de las lombrices se debe hacer a pleno sol para facilitar la incorporación de la lombriz al sustrato, una vez logrado, se les

coloca a la sombra para su establecimiento, agregando el resto del sustrato necesario para alcanzar la altura recomendada (ver Tabla 4).

Tabla 4 Espesor del sustrato de acuerdo a latitud y estación del año

Estación del año	Latitud		
	0 a 25°	25 a 40° *	40 a 55° **
Primavera	10 a 15 cm	15 a 25 cm	25 a 40 cm
Verano	10 cm	15 cm	25 cm
Otoño	15 cm	20 a 25 cm	25 a 40 cm
Invierno	15 a 20 cm	25 a 40 cm o más	60 cm o más (hasta 1.5 m)

***°C/Temperatura de -10/-15°C**

****°C/Temperatura de -30/-40°C**

Fuente: (Schuldt, 2006)

1.4.3.2.Segunda etapa: Cuidado del criadero

Esta etapa es tan larga como se desee, dependiendo del producto de interés: si el interés es la recolección del humus, es recomendable que permanezca en esta etapa el lecho por lo menos 6 meses, esto con el fin de que la maduración del humus llevada a cabo por los microorganismos del suelo se complete, si no es hecho así, la materia orgánica y microflora no se desarrollarán lo suficiente para aportar todo el beneficio del que son capaces como reconstituyente del suelo. Para la producción de lombriz, la división del lecho se debe hacer a los tres meses (también se recolecta el humus) colocando el sustrato restante en nuevos lechos, desdoblando en tantos nuevos lechos objetivo como sea necesario para alcanzar la producción objetivo (considerando el factor 1600 lombrices/año/lombriz y el tiempo de recolecta sin que se supere por mucho la densidad de población 20000 lombrices/m^2) cuando las crías alcancen la adultez al cabo de 6 meses más y puedan procrear más lombrices (Gabetta, 2004b).

Mantener las condiciones es crucial, para cuando se inicia el lombricultivo, se puede hacer el manejo manualmente, aun cuando los lechos sean muchos. Es recomendable instalar sistemas de riego cuando el área de crianza es grande, colocando tinacos con agua sobre el nivel de los lechos con tubos de PVC perforados a modo de regaderas cubriendo toda el área, el control de las variables puede ser instrumental, sin embargo, los métodos rudimentario bastan pues no es muy estricta en sus exigencias la *Eisenia fetida*, basta con no permitir las inundaciones, mantener aireado el sustrato

removiendo la superficie con regularidad y controlar la humedad de tal forma que al tomar un puño de sustrato y apretarlo, suelte unas cuantas gotas (Método de tacto) (Schuldt, 2006).

El sustrato no debe compactarse demasiado, esto facilita la locomoción de la lombriz y evita que esté rodeada de agua, la lombriz puede sobrevivir con poco oxígeno y altas cantidades de dióxido de carbono e incluso vivir bajo el agua si se agita la misma con regularidad para mantener los niveles de oxígeno, no obstante en condiciones anaerobias pueden producirse substancias tóxicas en el sustrato (Gabetta, 2004b).

1.4.3.3.Tercera etapa: Recolección de los productos

Cada seis meses se puede recolectar ambos productos (lombrices y humus):

1) Separar el sustrato en las capas más obvias, colocando aparte la sección de alimento aun no consumido. En lo que quedó, colocar una muestra de sustrato nuevo muy atractivo para las lombrices como puede ser harina mezclada con azúcar para atraer las lombrices que pudieran estar entre el humus, dejar así un par de horas y retirar la mayor cantidad de lombrices.
2) Esparcir en charolas o un plástico el humus de lombriz, dejar secar a la sombra durante 4 horas, retirando todas las lombrices que se detecten conforme se esparce.
3) Retirar tantas lombrices adultas del sustrato como se necesiten para realizar la harina, si el lecho estaba destinado solo para la producción de lombriz para harina, retirar todas las lombrices y a las más jóvenes recolocarlas en un lecho destinado para el desdoblamiento.
4) Secar el humus hasta que alcance 50% de humedad, pesar y guardar en bolsas de plástico con ventilación (Compagnoni y Putzolu, 2001).

1.4.4. Explotación de los productos de la lombricultura

Los productos obtenidos como resultado de esta práctica se pueden aplicar a diferentes sectores y de distintas maneras como por ejemplo:

- Fertilizante orgánico: el humus de lombriz es considerado biorregulador y corrector del suelo cuya característica fundamental es la bioestabilidad, pues no da lugar a fermentación o putrefacción. Su elevada solubilidad, debido a la composición enzimática y bacteriana, facilita su rápida absorción a través de las raíces de la planta, por lo que ayuda a la agricultura (Moreno y Moral, 2008).

- Sebo para pesca: la lombriz puede ser utilizada viva para atraer peces en la pesca deportiva, esta lombriz puede ser sacada cuando los criaderos o lechos sobrepasan la densidad poblacional.
- Alimento para gallina: se puede utilizar la lombriz viva para alimentar a gran cantidad de aves, sin necesitar aplicar un tratamiento previo (Gabetta, 2004a).
- El otro producto resultante es la carne de lombriz la cual es utilizada para hacer harina que contiene 9 de los 10 aminoácidos esenciales, ácidos grasos esenciales, reportando la presencia de linoleico y linolénico (Vielma y otros, 2003), vitaminas y minerales importantes en la nutrición humana así como para la formulación de alimentos balanceados para animales, por ejemplo, si se adiciona 6% de harina de lombriz a la dieta de la codorniz, la canal aumenta 3.3% la proteína, la grasa disminuye en casi 4% (Morón y otros, 2008), por lo que puede constituir una fuente de proteína no convencional (Vielma y otros, 2003).

Esto puede abrir un panorama para el enriquecimiento de alimentos y/o desarrollo de nuevos productos, representando una alternativa a nivel industrial. Sin embargo uno de los problemas principales que no han permitido su utilización oficial en el campo alimenticio humano es el prejuicio cultural y la falta de información de los beneficios que presenta la lombriz.

1.4.4.1.Rendimiento de la crianza

En general se pueden utilizar las siguientes relaciones:

Para el acondicionamiento del sustrato-por cada 100 kg de materia orgánica y 45 kg de fracción vegetal (rastrojo) se obtendrán 5 kg de impurezas (materia no procesable o de muy largo tiempo de descomposición) y 60 kg de compost terminado.

Crianza: Utilizando como base de cálculo 100 días de crianza, cada lombriz adulta producirá 60 gramos de humus, consumirá 100 gramos de sustrato y representará 0.1g de harina de lombriz (si fuera proteína pura).

Estos datos dependerán de las condiciones en que son criadas las lombrices: A mayores temperaturas, se presenta mayor consumo de alimento, también dependerá de la calidad del sustrato por la variación que causa en la reproducción y la relación de supervivencia de las crías, aun cuando en cada cocón nacen más de 10 lombrices, pocas son las que alcanzan la adultez (Gabetta, 2004a).

1.5. Uso de la harina de lombriz para el consumo humano

Actualmente existe un gran interés en la utilización de la harina de lombriz como recurso no convencional en el ámbito nutricional a causa de sus múltiples beneficios, por ello la harina abre un interesante campo de investigación en lo que se refiere al enriquecimiento de alimentos, representando una alternativa a nivel industrial.

Se ha demostrado que la harina de lombriz proporciona aminoácidos esenciales para la dieta humana (se han logrado identificar 15 aminoácidos entre esenciales y no esenciales), entre ellos es importante mencionar a la lisina, aminoácido que suele estar ausente en los alimentos básicos, el contenido de este aminoácido en la harina de lombriz es significativo, satisfaciendo los requerimientos para niños entre 2-5 años exigidos por la FAO/OMS, por tal motivo en Venezuela se estudia la factibilidad de incluir este alimento no convencional en los comedores escolares y universitarios (Vielma y otros, 2008), incluso se han realizado pruebas de aceptabilidad en galletas elaboradas utilizando harina de lombriz criada en varios sustratos (Sánchez y otros, 2005). En nuestro país se han realizado galletas llamadas “lombretinas” mezclando harina de lombriz, de trigo y otros ingredientes para la alimentación de niños, la investigadora Iliana Méndez quien fue la desarrolladora, busca desarrollar una amplia gama de productos. Este tipo de proyectos llaman la atención de organizaciones como la NASA que está interesada en dar insectos como alimentación a sus astronautas (Viayra, 2005).

Se han comparado diferentes formas de obtención de la harina de lombriz, observando los mismos aminoácidos en harinas obtenidas por liofilizado y secado por aire caliente, aunque en esta última se encuentran con menor concentración y es en ella donde se observan mayor contenido de bacterias aerobias mesófilas, pese a esto las dos formas de obtención de la harina son consideradas inocuas (Vielma y otros, 2008).

La inocuidad de la harina de lombriz es un punto que ha causado controversia y cierta repulsión para la introducción de esta harina para consumo humano por el tipo de alimentación de las lombrices (desechos orgánicos), sin embargo hay tratamientos antes del sacrificio que contrarrestan la carga microbiana presente e incluso su , por lo que se ha concluido que la única barrera para su introducción es el prejuicio cultural y la falta de información de los beneficios que se obtienen al consumirla (Hernández, 2013).

Hoy en día la harina de lombriz es procesada a nivel industrial para alimento de ganado, sustituyendo la harina de pescado, (la cual se asemeja en su composición de aminoácidos aunque en menor concentración) aumentando el rendimiento en la canal en animales menores (Sales, 1996).

La introducción de fuentes alimenticias no solo implica la elaboración de alimentos e introducirlos al mercado, es recomendable hacer pruebas que justifiquen el valor que tienen pues de acuerdo a la complejidad de las moléculas que los componen será el grado en que pueden ser aprovechados por el metabolismo humano de acuerdo a su digestibilidad (Cheftel y otros, 1989; García, 2008).

Las pruebas de calidad proteica son una forma que se tiene para medir el grado en que es absorbido algún nutriente, comprenden dos procesos: la digestión que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos y la absorción de pequeñas moléculas (aminoácidos, ácidos grasos) en el intestino (Cheftel y otros, 1989; Mataix, 2009).

1.5.1. Las proteínas en la nutrición humana

Las proteínas son moléculas de alto peso molecular, siendo su función principal de estructura, sin embargo, debido a su complejidad causada por la diversidad de elementos que las conforman, éstas pueden desempeñar infinidad de funciones más (como puede ser de enzimas, transporte, reserva, reguladoras, estructurales/soporte, contráctiles, defensa, protorreceptores, etc.) (Cheftel y otros, 1989; Soriano, 2006).

Los principales constituyentes de las proteínas son los aminoácidos, unidades orgánicas de bajo peso molecular caracterizadas por poseer al menos una función amínica ($-NH_2$) y una función ácida, constituida por un grupo carboxílico (-COOH). Los aminoácidos utilizados para la producción de proteínas son solo 20 (aminoácidos proteinogénicos), existen otros aminoácidos como la taurina que no forman parte de las proteínas pero sí son utilizados por el cuerpo humano (Soriano, 2006).

Aun cuando pueden desempeñar funciones importante por si solos, los aminoácidos se unen entre si por medio de enlaces peptídicos, establecidos entre el grupo ácido de uno de ellos y el grupo amino del otro; cuando la cadena formada no contiene más de 10 aminoácidos (aa) se le conoce como oligopéptido, si su número es inferior a 100 aa o si su peso molecular es menor de 10000 aa se les denomina péptidos o polipéptidos, si supera esta última condición se le conoce como proteína. El término prótidos engloba a proteínas, polipéptidos y aminoácidos (Cheftel y otros, 1989).

Desde el punto de vista nutricional, existen dos tipos de clasificaciones para las proteínas (Cheftel y otros, 1989; Soriano, 2006):

De acuerdo a su estructura:

- Globulares: Comúnmente son hidrosolubles y contienen buena proporción de aminoácidos esenciales para el hombre, son de fácil digestión y su nombre se debe a que su estructura terciaria y cuaternaria se pliegan de tal forma que generan formaciones esféricas. Algunos ejemplos son la caseína de la leche, la albúmina del huevo y las globulinas de la sangre (Mataix, 2009).
- Fibrosas: Más insolubles en el agua y más difíciles de digerir que las globulares. Son alargadas pues preferentemente las cadenas de aminoácidos se ordenan extendidas a lo largo de un eje. Ejemplo de éstas son la queratina, el colágeno y la miosina.

De acuerdo a su calidad nutricional:

- Denominándola completa, de buena calidad o de alto valor biológico si incluyen suficiente cantidad de los aminoácidos esenciales, como la carne.

Las proteínas de origen vegetal (legumbres, cereales, patatas) suelen ser incompletas, los cereales suelen ser deficientes en lisina mientras que las legumbres son deficientes en aminoácidos azufrados. De ahí la importancia de consumir diferentes tipos de alimentos, combinándolos de acuerdo a sus carencias cuando la dieta es exclusivamente vegetariana. Las proteínas vegetales tienden a ser menos digeribles que las de origen animal (Soriano, 2006).

La estructura de las proteínas es frágil por lo que factores externes como los tratamiento con ácidos, bases, soluciones salinas concentradas, disolventes, calor, radiaciones etc., pueden modificar su conformación, esto se conoce como desnaturalización de las proteínas mientras no exista ruptura de los enlaces peptídicos que unen en su cadena base a los aminoácidos (Mataix, 2009).

Entre los efectos que tiene la desnaturalización en las proteínas se encuentra (Cheftel y otros, 1989):

1) El descenso de la solubilidad resultado del desbloqueo de grupos hidrófobos.
2) La alteración de la capacidad de fijación de agua.
3) La pérdida de actividad biológica (por ej. enzimática o/y inmunológica.
4) El aumento de la sensibilidad al ataque de las proteasas, debido al desbloqueo de enlaces peptídicos correspondientes a so sitios de acción específica de las proteasas.
5) El aumento de la viscosidad intrínseca.
6) Su incapacidad a la cristalización.

La desnaturalización puede ser reversible o irreversible aun que cuando se rompen enlaces disulfuro suele ser irreversible. La sensibilidad a la desnaturalización está dada por la velocidad con la que el agente desnaturalizante rompe las interacciones o enlaces que establecen las estructuras secundaria, terciaria o cuaternaria. Como estas estructuras varían de una proteína a otra, los efectos también cambian de acuerdo a la proteína (Cheftel y otros, 1989).

1.5.2. Aminoácidos y la salud

Para la producción de proteínas en el cuerpo se utilizan 20 aminoácidos denominados proteinogénicos (ver Figura 8), aquellos como el ácido γ-aminobutírico, la cistina, la creatina, la dopamina, el carboxiglutamato, la hidroxilisina, la hidroxiprolina, la metil-histidina, la metil-lisina, la ornitina y la taurina no funcionan para la producción de proteínas por lo que se les llama no proteinogénicos (Cheftel y otros, 1989; Soriano, 2006).

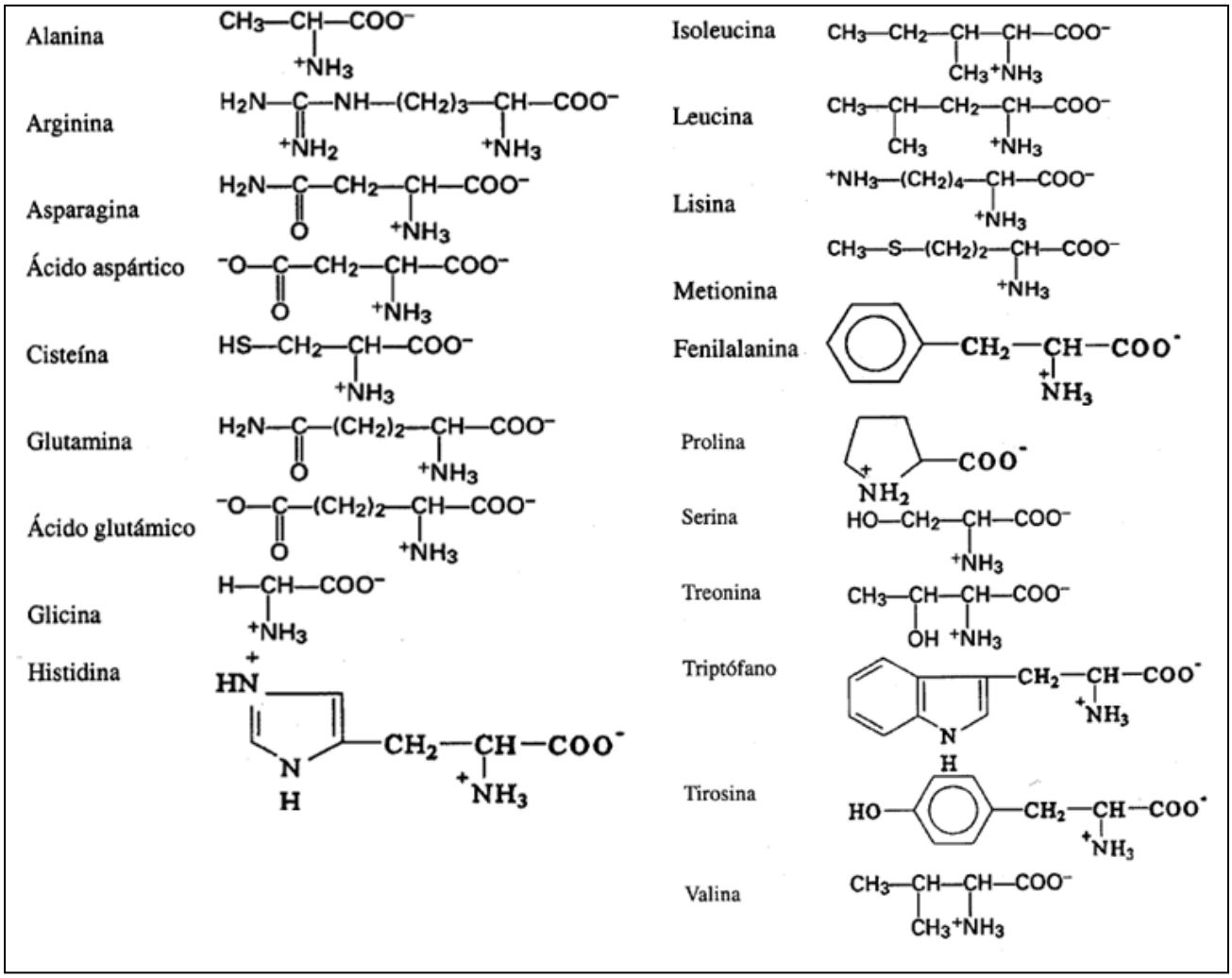


Figura 8 Aminoácidos y su estructura en pH neutro (Fennema, 1993)

De entre los proteinogénicos, 10 son los aminoácidos que no puede producir el cuerpo (esenciales), sin embargo, dos de ellos (la arginina y la histidina) solo se consideran como tal en la primera infancia o en ocasiones especiales a lo largo de la vida. La arginina se puede sintetizar en el hígado y forma parte del ciclo de la urea, en ocasiones su sintetización puede no ser suficiente para las exigencias del cuerpo. La histidina no se sintetiza en el cuerpo, pero la microflora intestinal la produce en cantidad suficiente por lo que es esencial en niños recién nacidos que aun no desarrollan microflora (Cheftel y otros, 1989; Mataix, 2009).

Tabla 5 Clasificación de los aminoácidos

Proteinogénicos	**Esenciales**	**Arginina[1]** **Fenilalanina** **Histidina[1]** **Isoleucina** **Leucina** **Lisina** **Metionina** **Treonina** **Triptófano** **Valina**	**Glucogénicos**		**Alanina** **Arginina** **Asparragina** **Ácido aspártico** **Cisteína** **Glicina** **Ácido glutámico** **Glutamina** **Histidina** **Metionina** **Prolina** **Serina** **Treonina** **Valina**
	No esenciales	Alanina Asparragina Ácido aspártico Cisteína Glicina Ácido glutámico Glutamina Prolina Serina Tirosina	Cetogénicos		Fenilalanina Leucina Lisina Tirosina Triptófano
			Glucocetogénicos		Isoleucina
No proteinogénicos	Ácido γ-aminobutírico Cistina Creatina Dopamina γ-carboxiglutamato Hidroxi-lisina Hidroxi-prolina Metil-histidina Metil-lisina Ornitina Taurina				

Fuente: (Soriano J. M., 2006)

El resto de los aminoácidos proteinogénicos, los no esenciales, se pueden obtener a partir de la transformación de otros, por ejemplo, de la cisteína se obtiene la metionina, mientras que de la fenilalanina se obtiene la tirosina (pero no inversamente). La esencialidad de los aminoácidos no indica ninguna superioridad jerárquica en su funcionalidad, tan solo es una característica nutricional que denota que se necesitaría un aumento en el consumo de algún aminoácido esencial para cubrir la falta del no esencial. Consumir solo aminoácidos esenciales no basta tampoco, el grupo amino no se puede sintetizar en el cuerpo por lo que aunque si estuvieran las estructuras carbonatadas correspondientes no habrá formación de aminoácidos (Soriano, 2006; Mataix, 2009).

De entre los aminoácidos con mayor repercusión en nutrición a escala mundial destacan la lisina, la metionina y el triptófano pues son escasos en ciertos alimentos de gran consumo. Algunos aminoácidos además de su función de proteinogénicos (ver Tabla 5) pueden ser formadores de glucosa (glucogénicos), grupos cetónicos (cetogénicos) o ambos (glucocetogénicos), la disponibilidad de glucosa en todo momento es vital para el cuerpo, el sistema nervioso y los leucocitos de la sangre no pueden consumir otro nutriente (Soriano, 2006).

1.5.3. Calidad proteica

El cuerpo se encuentra en un ciclo continuo de ruptura y formación de proteínas, la regeneración de las proteínas implica su degradación hasta los aminoácidos que las conformaron, reutilizar algunos de estos aminoácidos y con los aportados por la dieta, formar nuevas proteínas de acuerdo a las necesidades a cada momento. A este mecanismo se le llama “recambio proteico”, éste es indispensable para el mantenimiento de la vida, es la principal causa del consumo energético en reposo (metabolismo basal) (Soriano, 2006).

Para el momento de síntesis proteica, el metabolismo necesita que todos los componentes necesarios estén presentes en concentración suficiente, por ello, la calidad de una proteína representa el grado de aproximación química (contenido y proporción de aminoácidos) de la proteína con respecto a las que necesita sintetizar nuestro cuerpo. En la práctica muchos alimentos aportan proteínas que no son de alta calidad por presentar algún aminoácido esencial en proporción baja, en relación con este hecho se define el concepto de aminoácido limitante como el esencial de la proteína que se evalúa con respecto a la proteína de referencia. Para fines de investigación se utiliza como referencia las proteínas completas del huevo por ser similares a las de las proteínas endógenas (Soriano, 2006).

A continuación se presenta una breve descripción de los métodos utilizados usualmente en investigación para evaluar proteínas, esenciales para poder interpretar posibles resultados de otras investigaciones que se encuentren (Soriano, 2006).

Métodos químicos: Se basan en determinaciones químicas de los contenidos en aminoácidos de la proteína, sin tener en cuenta ningún otro factor biológico (Cheftel y otros, 1989; Soriano, 2006).

- Aminograma: Es un análisis de los aminoácidos contenidos, se realiza por cromatografía líquida de alta resolución previa hidrólisis de la proteína, se expresa en gramos de aminoácidos por cada 100 gramos de proteína. La asparragina y la glutamina no aparecen en este método por la hidrólisis que las transforma a óxido aspártico y ácido glutámico. Aunque es posible cuantificarlos por otros métodos pero es costoso y laborioso.
- Cómputo o índice químico: es el grado de contribución del aminoácido limitante en la proteína evaluada con respecto a la de referencia.
- Índice de aminoácidos esenciales: Es la media geométrica de las proporciones de cada aminoácido esencial en la proteína problema con respecto a la de referencia.
- Lisina disponible: Ya que no es muy abundante en bastantes alimentos y a que los procesos de preparación pueden reducir su disponibilidad, la lisina funciona como buen parámetro en los alimentos. Cuando hay tratamientos de calor y en el alimento hay presencia de lisina y azúcares reductores como la glucosa, lactosa o galactosa (como ocurre con la leche), produce una serie de reacciones llamada pardeamiento no enzimático, reacciones de Maillard o caramelización. En medio básico fuerte, la lisina puede reaccionar con la cisteína y formar lisinoalanina, que es potencialmente tóxica. Se puede determinar la cantidad disponible de lisina por derivatización del grupo amino libre y posterior cromatografía líquida de alta resolución (Soriano, 2006).

Métodos biológicos: Se llevan a cabo en animales de experimentación, toman en cuenta la utilización de la proteína de la dieta. Para calcular éstos índices biológicos, no se evalúan las proteínas de forma intacta, sino que se digieren químicamente y se cuantifica el nitrógeno procedente de ellas en forma de amoníaco, por esta razón se habla de nitrógeno (N) ingerido (de la dieta), proteico, fecal, urinario, etc., ver la Tabla 6 para valores de un amplio rango de alimentos (Cheftel y otros, 1989; Soriano, 2006).

- Coeficiente de eficacia en crecimiento (CEC) o relación de eficiencia proteica (REP): es el aumento de peso corporal dividido por el peso de proteínas consumidas.
- Coeficiente de digestibilidad aparente (CDA): Es la proporción de nitrógeno proteico del alimento absorbido respecto al ingerido. Los valores de CDA son más altos para proteínas de origen animal (97% para el huevo y proporcionalmente inferiores para la carne, el pescado y la leche) y más bajos para las de origen vegetal (alrededor del 85% para el trigo y las leguminosas y 90% para el maíz).
- Coeficiente de digestibilidad verdadera (CDV): Similar al CDA solo que considera el nitrógeno eliminado por las heces de origen endógeno y no procede exclusivamente del no absorbido desde la dieta (Mataix, 2009).
- Valor biológico (VB): es la proporción de nitrógeno absorbido que queda retenido en el organismo. Se estudia en animales en crecimiento (ratas después del destete) la proteína en estudio es la única fuente de nitrógeno de la dieta. Previamente se han de evaluar las pérdidas de nitrógeno fecal y urinario endógeno.
- Utilización neta de la proteína (UNP): Es la proporción del nitrógeno consumido que queda retenido por el organismo. Se puede obtener multiplicando el calor biológico por la digestibilidad, en cuyo caso se denomina ‘calculada’.
- Calificación de aminoácidos corregida por la digestibilidad por la digestibilidad de la proteína (PDCAAS): Método aceptado por la OMS y la FDA para evaluar la calidad de las proteínas. Compara la concentración de aminoácido limitante en la proteína de ensayo con la concentración de ese mismo aminoácido en la referencia que, en este caso, se basa en los requerimientos de aminoácidos de niños de entre 2 y 5 años de edad (no en la proteína patrón de huevo), y tiene en cuenta la digestibilidad verdadera. Las proteínas que después de la corrección por digestibilidad proporcionan aminoácidos iguales o superiores a los de los requerimientos, reciben un PDCAAS de 1.0.

Todos los índices químicos o biológicos presentan defectos; los químicos no toman en cuenta factores propios del metabolismo de la proteína o que los aminoácidos puedan estar en formas químicas no utilizables (Soriano, 2006).

Los índices biológicos son más costoso y variables, también existen parámetro utilizados en la PDCAAS que son cuestionables:

a) La elección de los requerimientos para niños de 2 a 5 años como referencia.

b) La validez de la corrección fecal en lugar de la ileal.

c) No tener en cuenta el resto de la dieta que aporta otras proteínas.

d) Ajustar a 100% cuando el valor obtenido supera dicha cifra.

Por ejemplo, según este índice, la proteína de soya presenta un valor de 91% casi igual al de la proteína de buey (92%), que por lo tanto, tendría la misma calidad. Sin embargo 1.2 g de caseína pueden complementar eficazmente 1 g de proteína de trigo, mientras que se necesitarían 6.2 g de proteína de soya con el mismo fin (Soriano, 2006).

Tabla 6 Calidad proteica de distintos alimentos

Alimento	Índice químico	Valor biológico (VB)	Utilización neta de la proteína (NPU)	Coeficiente de eficacia en el crecimiento (per)
Huevo	100	100	94	3.92
Leche de vaca	95	93	82	3.09
Pescado	71	76	--	3.55
Carne de res	69	74	67	2.3
Arroz no pulido	67	86	59	--
Cacahuate	65	55	55	1.65
Avena	57	65	--	2.19
Arroz pulido	57	64	57	2.18
Trigo completo	53	65	49	1.53
Maíz	49	72	36	--
Soya	47	73	61	2.32
Ajonjolí	42	62	53	1.77
Guisantes	37	64	55	1.57
Leche humana	100	100	96	--

Fuente: (Mataix, 2009).

1.5.4. Complementación proteica

El cuerpo humano requiere de 20 aminoácidos para la síntesis de proteínas, 8 de estos no los puede sintetizar por sí mismo (10 en la infancia temprana), la ausencia de tan solo uno de los aminoácidos evita la síntesis de la proteína (Bodwell, 1975).

Tabla 7 Contenido de aminoácidos esenciales en distintas proteínas (mg aminoácidos/g proteína)

Aminoácido mg aa/ g de proteína	Leche humana	Leche de vaca	Huevo de gallina	Carne de vaca	Pescado (varias especies)	Grano de trigo	Grano de soya
Histidina	26	27	22	34	35	25	28
Isoleucina	46	47	54	48	48	35	50
Leucina	93	95	86	81	77	72	85
Lisina	66	78	70	89	91	31	70
Metionina y cisteína	42	33	57	40	40	43	28
Fenilalanina y tirosina	72	102	93	80	76	80	88
Treonina	43	44	47	46	46	31	42
Triptófano	17	14	17	11	11	12	14
Valina	55	64	66	50	61	47	53
Total aa esenciales sin la histidina	434	477	490	445	450	351	430
Proteína (g/100 g)	0.9	3.5	12	18	19	12	40

Fuente: (Mataix, 2009)

En los alimentos que consumimos habitualmente es común haya deficiencia de triptófano, lisina y metionina (ver Tabla 7), sobre todo cuando la dieta se basa en cereales y tubérculos; las proteínas de los cereales son en general deficientes en lisina (trigo, arroz), el maíz además es pobre en triptófano, las leguminosas como garbanzos, lentejas y judías son pobres en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína). Por otro lado, las proteínas de origen animal tienen una composición más próxima a la considerada ideal, con un ligero déficit de metionina. Si en una misma comida se combinan dos

alimentos que al sumarse sus contenidos en aminoácidos cubren las necesidades de la dieta o bien que compensen la deficiencia mutua de aminoácidos esenciales, es como haber consumido una proteína de mayor calidad. Cabe mencionar que no se da una buena complementación al ingerir lentejas o garbanzos con carne pues tienen los mismos aminoácidos limitantes, tampoco se puede hablar de complementación con una proteína que ya de por si es de elevada calidad (Cheftel y otros, 1989; Soriano, 2006).

1.5.5. Necesidades proteicas

Las proteínas necesarias para el recambio proteico es un número difícil de establecer pues depende de la edad, sexo, etapa de crecimiento, estado de salud en general y del aparato digestivo y riñones, valor biológico de las proteínas ingeridas, la ingesta de otros nutrientes, los estados fisiológicos particulares (embarazo, lactancia), los hábitos culinarios y culturales, la actividad física, etc. El punto óptimo de consumo de proteínas es cuando las pérdidas de nitrógeno (proteínas) es igual al que se consume, para un adulto de actividad física media se recomiendan 96 a 125 mg N/kg, lo que equivale a entre 600 y 800 mg de proteína/kg/día. Se han calculado promedios de necesidades de aminoácidos esenciales para varios grupos de edades, los valores se presentan en la Tabla 8 (Cheftel y otros, 1989).

Tabla 8 Necesidad de aminoácidos a diferentes edades

Aminoácidos	**Edades**			
	3 a 4 meses	2 años	10 a 12 años	Adulto
	mg/kg/día			
Histidina	28	-	-	8-12
Isoleucina	70	31	28	10
Leucina	161	73	44	14
Lisina	103	64	44	12
Azufrados	58	27	22	13
Aromáticos	125	69	22	14
Treonina	87	37	28	7
Triptófano	17	12.5	3.3	3.5
Valina	93	38	25	10
Total (sin histidina)	714	352	216	84

Fuente: (Bourges y otros, 2009)

Distintos alimentos poseen diferentes composiciones por lo que además del contenido en aminoácidos se debe considerar la cantidad de proteína que presenta (ver Tabla 9) (Bodwell, 1975).

Tabla 9 Principales fuentes de proteínas de la dieta occidental

Origen	Alimentos	Contenido proteico (g/100 g alimento)
Animal	Huevos	12.9
	Carnes (ternera, cordero, cerdo, aves)	14.7-24.1
	Leche	3.3
	Quesos	11.1-35.6
	Pescados	15-20.1
	Mariscos	9-18.6
Vegetal	Cereales (trigo, arroz, maíz)	7-10.4
	Legumbres (lentejas, garbanzos, judías)	19-23.9
	Soya	36.8
	Tubérculos (papas)	2
	Hortalizas (espinacas, alcachofas, cebolla, espárragos, pepinos, col, etc.)	0.6-4.9
	Frutos secos (piñón, avellana, almendra, cacahuate)	13-26
	Frutas (piña, naranja, plátano, higos)	0.4-1.3
Setas	Champiñón, níscalo	1.9-2.7

Fuente: (Soriano y otros, 2006).

1.5.6. Aspectos nutricionales y producción de la harina de lombriz

Para la elaboración de harina a partir de lombriz *E. fetida*, primero se hace la recepción de materia prima donde se escogen tantos especímenes como sea necesario para producir la cantidad objetivo de harina, considerando que 1 kg de lombrices vivas producirán alrededor de 175 g de harina de lombriz. Las lombrices que serán destinadas a la elaboración de harina deben pasar por ciertas etapas de limpieza con el objetivo de disminuir la carga microbiana lo más posible; se dejan un día en un nuevo sustrato que contenga un mínimo de carga microbiana para limpiar sus intestinos, finalmente son lavadas en varias ocasiones con agua potable para posteriormente poder secarlas por el método de elección. Existe información de almacenamiento a medio plazo (6 meses) donde se hacen evaluaciones del efecto de varios métodos en la calidad nutricional de la harina de lombriz, el método más eficaz para preservar el contenido lipídico es el de refrigeración a 5°C, éste y otros

métodos no afectan la proteína (Cova y otros, 2009). En la Tabla 10, Tabla 11 y Tabla 12 se muestra el contenido nutricional de la harina de lombriz (Cova y otros, 2009).

Tabla 10 Contenido proteico y energía bruta en la harina de *Eisenia spp.* (Cova y otros, 2009)

Variable	
Proteína bruta [PB] (%)	57.16
Proteína verdadera [PV] (%PB)	90.46
Proteína soluble [PS] (%)	5.17
Energía bruta [EB] (kJ/g MS)	19.21
Grasas totales [GrT] (%)	5.68
Ácidos grasos saturados [AGS] (%)	3.28
Ácidos grasos mono-insaturados [AGI] (%)	1.74
Ácidos grasos poli-insaturados [AGP] (%)	1.63

Tabla 11 Contenido de macroelementos y microelementos en la harina de *Eisenia spp.* (Cova y otros, 2009)

Variable	
Fósforo (g)	0.81
Potasio(g)	0.70
Calcio (g)	0.37
Magnesio (g)	0.23
Hierro (ppm)	16.03
Cobre (ppm)	19.00
Manganeso (ppm)	43.54
Zinc (ppm)	117.50
Ceniza (%)	1305

Tabla 12 Digestibilidad in vitro y degradabilidad ruminal de la harina de *Eisenia spp.* (Cova y otros, 2009)

	%
Digestibilidad in vitro de la materia seca [DIVMS]	64.69
Digestibilidad in vitro de la proteína bruta [DIVPB]	70.41
Degradabilidad ruminal *in situ* de la materia seca [DgMS]	68.59
Degradabilidad ruminal *in situ* de la proteína bruta [DgPB]	49.65

Para convertir a la lombriz en un producto de fácil manipulación se recomienda someterlo a un tratamiento como puede ser la deshidratación que es uno de los métodos más utilizados actualmente en la industria de los alimentos, ya que a través de éste se obtienen productos novedosos y al mismo tiempo funge como método de conservación ya que disminuye la actividad de agua al eliminar una gran porción del agua en el alimento, la cual es causante de la naturaleza perecedera al promover reacciones químicas y enzimáticas (Boulogne y otros, 2008).

1.5.6.1. Secado por aire caliente

En los procesos de deshidratación el agua del alimento es eliminada, en mayor o menor grado, y se consigue con ello una mejor conservación microbiológica, además de retardar muchas reacciones indeseables; es el proceso más empleado a nivel industrial para remover la humedad de un alimento, este proceso involucra una transferencia simultánea de calor y masa en un alimento (Ibarz, 2005).

Durante el proceso, el calor requerido para evaporar el agua del producto es suministrado por aire caliente en contacto directo con el material, efectuando la transferencia de calor por convección y conducción, el mismo aire caliente es el que arrastra la humedad del producto, la cual se mueve a través del alimento con fuerzas capilares (Colina, 2010).

Por lo general la deshidratación de alimentos sólidos sigue una serie de eventos como:

a) Los tejidos animales poseen una estructura porosa con estrechos conductos llamados capilares. Cuando la estructura celular está intacta (inicio de la deshidratación), el agua se desplaza a través de ellos hacia la superficie donde es eliminada, éste mecanismo se denomina capilaridad.
b) Conforme el agua se evapora de la superficie húmeda, el diámetro de los poros superficiales y de los capilares disminuye y los elementos estructurales sólidos se acercan. El encogimiento del producto es proporcional al volumen de agua evaporada.
c) A medida que se elimina más agua, la estructura del producto sufre cada vez más deformaciones lo que provoca mayor encogimiento del producto y reducción de los espacios libres o capilares. Entonces el agua empieza a desplazarse por difusión molecular hacia las partes con menor concentración de agua, en este caso hacia la superficie.

Durante el secado, los alimentos sólidos pueden sufrir cambios tanto en sus características físicas y estructurales como en su composición química, los cuales tienen una marcada influencia en la

calidad del producto, dependiendo la intensidad de estos fenómenos de la mayor o menor agresividad térmica del tratamiento, entre los cambios físicos se encuentran (Morata, 2010):

- Encogimiento del producto: provocado por la pérdida de agua, las células se compactan provocando el encogimiento del producto.
- Endurecimiento de la superficie del producto: cuando se utiliza aire con temperatura muy elevada, existe el riesgo de que la humedad de la superficie del alimento sea eliminado con mayor rapidez de lo que el agua puede difundirse dentro del alimento hacia la superficie, por lo que se forma una costra o endurecimiento, que dificultará la remoción del agua que se encuentra aún dentro del alimento (Barbosa y Vega, 2000).

Dentro de los cambios químicos que sufren los productos durante el secado pueden mencionarse:

- Reacciones enzimáticas: Cuando la actividad de agua alcanza valores menores a 0.75 se inhibe la actividad enzimática, por lo que estas reacciones no constituyen un problema para productos deshidratados, sin embargo, durante las etapas iniciales de la deshidratación aún no se consiguen un nivel de actividad de agua suficientemente bajo, por lo que se deben evitar algunas reacciones indeseables como el oscurecimiento. Para disminuir estos efectos se da un tratamiento previo a aquellos alimentos que soportan un ligero incremento del calor (escaldado), en otros casos se usan químicos para inhibir enzimas (Colina, 2010).
- Oscurecimiento no enzimático o daño por calor: el oscurecimiento es un cambio irreversible vinculado por un excesivo calentamiento, y que además del color, puede afectar también el sabor, el contenido de nutrientes tales como carbohidratos, proteínas y algunas vitaminas, especialmente el ácido ascórbico. Entre las reacciones químicas que causan el oscurecimiento se encuentran la caramelización y las reacciones de Maillard, en donde uno o más grupos carbonilos, que pueden provenir de los azúcares, reaccionan con grupos aminos de aminoácidos o proteínas, dando como resultado reacciones complejas que dan coloraciones rosa o rojizas y, finalmente, originan polímeros insolubles de color café.

  Las reacciones que dan lugar al oscurecimiento son lentas cuando el alimento contiene una humedad alta, sin embargo, durante las últimas etapas de la deshidratación disminuye la humedad y la reacción se acelera. Por lo que debe encontrase para cada caso en particular la temperatura tal que lleve a un proceso más corto, con objeto de reducir los costos del mismo, pero que no cause excesivo oscurecimiento del producto (Barbosa y Vega, 2000).

- Destrucción de nutrientes: la degradación de nutrientes generalmente sigue una reacción de primer orden, siendo la temperatura uno de los factores que influyen de manera directa en la velocidad de reacción. La deshidratación puede reducir la digestibilidad y el valor biológico de las proteínas, así como ocasionar pérdidas de algunas vitaminas como tiamina, ácido fólico y vitamina C (Colina, 2010).
- Estabilidad microbiana: la capacidad de los microorganismos para vivir y producir toxinas está determinada por la actividad de agua. La baja actividad de agua de los productos deshidratados inhibe el desarrollo de cualquier tipo de microorganismo (Colina, 2010).

1.5.7. Seguridad alimentaria

El uso de alimentos en descomposición presenta riesgos para la producción de alimento por la exposición que representa a la futura materia prima, como es el caso de la lombricultura donde se utiliza como sustrato, sin embargo existen medidas que pueden ser tomadas para disminuirlo, por ejemplo al cosechar las lombrices, antes de matarlas se les alimenta con una mezcla de harina y agua para disminuir la carga microbiana en sus deyecciones (Boulogne y otros, 2008). La eliminación total del riesgo inherente al origen de los alimentos no se puede eliminar pero su disminución es esencial. Una medida preventiva extra está en el secado, aun cuando la temperatura ideal para mantener la proteína lo más íntegra posible es 60°C, se utiliza 70°C para eliminar la mayor cantidad de microorganismos, además, la deshidratación inhibirá su crecimiento. Si la lombricultura se volviera un proceso a gran escala, sería posible apoyar en la generación de alimento, aumentando la cantidad disponible para la población (Brown y Stringer, 2003).

En la producción de alimentos se necesita tener precaución en la distribución, al aumentar la demanda de alimentos, aumenta el volumen de alimento que se necesita procesar, cada vez es más común que sucedan desastres como ha ocurrido con la encefalopatía espongiforme bovina (EEB o enfermedad de las vacas locas), gripe aviar etc. que tienen grandes repercusiones al ser productos de importación que llegan a muchos países a un mismo tiempo (García, 2008).

Bajo estas situaciones, surgió el concepto de seguridad alimentaria para intentar evitar ocurran situaciones que afecten a los consumidores y asegurar acceso a fuentes de alimento, se dice que hay seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico, social y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana (FAO, 2006).

El humano consume alimentos para tener aporte de los nutrientes que necesita y para satisfacer sus sentidos, estas dos funciones básicas y el requisito de que debe ser inocuo el alimento son los que se deben considerar para proveer de un alimento seguro, un alimento seguro es aquel que no es nocivo para la salud humana y es apto para el consumo humano (García, 2008). En la catalogación de la nocividad de un alimento para la salud humana se tiene en cuenta los posibles efectos inmediatos a corto y a largo plazo en la persona que lo consume y en la de sus descendientes, así como los efectos tóxicos acumulativos y la de sus descendientes y la especial sensibilidad de orden orgánico en determinados grupos de consumidores. Se considera que un alimento es apto para el consumo humano de acuerdo con el uso para el que está destinado cuando no está contaminado por una matera extraña, ni está putrefacto, deteriorado ni descompuesto (Bello y otros, 2000).

Existen tres tipos de agentes que pueden contaminar a un alimento, volviéndolo un riesgo potencial para la salud del consumidor (García, 2008):

1) Biológicos: Tales como bacterias, virus, parásitos, hongos y algas.
2) Químicos: Metales pesados (plomo, cadmio, mercurio), dioxinas, sustancias químicas utilizadas en la industria de alimentos, residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios. El grado en que afectan dependerá de la concentración del compuesto, la susceptibilidad de la persona que lo consuma y demás factores considerados por la toxicología. Pueden ser sustancias contenidas en los alimentos naturalmente o haber sido transmitidas por el ambiente donde crece el alimento.

   Naturales: Presentes en rocas y suelos, pueden provenir de fenómenos naturales como los incendios o erupciones volcánicas (mercurio, hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc.).

   Contaminación medioambiental: Por vertidos o emisiones en el suelo, el agua y el aire (plomo, cadmio, mercurio, dioxinas, bifenilos policlorados, etc.). Muchas actividades humanas producen desechos que son vertidos al medio, esta contaminación puede ser controlada mediante un tratamiento específico para el desecho y así realizar un menor impacto negativo.

   Accidentales: Accidentes de radiación, inundaciones, derrames de petróleo etc.

Prácticas agrícolas, ganaderas, industriales y culinarias como aditivos, fertilizantes, insecticidas, medicinas usadas contra enfermedades de animales, sustancias generadas a partir de algunos procesos industriales etc.

3) Físicos: Incorporados generalmente por accidente en los procesos de elaboración y envasado industrial a causa de manipulación e higiene incorrectas. Algunos ejemplos son trozos de hueso, cáscaras de frutos secos y de caparazones de mariscos, espinas de pescado o trozos de cristal. Estos generan accidentes más que enfermedades.

Como tal no existen alimentos con total ausencia de riesgo pues lo que no afecta a un sector de la población puede afectar a otra y viceversa (como puede ser el caso de los grupos vulnerables que incluyen a los bebes, niños, ancianos, mujeres embarazadas y lactantes, enfermos, convalecientes y personas inmunodeficientes), sin embargo, existen prácticas que lo pueden reducir hasta límites seguros para el consumidor. Estas prácticas recaen en las autoridades (establecen límites), los responsables de industrias (trabajan dentro del rango de los límites), establecimientos y consumidores (que deben mantener la seguridad alimenticia que tiene el alimento comprado) (Bello y otros, 2000; García, 2008).

Algunos de los factores que tienen influencia en la seguridad de los alimentos de origen animal son: localización de la granja, prácticas específicas de cuidado de los animales, tamaño de la población en la granja, suministro de agua, régimen de alimentación, exposición a patógenos o animales externos a la granja, infecciones, condiciones y duración de transporte (Smulders y Collins, 2004).

Es por ello se hacen pruebas microbiológicas para comprobar que no exista riesgo biológico, el riesgo químico se elimina al no usar estiércol. Cuando se practica la lombricultura, los compuestos de los desechos se concentraran al volverse composta, por ejemplo la presencia de metales pesados u otras sustancias nocivas aumenta por la reducción de su masa (Elias, 2009).

2. METODOLOGÍA

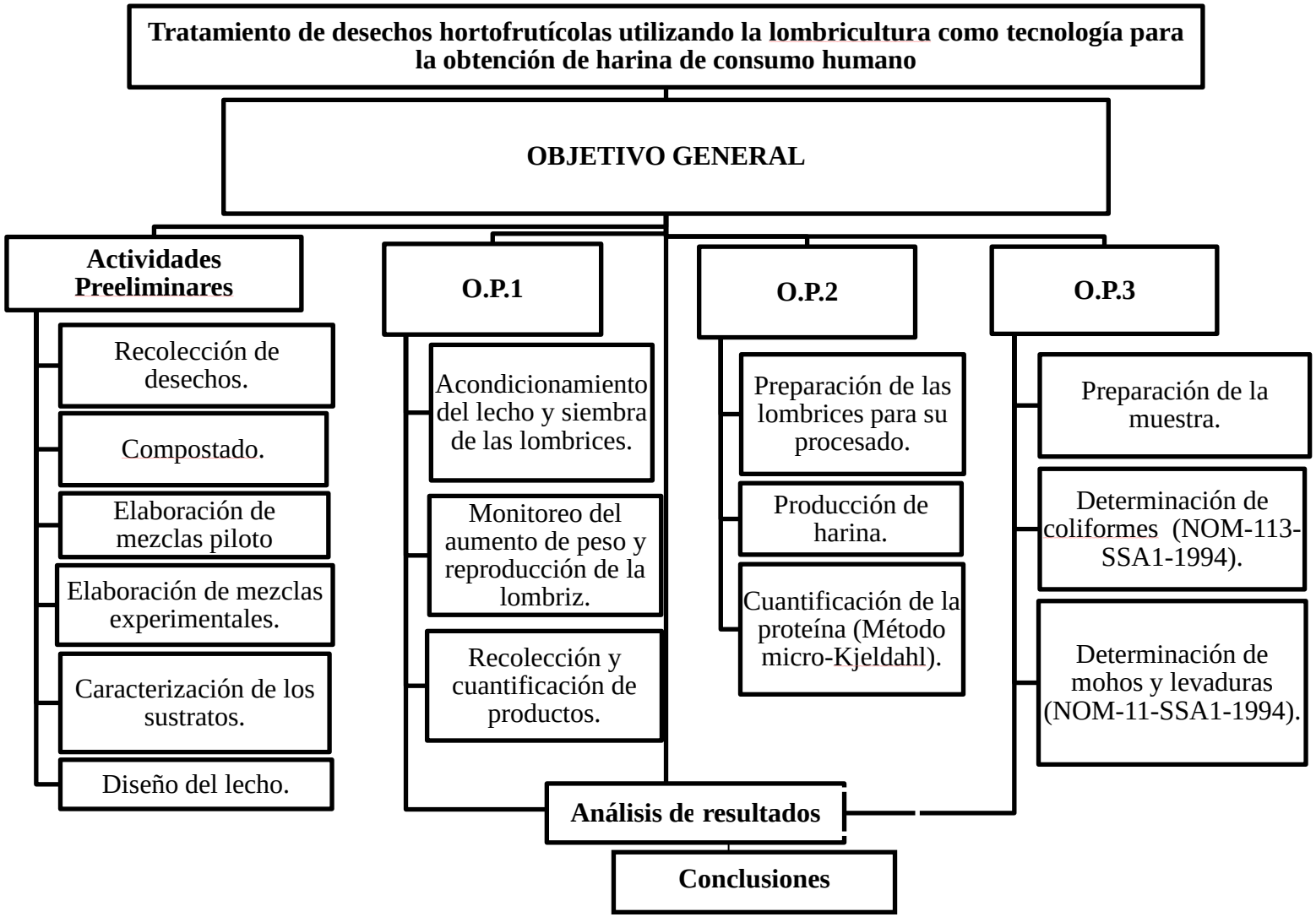
OBJETIVO GENERAL: Aprovechar los desechos generados en la industria alimentaria mediante un tratamiento biológico (lombricultura) para la producción de harina de lombriz para consumo humano.

OBJETIVO PARTICULAR 1: Contrastar el efecto de la alimentación en la crianza de la lombriz utilizando tres formulaciones de dieta (mezclas de desechos hortofrutícolas) para la producción de biomasa de Eisenia fetida.

OBJETIVO PARTICULAR 2: Evaluar las harinas producidas a partir de la biomasa de Eisenia fetida generada en cada dieta mediante pruebas químicas para la determinación del efecto en la calidad proteica de la harina según la dieta usada en la crianza.

OBJETIVO PARTICULAR 3: Evaluar la calidad microbiológica de las harinas producidas mediante la determinación de coliformes totales y mohos y levaduras, para asegurar que puede ser destinada al consumo humano.

2.1. CUADRO METODOLÓGICO



2.2. ACTIVIDADES PRELIMINARES

2.2.1. Recolecta y caracterización de los desechos

Se recolectaron 8 de los desechos de frutas y hortalizas más abundantes encontrados en el tianguis local, con los cuales se elaboró posteriormente la composta que sirvió como sustrato y hábitat para las lombrices.

Procedimiento

1) Se visitaron los expendios locales de frutas y verduras (tianguis) y se observó el tipo de basura generada así como su abundancia.
2) Se seleccionaron los desechos más abundantes que pudieran ser recolectados con regularidad para asegurar gran volumen de composta resultante total.
3) Se pesó cada residuo por separado con el fin de proporcionar información acerca del rendimiento de compostaje en cada residuo.

2.2.2. Compostaje

El compostaje es fundamental en los desechos que serán destinados como sustrato para las lombrices, asegura no tener condiciones perjudiciales mediante el desarrollo controlado de la descomposición de los desechos donde primero aumenta y luego disminuye la temperatura (oscilando entre la temperatura ambiente y los 60°C), la relación C/N y el pH disminuyen, esto gracias al metabolismo de los microorganismo degradadores de la materia orgánica presentes durante el proceso.

Procedimiento

1) Se trituraron los residuos recolectados con ayuda de un molino manual para semillas, con el propósito de aumentar el área expuesta al ataque microbiano (Moreno y Moral, 2008) y así optimizar el proceso de compostaje.
2) Se apilaron los desechos dentro de bolsas de basura en una cubeta para aumentar la altura de la pila.
3) Se monitorearon las variables del proceso regularmente (pH, %humedad, temperatura (°C)) para observar la evolución del proceso y conocer su evolución.
4) Se airearon las pilas de desecho, la primera semana cada tercer día y posteriormente cada semana para promover las condiciones aerobias, el volteo se realizó manualmente con ayuda

de una pala durante un minuto. Las variables anteriores se midieron antes y después del volteo.

5) Se continuó este proceso hasta la autorregulación de la temperatura a 32°C o menos, asegurándose no aumentara aún pasado un día.

2.2.2.1. Caracterización de desechos

A los desechos compostados se les realizaron pruebas de cenizas y proteínas para determinar la relación C/N de cada uno, esto con el objetivo de conocer la mineralización de la materia orgánica y a partir de ello decidir el porcentaje que debe de utilizarse por desecho para conseguir una mezcla adecuada como sustrato de crianza para las lombrices; mientras menor sea el valor de la relación C/N de cada uno, mayor será el grado de mineralización alcanzado en el compostado, se debe considerar que las lombrices necesitan de aproximadamente 10 partes de carbono por una de nitrógeno (Compagnoni y Putzolu, 2001). A la paja utilizada como corrector de propiedades fisicoquímicas también se le realizó las pruebas para conocer sus propiedades y poder utilizarlo en la mezcla.

Preparación del material para las pruebas: crisoles

1) Los crisoles fueron lavados profusamente con agua, se secaron con papel limpio que no dejara residuos y se pasó por toda la superficie un algodón empapado de éter para eliminar cualquier impureza extra, se usaron guantes mientras se hizo esto y en adelante para evitar transferir grasa de las manos al crisol.
2) Los crisoles fueron marcados y se colocaron en la mufla durante dos horas una vez había alcanzado los 550°C.
3) Los crisoles se colocaron en un desecador, dejándolos enfriar a temperatura ambiente durante al menos 1 h, la tapa debía estar entreabierta durante quince minutos para evitar la formación de vacío en el desecador.
4) Una vez fríos los crisoles se pesaron, considerando hasta el miligramo más cercano.
5) Se colocaron en la mufla, permaneciendo 1 h más.
6) Nuevamente se metieron al desecador los crisoles, repitiendo el procedimiento en el paso 3 y el paso 4.
7) Se repitió el paso 5 y paso 6 hasta que el peso registrado fue similar, con diferencia no mayor a 0.0005 g.

2.2.2.1.1. Cenizas

Método general (incineración) (Hart y Johnstone, 1991).

Por medio de la incineración, se eliminan todos los sólidos volátiles en la muestra dejando solo las cenizas, éstas se componen de carbonatos orgánicos de la materia orgánica, en las cenizas vegetales predominan los derivados del potasio y en las animales el sodio (Serna y Lopez, 2010).

Procedimiento

1) Se pesó 1 g de la muestra correspondiente en cada uno de los crisoles.
2) En una campana encendida se colocó un soporte con los crisoles, debajo de los mismos se colocaron 3 mecheros Fisher encendidos, manteniéndose así hasta conseguir cenizas blancas o grisáceas.
3) En un desecador se colocaron los crisoles, dejándolos enfriar a temperatura ambiente durante al menos 1 h, dejando entreabierta la tapa durante quince minutos para evitar la generación de vacío.
4) Se pesaron los crisoles con las cenizas y se metieron a la mufla (550°C) durante 2 h.
5) Se enfrió en el desecador como se hizo en el paso 3, se pesó y nuevamente se metieron a la mufla, durante 1 h mas.
6) Se repitió el paso 5 hasta que el peso no cambió en más de 0.0005 g.
7) Se calculó el porcentaje de cenizas en base húmeda con la siguiente fórmula.

Cálculo

$$\%\boldsymbol{Cenizas} = \frac{\boldsymbol{peso\ inicial - peso\ final\ del\ crisol}}{\boldsymbol{peso\ de\ la\ muestra}} \times \mathbf{100} \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \text{Ec. 3}$$

2.2.2.1.2. Nitrógeno Total

Método de Micro-Kjeldahl (International, 2006).

Se basa en la combustión húmeda de la muestra calentada con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador metálico donde se forman las sustancias nitrogenadas en sulfato de amonio valorable con desprendimiento de CO_2 y formación de agua (digestión), la muestra obtenida es colocada en un destilador con la finalidad de obtener el NH_3 libre a partir del NH_4SO_4 agregando NAOH + $NA_2S_2O_3$, recibiendo el destilado en un volumen de HBO_3 (destilación) y quedando atrapado el NH_2 para finalmente titularlo con el objeto de valorar el ácido en exceso y calcular el NH_3 desprendido (titulación).

Procedimiento

a) Digestión:

1) Se colocaron en el matraz micro-Kjledahl 0.9 g de sulfato de potasio y 40 mg de óxido de mercurio para cada una de las muestras y una más como muestra en blanco para comprobar la ausencia de nitrógeno en los reactivos.
2) Se pesó entre 0.1 y 0.15 g de muestra asegurándose no permaneciera en las paredes, se anotó el peso exacto para cada muestra.
3) Se añadió 2 ml de ácido sulfúrico concentrado a cada matraz Kjeldahl y se mezclaron los componentes con movimientos giratorios suaves.
4) Se colocaron los matraces sobre el digestor micro-Kjeldahl formando un ángulo de 40° respecto a la vertical.
5) Se calentaron los matraces a temperatura más baja hasta lograr dejara de generarse espuma, agitando ocasionalmente para evitar perder muestra o que subiera por las paredes.
6) Una vez perdidos los tonos obscuros, se calentó agua, se apagó el calentador y se permitió el matraz se enfriara 5 minutos para bajar las posibles partículas en las paredes con agua destilada.
7) La digestión continuó hasta que el contenido del matraz fuera transparente, incoloro y sin partículas, pues pueden tapar los capilares del destilador.
8) Terminada la digestión se dejó enfriar el matraz hasta 40°C y se añadió con cuidado aproximadamente 50 ml de agua, se mezcló y se dejó enfriar.

b) Destilación directa:

1) Se añadió 20 ml de solución de ácido bórico con 4 gotas de solución indicadora en un matraz Erlenmeyer de 75 ml, se mezcló y se colocó el matraz bajo el condensador del destilador de forma que la terminal de salida quedara inmersa en el líquido.
2) En la entrada al destilador se agregó la muestra mientras el receptor estaba abierto, se enjuagó el matraz Kjeldahl con agua destilada y se vertió nuevamente en la entrada.
3) Se cerró la entrada al destilador y se colocaron 10 ml de la mezcla de tiosulfato de sodio e hidróxido de sodio, se abrió lentamente la válvula para evitar reacciones explosivas.
4) Se esperó hasta recibir 40 ml del destilado.

c) Valoración:

1) Se cambió el destilado de un matraz de 75 ml a uno de 125 ml, se introdujo una mosca y se colocó sobre un termoagitador.
2) Se tituló con el ácido clorhídrico normalizado hasta conseguir un morado rosáceo.

Cálculos

$$\%\boldsymbol{Nitrógeno\ total} = \frac{V_2 - V_1}{W} \times Nx1.4 \cdots\cdots \text{Ec. 4}$$

$$\%\boldsymbol{Proteína\ bruta} = \frac{V_2 - V_1}{W} \times Nx1.4 * 6.25 \cdots\cdots \text{Ec. 5}$$

Donde:

W= Peso (g) de la muestra problema

V_1= Volumen (ml) de solución de HCl requerido para la prueba en blanco

V_2= Volumen (ml) de solución de HCl requerido para la muestra problema

N= Normalidad estandarizada del ácido utilizado en la titulación

2.2.2.1.3. Relación C/N

Se dividieron los porcentajes obtenidos de carbono entre 1.724 (factor de Benmelen) (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, 2007; SEMARNAT, 2000) y a su vez este valor se dividió entre el porcentaje de nitrógeno presente en la muestra, esta es la relación C/N para cada muestra.

2.2.3. Elaboración del sustrato

El sustrato sirve como alimento y hábitat para las lombrices, por lo que en éste, las lombrices deben encontrar satisfacción a todas sus necesidades vitales, el sustrato utilizado en el proyecto fue elaborado con los residuos compostados previamente y mezclándolos con paja para regular la relación C/N.

2.2.3.1. Mezclas piloto

La elaboración de los sustratos se realizó tomando en cuenta la relación de C/N determinada experimentalmente para cada uno de los desechos, y así predecir teóricamente con balances de materia la relación que tendría cada mezcla.

Procedimiento

Para calcular la relación C/N de una mezcla en base a la proporción de cada desecho se siguieron estos pasos:

1) Se usó como base de cálculo la mitad de la masa de cada desecho pues se debían realizar dos compostas (C/N=10 y C/N=20) con éstos.
2) Una vez conociendo la masa de cada desecho, se calculó el carbono y el nitrógeno aportado por cada desecho y se calculó la relación C/N, si no alcanzaba la deseada se agregaba paja

(ya que contiene únicamente carbono), aumentando su proporción hasta alcanzar el número deseado de relación C/N, se modificó también la cantidad de desechos usados si se creía balanceaba mejor la formulación de acuerdo al contenido de carbono y/o nitrógeno.

3) Se obtuvieron las proporciones (%) de cada desecho, se aseguró que cada mezcla tuviera 3% de cascarón de huevo y se ajustó la concentración para alcanzar la relación C/N objetivo pues también aporta carbono.

De acuerdo a lo anterior se realizaron 3 formulaciones de mezclas experimentales:

1. Formulación con relación C/N=10.
2. Formulación con relación C/N=20.
3. Formulación proporcionada por el criador, consiste en paja pero fue adicionada con cáscara de huevo y cáscara de aguacate, este último desecho se decidió agregar por ser de los más altos en contenido de nitrógeno en las pruebas de micro-Kjeldahl realizadas a los desechos y era fácilmente conseguible, esto permite ajustar la relación C/N en 30, es así que esta se utiliza como la formulación testigo.

NOTA: Se realizaron 3 lotes de aproximadamente 8 kg para cada formulación, incorporando 3% del peso total de cascarón de huevo pues se considera un excelente precursor en la producción de cocones (Castro y otros, 2007). El mezclado se realizó antes de las pruebas de aceptación de las lombrices hacia el sustrato en las mezclas piloto para que de ser necesario se modificaran las formulaciones. Se utilizó la paja del desecho obtenido tras el cultivo de setas, por lo que tiene presencia reducida de lignina, facilitando así su digestión para las lombrices (Ahmed y otros, 2009).

El cascarón de huevo se preparó de la siguiente manera (Castro, Cova, García, & Medina, 2007):

1) Se lavó con agua potable para quitar el exceso de suciedad, evitando así la proliferación de malos olores.
2) Se secaron a 120°C hasta que perdieron todo excedente de agua y tomaron un color amarillento para eliminar carga microbiana de patógenos que puedan interferir con la inocuidad del producto final.

2.2.3.1.1. Propiedades fisicoquímicas

El bienestar de las lombrices está en gran medida en función de las condiciones de su entorno, por esto es importante tener en cuenta las siguientes consideraciones antes de exhibirlas al nuevo sustrato (aceptación de las lombrices):

- Se requiere pH que esté entre 7.5 y 8.5, para lograr ésto, se disminuyó la alcalinidad con una solución de ácido cítrico al 50% de saturación. Para conocer la cantidad que requería la composta para el ajuste de pH, se siguió la siguiente metodología:
    1) Se agitó durante 5 min 10 g de composta con 40 ml de agua destilada.
    2) Se filtró la solución resultante.
    3) Se introdujo en la solución un potenciómetro manual, previamente calibrado y se tomó la lectura de pH.
    4) Se agregó la solución de ácido cítrico gota a gota, tomando la lectura del pH entre cada gota hasta que se obtuvo el pH deseado (aproximadamente 8).
    5) Con el resultado obtenido se realizó el cálculo para ajustar la cantidad de ácido cítrico requerido para el ajuste del pH a la masa de composta.
- La humedad requiere estar en valores entre 75 y 85%, la acción correctiva fue escurrir el sustrato al aumentar la inclinación del lecho y almacenar el agua obtenida para futuros riegos para cuando la humedad saliera del límite inferior.
- La conductividad eléctrica no debía exceder de 5 mS, si era el caso, se agregaba paja como acción correctiva.

Una vez estandarizados todos los parámetros se realizaron las pruebas de aceptación de las lombrices mediante la prueba de las 50 lombrices o P 50L, también conocida como prueba de supervivencia de las lombrices (realizable también con sólo 25, 10 ó 5 lombrices) (Schuldt, 2006). Es conveniente realizar estas pruebas en horas de la mañana, o al menos todavía con sol, ya que de esta manera la fotofobia de las lombrices asegura un rápido ingreso al nuevo sustrato, o bien si se hace sin sol, observar durante al menos dos horas su reacción; para su realización se siguieron los siguientes pasos:

1) Se extendió de manera uniforme el nuevo sustrato dentro de una caja.
2) Se colocaron las lombrices sobre el sustrato. Estas debían introducirse por sí mismas al medio por lo que se observó el comportamiento cuidadosamente. Si el sustrato no es de su agrado, aun expuestas al sol intentarán subir por las paredes en lugar de esconderse.
3) Transcurridas 48 horas, se efectuó un recuento de las mismas, constatando que gozaban de perfecta salud todas ellas (no se obscureció su piel ni perdieron masa corporal significativa). Por lo tanto la mezcla se vuelve la definitiva para dicha relación C/N.

2.2.3.2. Mezclas experimentales

Ya que las mezclas piloto dieron buenos resultados a las pruebas realizadas, se procedió a realizarlas a nivel experimental para asegurar que los especímenes tuvieran las condiciones favorables para su reproducción, se tomaron las siguientes precauciones:

Después de realizar las mezclas experimentales, se monitorearon por 2 días los lechos para asegurar que no hubiera elevación de la temperatura, lo cual significaría que el proceso de compostaje termófilo no había terminado y las lombrices estarían en riesgo de morir por el posible aumento excesivo de la temperatura, por lo tanto, se aseguró que la temperatura permaneciera por debajo de los 32°C (Compagnoni y Putzolu, 2001; Gabetta, 2004b; Schuldt, 2006).

Aun cuando se hizo una estimación a futuro de cuánto sustrato sería necesario, la cantidad preparada en la primera ocasión no fue suficiente por el bajo rendimiento del compostado y el rápido consumo de las lombrices por lo que tras un mes de iniciar la crianza, se volvió a compostar y una vez más se elaboraron las mezclas con los debidos ajustes que se vio eran necesario en la primera ocasión de elaboración del sustrato.

2.2.3.2.1. Caracterización de los sustratos

Se realizó un análisis químico proximal (AQP) a los sustratos para conocer su composición y en base a la información obtenida, determinar la influencia que tendrán en la crianza de la lombriz. Se utilizaron las pruebas recomendadas para frutas y verduras por el origen de los desechos (Ochoa y Rivas, 2005).

- Humedad

Método de estufa-Determinación gravimétrica de la materia seca (Método adaptado de (Hart Johnstone, 1991)).

La determinación de humedad se basa en la pérdida de peso en el alimento al calentarlo. A través de la resta del peso inicial con el final y la proporción que representa esto con respecto al peso inicial se puede saber el contenido de humedad.

Procedimiento

1) Se configuró la termobalanza para realizar la prueba a 95°C y se colocó el plato de aluminio.
2) Se taró la termobalanza y sobre un papel filtro se pesó no más de 1 g de muestra, extendiéndola en una capa lo más delgada posible.

3) Se cerró la tapa y se pulsó el botón para iniciar la prueba.
4) Se copiaron los datos de peso final, inicial, tiempo de la prueba, sólidos secos y humedad una vez terminada cada prueba.

- Relación C/N

La determinación de la relación C/N se realizó a las mezclas experimentales con el fin de corroborar los balances obtenidos a partir de la caracterización de los desechos, dichas pruebas se realizaron de la misma manera que a los desechos (carbono, nitrógeno y relación C/N de la mezcla).

2.2.4. Caracterización de la zona

Para el almacenamiento de los cajones de crianza se utilizó una zona recluida por una malla ciclónica en la parte suroeste de la facultad, se colocó un recubrimiento de plástico para evitar que la lluvia cayera directamente sobre los lechos y evitar los rayos del sol directos, esto con el fin de impedir la contaminación del cajón y que el sustrato se secara con demasiada rapidez (ver Figura 9 y Figura 10).

La FESC Campo 1 se encuentra en el municipio de Cuautitlán Izcalli, en el Estado de México, dicho lugar se encuentra a latitud 19°38’05.67” Norte y longitud 99°12’31.09” Oeste con una elevación de 2302 m (Google, 2009).

En el Gráfico 2 se muestra mes a mes los promedios de temperatura, la línea azul representa la temperatura mínima, mientras que las rojas son las temperaturas máximas (The Weather Channel, 1995-2012).

Figura 9 FESC Campo 1 (Google, 2009)

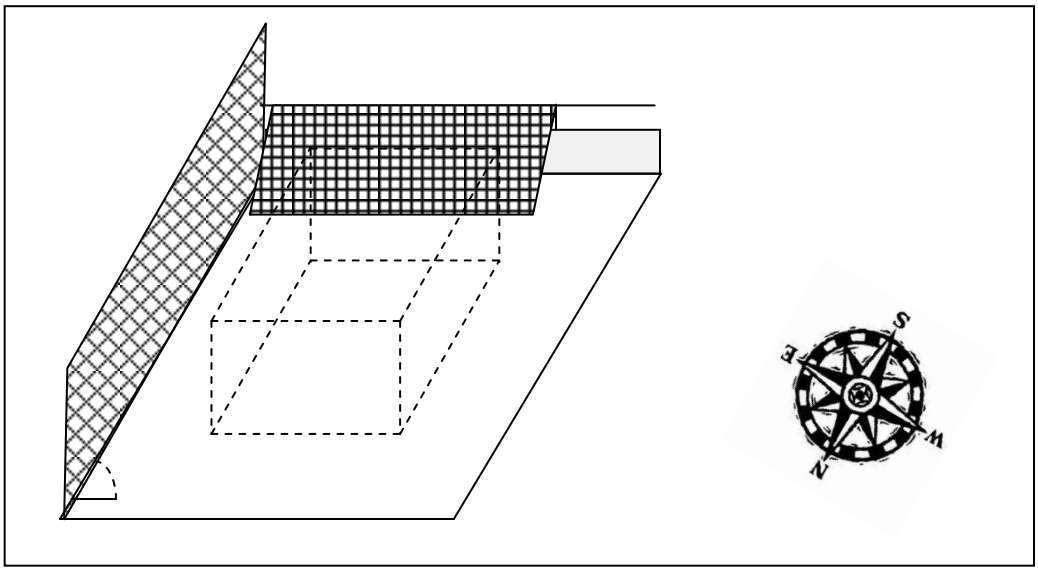


Figura 10 Ubicación de los cajones

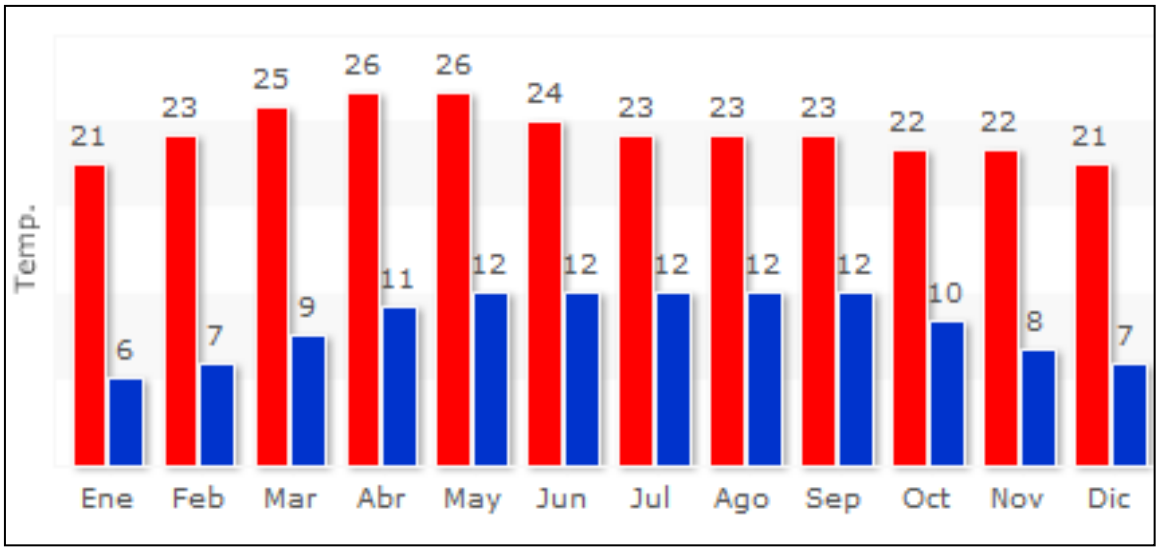


Gráfico 2 Temperatura en la zona de crianza máximas (The Weather Channel, 1995-2012)

2.2.5. Diseño del lecho de crianza

El número de lombrices iniciales está en función a la cantidad deseada de producción de harina de lombriz principalmente, pues el rendimiento es de 17.25 g de harina de lombriz por cada kilogramo de lombriz (Boulogne y otros, 2008). La estimación de la cantidad de composta necesaria para la crianza está dada en que la lombriz come su propio peso en sustrato al día, de esto 40% se vuelve deyecciones (humus).

El tamaño del cajón se diseñó de acuerdo a la densidad poblacional esperada al final de la experimentación ya que el hacinamiento afecta en la reproducción pudiendo alterar el efecto de cada

uno de los sustratos, se utilizó el factor 20 000 lombrices/m^2 empleado por la mayoría de los criadores (Compagnoni y Putzolu, 2001).

2.2.5.1.1. Cálculos de producción

Para la estimación de la población se supuso que cada diez días la lombriz podía liberar 3 cocones de los cuales cada uno produce 10 lombrices viables al cabo de 30 días aproximadamente, las lombrices al nacer se supuso pesarían 0.2 g y ganaban 0.08 g cada 10 días (ver Tabla 13), a partir de esto se obtuvo que para 80 lombrices iniciales criadas durante 120 días (4 meses) se obtendrían: 21680 lombrices en diferentes etapas de desarrollo de las cuales 2,400 habrían nacido de los cocones puestos en los primeros 30 días, 3 meses después habrían alcanzado suficiente tamaño para volverse harina.

Tabla 13 Resultados de la estimación de acuerdo a varias poblaciones iniciales pasados los 6 meses.

Pie de cría	Población final	Biomasa final (g)	Harina (g)	Composta (kg)	Humus (g)	Área (m^2)
2	600	248	12.8	0.61	243.2	0.03
5	1050	620	32.1	1.52	608	0.0525
10	1800	1240	64.2	3.04	1216	0.09
15	2550	1860	96.3	4.56	1824	0.1275
20	3300	2480	128.3	6.08	2432	0.165
30	4800	3720	192.5	9.12	3648	0.24
40	6300	4960	256.7	12.2	4864	0.315
50	7800	6200	320.9	15.2	6080	0.39
60	9300	7440	385	18.2	7296	0.465
70	10800	8680	449.2	21.3	8512	0.54
80	12300	9920	513.4	24.3	9728	0.615

De acuerdo a la información bibliográfica (Castro y otros, 2007; Compagnoni y Putzolu, 2001; Schuldt, 2006), se hicieron predicciones sobre la crianza de las lombrices: se esperaba pesen aproximadamente 0.9 g cada una al finalizar la crianza, por lo que representarían 2160 g de biomasa y que al secarlo se obtendrían 378 g de harina de lombriz que si se multiplica por los tres lechos de crianza se tiene son 1134 g de harina por tratamiento, suficiente para realizar las pruebas necesarias al final de la experimentación. Estas lombrices a su vez se alimentan de aproximadamente 21 kg de composta y producirían 8.3 kg de humus por cada lecho.

Estas estimaciones son holgadas para evitar obtener poco producto, a partir de estimaciones de crianza durante medio año, es posible extrapolar o interpolar para obtener un estimado de la producción de lombriz según el pie de cría utilizado (número de lombrices iniciales).

2.2.5.1.2. Diseño del cajón

Las dimensiones del cajón debían ser de al menos 40 cm de alto y ya que el área depende de la población, los lechos están diseñados para una población inicial de 80 individuos. Se utiliza un factor de densidad poblacional para evitar el hacinamiento (20000 lombrices/m^2), de acuerdo a esto, para el cálculo del área necesaria se toma el valor de 8200 lombrices como población final a los 4 meses de crianza (proporcional a las 12300 lombrices que se obtienen tras 6 meses de crianza) y de acuerdo al factor se obtiene que se necesitan 0.615 m^2 de área de crianza (ver Ecuación 6).

$$\mathbf{12300}\ \boldsymbol{lombrices} \times \frac{\mathbf{1}\ \boldsymbol{m^2}}{\mathbf{20000}\boldsymbol{lombrices}} = \mathbf{0.615}\ \boldsymbol{m^2} \cdots\cdots\cdots\cdots \text{Ec. 6}$$

Conociendo este valor, se establece el largo o el ancho del cajón (ver Tabla 14) y se calcula el recíproco correspondiente, por ejemplo para un cajón de 0.5 m, el largo es 1.23 m. Es por ello que el cajón de crianza fue de 0.5 m*1.23 m*0.4 m (ver Figura 11).

Figura 11 Cajones usados como soporte para los lechos

Tabla 14 Posibles dimensiones del lecho dependiendo del ancho del lecho deseado.

Para un área de 0.615 m^2											
Ancho (m)	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.3	1.4
Longitud (m)	1.54	1.23	1.03	0.88	0.77	0.68	0.62	0.56	0.51	0.47	0.44

2.3. DESARROLLO DE LOS OBJETIVOS

2.3.1. Objetivo particular 1

Contrastar el efecto de la alimentación en la crianza de la lombriz utilizando tres formulaciones de dieta (mezclas de desechos hortofrutícolas) para la producción de biomasa de *Eisenia fetida*.

2.3.1.1. Caracterización del pie de cría

Se midieron y pesaron 300 lombrices al azar con el fin de elaborar gráficas de distribución de población. Las 80 lombrices seleccionadas para cada cajón fueron adultas con clitelo, con longitud aproximada de 5 cm. Fueron lombrices sanas y adultas.

Para el pesado se utilizó un vidrio de reloj al que se le marcó una escala en centímetros, así se pudo medir y pesar en el mismo, los pesos no son exactos pues para estresar lo menos posible a las lombrices, no se les lavó ni se les hizo ningún tratamiento extra.

2.3.1.2. Caracterización del cajón de cría

Se cuidó que los tres cajones para un mismo tratamiento tuvieran la misma cantidad (masa) de composta homogénea aun después de haber permanecido 2 días en el cajón antes de hacer la siembra de la lombriz. La temperatura debía estar entre 17°C y 30°C, de no ser así se esperaba hasta que descendiera. La humedad del sustrato debería ser de 75-85% (pruebas rápidas de tacto, consistiendo en apretar un puño del sustrato y comprobar que elimina entre 6 a 8 gotas de agua), el pH aun debía estar entre 7.5 y 8.5.

2.3.1.3. Crianza de la lombriz

2.3.1.3.1. Incorporación de las lombrices

Se realizó durante la tarde para facilitar la rápida incorporación de las lombrices al sustrato, asegurándose con anterioridad que la temperatura no aumentaba aun si era revuelto como se explicó en la realización de las mezclas experimentales.

2.3.1.3.2. Monitoreo del aumento de peso y reproducción

Cada mes se realizaron conteos de lombrices para monitorear longitud y peso de 100 especímenes, 50 de estas adultas (mayores a 5 cm) y 50 crías (menores a 5 cm). Para la realización de los monitoreos se cuidó no utilizar el mismo cajón con el propósito de no interferir en el crecimiento de las lombrices repetidamente, por lo que se utilizó un cajón distinto en cada monitoreo. En la Figura 12 se esquematizan los cajones de cada formulación, de tal manera que para el primer monitoreo se

utilizaron los cajones 1, 4 y 7 (mostrados en la figura con el símbolo α), para el segundo 2, 5 y 8 (mostrados en la figura con el símbolo β) y para el tercer monitoreo 3,6 y 9 (mostrados en la figura con el símbolo γ).

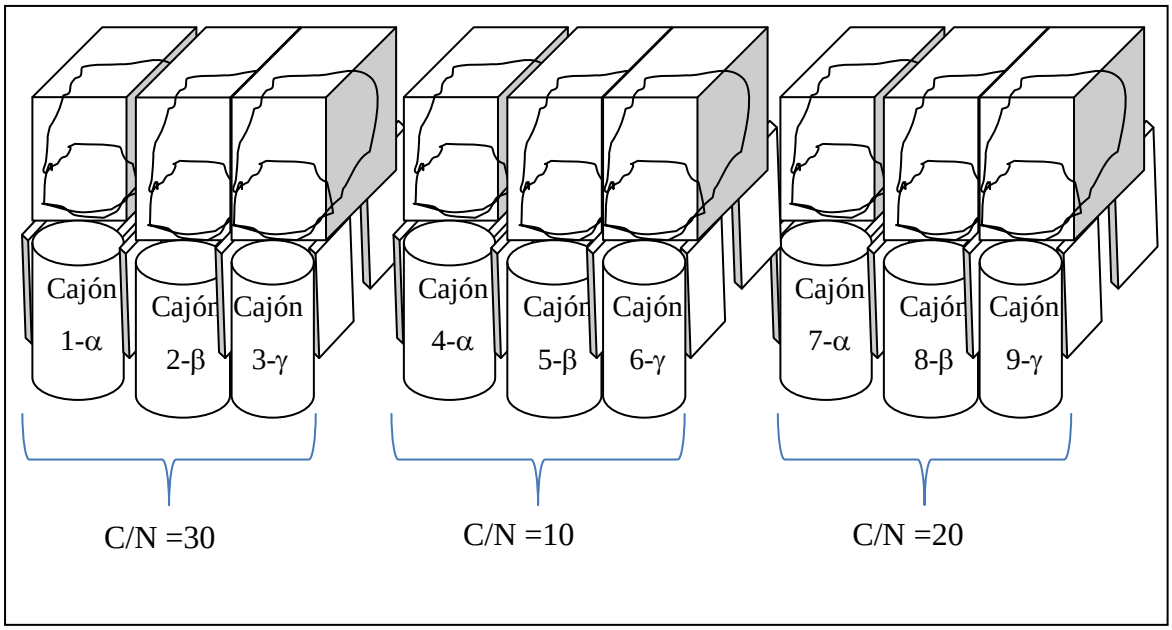


Figura 12 Frecuencia de monitoreo para cada lecho

2.3.1.3.3. Recolección de los productos

Transcurridos los cuatro meses de crianza se hizo la recolección de los productos.

1) Se vació el contenido del cajón sobre un plástico.
2) Se separaron manualmente las lombrices del resto de los productos presentes en el cajón.
3) Las lombrices fueron contadas y clasificadas en cuatro grupos:
   G1 (L≤3 cm), G2 (3 cm<L≤7 cm), G3 (7 cm<L≤11 cm) y G4 (11 cm<L)
4) Al mismo tiempo se separaron y contaron el número de cocones eclosionados (transparentes) y sin eclosionar (opacos) de cada cajón.

2.3.2. Objetivo particular 2

Evaluar las harinas producidas a partir de la biomasa de *Eisenia fetida* generada en cada dieta mediante pruebas químicas para la determinación del efecto en la cantidad proteica de la harina según la dieta usada en la crianza.

2.3.2.1. Elaboración de la harina de lombriz

Se elaboró harina de lombriz por secado en charolas con aire caliente, se utilizaron las lombrices mayores a 4 cm de longitud.

Previo a la deshidratación, se prepararon las lombrices siguiendo la metodología (Boulogne y otros, 2008):

1) Se eliminó los remanentes del sustrato con agua potable.
2) Las lombrices fueron alimentadas durante 1 día en un sustrato con 20% de paja (estéril), 58% de agua, 20% de harina de maíz y 2% de azúcar. Esto con el propósito de disminuir los microorganismos presentes en el intestino de la lombriz procedentes de la composta en la que fueron criadas, de esta manera obtener un producto apto para el consumo humano (Colina, 2010).
3) Pasado el día fueron lavadas con agua purificada.
4) Se sacrificaron sumergiéndolas en una solución salina al 5% cuidando que no excediera de los 15 minutos.
5) Se lavaron en varias ocasiones con agua purificada para eliminar el exceso de sal presente en las lombrices.

Para la deshidratación de las lombrices por el método de aire caliente se siguió esta metodología:

1) Se colocaron en una charola de manera uniforme y procurando que el espesor fuera el menor posible, registrando el peso que ingresaría al secador, las lombrices tienen un espesor aproximado de 0.5 cm.
2) Se secaron durante 100 min a 70°C, registrando el peso cada 20 min.
3) La harina obtenida fue almacenada en un lugar seco y fresco dentro de una bolsa estéril hasta la realización de las pruebas.

2.3.2.2. Cuantificación del contenido proteico

Se determinó el nitrógeno total por el método micro-Kjeldahl como se realizó para las pruebas del sustrato (International, 2006).

2.3.3. Objetivo particular 3

Evaluar la calidad microbiológica de las harinas producidas mediante la determinación de coliformes totales y mohos y levaduras, para asegurar que puede ser destinada al consumo humano.

2.3.3.1. Preparación de la muestra

Para realizar las pruebas microbiológicas se preparó la muestra en base a la NOM-110-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994).

Procedimiento

1) Se pesó un gramo de muestra.
2) Se machacó en un mortero la muestra hasta ser homogénea.
3) Se agregó 9 ml de agua peptonada (primera dilución).
4) Se prepararon diluciones decimales adicionales requeridas en cada prueba.

2.3.3.2. Determinación de coliformes

Se determinaron bacterias coliformes en base a la NOM-113-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994).

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

La prueba se realizó con tres diluciones (10^{-1}, 10^{-2} y 10^{-3}) a la harina de lombriz y a las lombrices vivas de cada sustrato con seis diluciones (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} y 10^{-6}).

Procedimiento

1) Se agregó 1 ml de la muestra (diluciones) en cajas Petri, esto se realizó por duplicado.
2) Se repitió el mismo procedimiento para cada dilución.
3) Se vertió aproximadamente 15 ml del medio fundido.
4) Se mezcló cuidadosamente con 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en sentido de las manecillas del reloj, 6 contrarios a las manecillas del reloj y 6 de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada lejos de fuentes de calor para dejar solidificar.
5) Se preparó una caja control con 15 ml del medio RVBA para verificar la esterilidad.
6) Una vez solidificado el medio, se vertió 4 ml más del medio. Se dejó solidificar.
7) Se invirtieron las cajas y se colocaron en la incubadora a 35°C durante 24 horas.
8) Después del periodo se contaron las colonias.
9) Se seleccionaron las cajas en las que se encontraron menos de 150 colonias.

2.3.3.3. Determinación de mohos y levaduras

La determinación de mohos y levaduras se realizó en base a la NOM-111-SSA1-1994 (Secretaría de Salud, 1994).

El método se basa en inocular una cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3.5 e incubado a una temperatura de 25 ± 1°C, dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos.

La prueba se realizó a la harina con tres diluciones (10^{-1}, 10^{-2} y 10^{-3}) y a las lombrices vivas de cada sustrato con seis diluciones (10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} y 10^{-6}).

Procedimiento

1) Se agregó 1 ml de la muestra (diluciones) en cajas Petri, esto se realizó por duplicado.

2) Se repitió el mismo procedimiento para cada dilución.

3) Se vertió de 15 a 20 ml de agar papa-dextrosa fundido.

4) Se mezcló cuidadosamente con 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en sentido de las manecillas del reloj, 6 contrarios a las manecillas del reloj y 6 de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada. Se dejó solidificar.

5) Se preparó una caja control con 15 ml del medio agar papa-dextrosa para verificar la esterilidad.

6) Se invirtieron las cajas y se colocaron en la incubadora a 25°C.

7) Se contaron las colonias de cada placa después 4 días de incubadas, se seleccionaron las placas que tuvieron menos de 150 colonias.

3. RESULTADOS

3.1. Actividades preliminares

3.1.1. Recolecta y caracterización de los desechos

Tras observar los desechos generados en los expendios locales de frutas y verduras (tianguis), se seleccionaron los desechos más abundantes para facilitar su recolecta: cáscara de aguacate, lechuga (deshoje), nopal (orillas y espinas), cáscara de melón, cáscara de sandía, fresa (pulpa) y cáscara de piña.

En la Tabla 15 se resume la masa recolectada de cada desecho, la masa resultante tras mes y medio de compostaje y el rendimiento para cada desecho (porciento resultante con respecto a la masa original).

Tabla 15 Datos de recolecta de desechos y porcentaje de rendimiento del compostado de cada uno

Desecho	Masa inicial	Masa final	Rendimiento
Lechuga	15.8 kg	1.39 kg	8.8%
Fresa	15.6 kg	0.852 kg	5.5%
Nopal	17 kg	1.4 kg	8.24%
Piña (cáscara)	12 kg	2 kg	16.67%
Aguacate (cáscara)	2.12 kg	0.5 kg	23.58%
Melón (cáscara)	10.3 kg	1 kg	9.71%
Sandía (cáscara)	26.8 kg	1.75 kg	6.53%

Fueron caracterizados los desechos después de ser compostados, tomando muestra de estos y realizando pruebas por duplicado de carbono y nitrógeno, a partir de ello se obtuvo la relación C/N (ver Tabla 16) que sirvió como base para los cálculos de proporciones en las mezclas piloto y/o experimentales así como la necesidad de adición de paja (desecho del cultivo de setas), a esta última también se le hicieron las pruebas para saber el aporte de carbono presente.

Dentro de los desechos recolectados con mayor contenido de nitrógeno fueron la cáscara de aguacate (5.96% N) y la fresa (7.10% N), ésta última fue eliminada por ser un desecho esporádico, que solo se obtiene por un mal manejo del fruto y de menor disponibilidad en el mercado, mientras que la cáscara de aguacate es un desecho continuo debido a que existen negocios dedicados a su uso. Una vez eliminados estos desechos, la cáscara de aguacate pasa a ser el desecho recolectado con

mayor porcentaje de nitrógeno, el cual fue adicionado a la paja (recordando que la paja solo proporciona carbono) para así obtener un valor de 30 en su relación C/N; siendo esta formulación la patrón.

Tabla 16 Resultados de las pruebas de carbono orgánico, nitrógeno y la relación carbono/nitrógeno de los desechos compostados

Muestra	%CO	%N	C/N
Lechuga	5.81	0.77	7.58
Fresa	0.79	7.10	0.11
Nopal	2.82	2.35	1.20
Cáscara de piña	1.91	1.44	1.32
Cáscara de aguacate	1.08	5.96	0.18
Cáscara de melón	1.49	1.75	0.85
Cáscara de sandía	1.42	0.98	1.45
Paja	3052	0	**

3.1.2. Elaboración de las formulaciones /sustrato

Con los resultados obtenidos en la caracterización de desechos, las formulaciones resultantes son presentadas en la Tabla 17 para la formulación con la relación C/N=10, Tabla 18 para la formulación con la relación C/N=20 y Tabla 19 para la formulación patrón C/N=30, esta última fue enriquecida con la cáscara de aguacate (desecho recolectado con mayor porcentaje de nitrógeno) para proporcionar una cantidad de nitrógeno suficiente al sustrato.

Tabla 17 Formulación de desechos propuesta para el sustrato con relación C/N=10

	C/N=10			
Componentes	Experimental (kg)	%	C	N
Lechuga	489.175	4.34	28.42	3.77
Nopal	623.61	5.54	17.59	14.65
Cáscara de piña	662.56	5.88	12.65	9.54
Cáscara de melón	392.66	3.49	5.85	6.87
Cáscara de sandía	545.66	4.85	7.75	5.35
Paja	8210.5	72.90	289.01	0.00
Cascarón de huevo	337.86	3.00	40.54	0.00
Total	11262.03	100.00	401.81	40.18

Tabla 18 Formulación de desechos propuesta para sustrato con relación C/N=20

	C/N=20			
Componente	Experimental (kg)	%	C	N
Lechuga	462.85	2.23	26.89	3.56
Nopal	597.075	2.87	16.84	14.03
Cáscara de piña	624.652	3.00	11.93	8.99
Cáscara de melón	373.706	1.80	5.57	6.54
Cáscara de sandía	512.51	2.46	7.28	5.02
Paja	17605	84.64	619.70	0.00
Cascarón de huevo	623.994	3.00	74.88	0.00
Total	20799.787	100.00	763.08	38.15

Tabla 19 Formulación patrón basada en la del criador de lombrices

	C/N=30			
Componente	Experimental (kg)	%	C	N
Cáscara de aguacate	0.44	2.08	0.00	0.03
Paja	20	94.92	0.70	0.00
Cascarón de huevo	0.632	3.00	0.08	0.00
Total	21.072	100.00	0.78	0.03

Se realizaron cálculos para predecir cuánto tiempo podrían vivir las lombrices en condiciones óptimas con esta cantidad de sustrato, con base en el consumo diario de alimento y a la densidad de población que se esperaría, se concluyó que se requeriría incorporar a los cajones nuevo sustrato pasados dos meses, por lo que al transcurrir un mes se comenzó a compostar nuevamente, para luego ser incorporado a los cajones en el segundo mes la nueva composta.

Para el segundo compostado se recurrió a la central de abasto de Tultitlán por ser un lugar con mayor producción de desechos, sin embargo, los desechos no fueron los mismos por lo que se recolectó de acuerdo a lo mostrado en la Tabla 20.

Tabla 20 Masa de los desechos antes y después de compostados en la segunda preparación de sustrato

Desecho	Masa inicial (kg)	Masa final (kg)
Lechuga	~125	4.8
Nopal	~80	10
Cáscara de piña	~11	1.48
Cáscara de sandia	~20	1.68
Total	~236	17.96

Tomando en cuenta el aporte de C/N de cada desecho (ver Tabla 16) y la relación C/N esperada en la mezcla de estos, las formulaciones para el segundo lote de sustrato se muestran en la Tabla 21 para la formulación de C/N=10, Tabla 22 para C/N=20 y Tabla 23 para C/N=30, incluye la cantidad y el porcentaje de desecho incorporado en la mezcla para alcanzar la relación C/N deseada.

Tabla 21 Formulación de desechos para alimentar cajones con relación C/N=10

	C/N=10			
Componentes	Experimental (kg)	%	C	N
Lechuga	2.88	12.99	0.17	0.02
Nopal	1.73	7.80	0.05	0.04
Piña (cáscara)	0.888	4.01	0.02	0.01
Sandía (cáscara)	1.008	4.55	0.01	0.01
Paja	15	67.66	0.53	0.00
Huevo (cascarón)	0.665	3.00	0.08	0.00
Total	22.161	100.00	0.86	0.09

Tabla 22 Formulación de desechos para alimentar cajones con relación C/N=20

	C/N=20			
Componentes	Experimental (kg)	%	C	N
Lechuga	1.92	8.43	0.11	0.01
Nopal	0.592	2.60	0.02	0.01
Piña (cáscara)	0.592	2.60	0.01	0.01
Sandía (cáscara)	0.672	2.95	0.01	0.01
Paja	18.32	80.42	0.64	0.00
Huevo (cascarón)	0.683	3.00	0.08	0.00
Total	22.779	100.00	0.88	0.04

Tabla 23 Formulación de desechos para alimentar cajones con relación C/N=30

	C/N=30			
	Experimental (kg)	%	C	N
Aguacate (cáscara)	0.439	2.08	0.00	0.03
Paja	20.000	94.92	0.70	0.00
Huevo (cascarón)	0.632	3.00	0.08	0.00
Total	21.071	100.00	0.78	0.03

3.1.2.1.Mezclas piloto

Ya establecidas las proporciones de los desechos para cada sustrato, se requirió hacer la prueba de aceptación por las lombrices con el propósito de asegurar que todas las condiciones fueran adecuadas, se tomó una porción de la mezcla (200 g), llamada mezcla piloto, la cual no fue aceptada por las lombrices.

Para conocer la causa de la no aceptación del sustrato, se determinaron parámetros fisicoquímicos como son el pH y la conductividad eléctrica de los cuales depende el bienestar de las lombrices, los resultados se encuentra en la Tabla 24, encontrando valores de pH demasiado elevados, pues para las necesidades de la lombriz se requiere un pH que oscile entre 7.5 y 8.5 (García y otros, 2005a) por lo que se siguieron los pasos propuestos para la acidificación del medio, con ayuda de ácido cítrico al 50% de saturación, mientras que para la conductividad eléctrica no fue necesaria una

acción correctiva pues a pesar de que la composta por si sola presentaba valores altos (para las formulaciones C/N 10 y 20), al agregar rastrojo que en este caso fue paja, también agregada para el aumento de la relación C/N, el valor de la conductividad eléctrica descendió (Suthar, 2009) a valores inferiores a 5 mS el cual es el valor máximo permitido para lograr el bienestar de la lombriz (Schuldt, 2006).

Tabla 24 Resultados de parámetros fisicoquímicos para el primer lote de sustrato

C/N	pH	Conductividad eléctrica (mS)
10	10.30	4.68
20	10.10	3.42

Para conocer la cantidad de ácido cítrico requerido para disminuir el pH a valores entre 7.5 8.5, se realizaron pruebas en solución (misma donde se realizó la determinación de pH), agregando gota a gota el ácido cítrico y determinando el pH en cada gota, extrapolando este resultado a la cantidad de composta se obtuvo el ácido cítrico necesario para la acidificación del sustrato.

A pesar de conocer la cantidad de ácido cítrico necesario para llevar el pH básico a intervalos aceptables, al integrarlo a toda la composta, en lugar de agregar los 166 ml para la mezcla C/N=10 y 193 ml para la mezcla C/N=20 que fueron los mililitros requeridos según los cálculos, se propuso agregar primero 100 ml y después el resto, sin embargo al medir el pH tras haber integrado los primeros 100 ml, el pH era ya de 7.6 para la mezcla C/N=10 y de 7.74 para la de C/N=20 por lo que se decidió no agregar la solución restante. Posiblemente esto se deba a que en la solución propuesta las condiciones no son iguales que en la composta la cual posee menor cantidad de agua (la prueba de pH es realizada en solución por lo que más iones pueden estar disociados). Observando también que el pH después de añadido es muy cambiante, se decidió hacer la determinación después de transcurridos 3 días desde el mezclado para el siguiente lote de desechos compostados.

Como ya se había mencionado anteriormente, se realizó una segunda composta a la cual se le aplicaron las acciones correctivas de pH. Se calculó la cantidad de ácido cítrico necesario, utilizando como base de cálculo a la composta y no el sustrato (composta y paja) pues éste es el que necesita cambiar de pH, si se incluyera la masa de la paja en el cálculo, el ácido cítrico necesario aumentaría considerablemente y podría dar resultados erróneos en la práctica. En el primer lote de sustrato, esta acción correctiva se realizó agregando el ácido cítrico en solución, pero se observó que la humedad del sustrato aumentó, por lo que para el segundo lote, se optó por calcular los gramos que se

requerían, de este modo primero se mojó el sustrato hasta alcanzar la humedad deseada y luego se incorporaron los gramos de ácido cítrico requeridos, para la mezcla con relación C/N=10 (2.172 kg) se necesitó de 55.5 g de ácido cítrico y para la mezcla de C/N=20 (1.269 kg) se necesitó de 32.45 g.

Una vez incorporado el ácido cítrico calculado, se tomaron 10 g representativos, los resultados obtenidos para pH y conductividad eléctrica se muestran en la Tabla 25.

Tabla 25 Resultados de parámetros fisicoquímicos para el segundo lote de sustrato

Tratamiento	Número de cajón	Conductividad Eléctrica (mS)	pH
C/N=10	4	1.7	8.26
	5	2.06	8.36
	6	1.46	7.95
C/N=20	7	1.2	7.95
	8	0.79	7.76
	9	1.29	7.94
C/N=30	1	0.62	7.45
	2	1.72	8.12
	3	0.71	7.85

Teniendo todos los parámetros dentro de los rangos óptimos para la crianza de lombrices, (relación C/N, conductividad eléctrica, pH y humedad) se prosiguió a la prueba de aceptabilidad de las lombrices para el segundo lote de sustrato, se tomaron 200 g y en una caja con separaciones se realizaron las pruebas de aceptabilidad por las lombrices, las cuales tuvieron buenos resultados (las lombrices se incorporaron al sustrato sin mostrar incomodidad y sobrevivieron todas aún pasado el periodo de prueba). Para la incorporación del segundo lote de sustrato al ya existente, se corroboró que las lombrices ingresaran al nuevo sustrato rápidamente, y se verificó días después el bienestar de los especímenes en el nuevo sustrato, observando que las lombrices más jóvenes (crías) estaban en el sustrato recientemente integrado sin mostrar signos anormales (movimientos extraños, intentar fugarse de los cajones), la sola presencia de crías puede ser causado por que las lombrices colocan sus cocones en las capas superiores del sustrato y por ende nacen ahí, aunado a esto, otra razón puede ser que mientras más fresco es el sustrato, mayor concentración de nutrientes hay si fue

compostado adecuadamente por lo que los recién nacidos pueden estar buscando esas zonas con mayor contenido de materia orgánica que el sustrato anterior para facilitar su etapa de crecimiento.

3.1.2.2.Mezclas experimentales

Teniendo las formulaciones piloto aceptadas por las lombrices, se continuó a realizar estas formulaciones a nivel experimental, de la cual se tomaron 100 g como muestra de cada uno del primer lote, el resto se colocó en los cajones para asegurar que pasados 3 días estuvieran listos para las lombrices.

A las muestras se les realizó pruebas por duplicado de humedad, carbono orgánico y nitrógeno total los promedios se ven en la Tabla 26.

Se puede observar la humedad promedio para las tres formulaciones hechas, la cual se encuentran en el rango para la crianza (75% a 85%) apenas excediéndose la humedad en la formulación C/N=10 sin embargo, se permitió permaneciera así pues en poco tiempo sede esa humedad al medio (ver Tabla 26).

Para la prueba de carbono orgánico se pudo observar que cuando la relación C/N de la mezcla es mayor, el contenido de carbono orgánico se incrementa (ver Tabla 26), esto puede ser causado por que la paja es la que aporta mayor contenido en las cenizas, sin embargo, éste contenido no se refleja en la conductividad eléctrica por que los minerales están almacenados en la célula y no se encuentran disponibles para ser solubilizados (la prueba de conductividad eléctrica se realiza en solución). Al realizar la incineración en la prueba de cenizas, el contenido de minerales es liberado y es cuando se puede cuantificar realmente el contenido mineral, por tanto, como los minerales no están en contacto directo cuando la paja está integra en el sustrato a las lombrices no les afecta.

Durante la prueba de nitrógeno total, al momento de la titulación se tuvo problemas por ser cantidades muy pequeñas de nitrógeno, el vire no era muy intenso por lo que se decidió guiarse a partir de la primer muestra evaluada observando si no había cambio en el tono cuando se llegaba al mismo volumen gastado. De las pruebas se observa que a menor valor de C/N, más nitrógeno hay, es decir, a mayor cantidad de composta, mayor cantidad de nitrógeno. Esto es coherente pues una relación C/N más pequeña indica mayor presencia de nitrógeno.

A partir de las pruebas de carbono orgánico y nitrógeno total, se calculó el valor de C/N experimental (ver Tabla 26) los tres valores son muy cercanos a lo que se esperaban; las variaciones

se deben a que la composta en sí es heterogénea por la presencia de la paja que dificulta el mezclado a menos que se triturara, sin embargo, de haberlo hecho se afectaría la porosidad del sustrato, ya que perdería la estructura e incrementaría la tendencia al compactado.

Tabla 26 Resultados de las pruebas químicas en los sustratos experimentales

	C/N=10	C/N=20	C/N=30
Humedad	85.54 %	83.15 %	80.32 %
Carbono orgánico	2.22 %	3.02 %	3.49 %
Nitrógeno Total	0.22 %	0.16 %	0.11 %
Relación C/N	9.7	18.9	31.6

Para el segundo lote no se realizaron las pruebas experimentales para asegurar la relación C/N calculado por falta de disponibilidad en los laboratorios, pero sí se siguieron las mismas consideraciones que se tuvieron para el primer lote de sustrato.

3.1.3. Ubicación de los cajones

Durante la experimentación, al comenzar la época de lluvias, se encontró que el lugar de los cajones estaba inundado, se recuperaron todos los cajones sin aparentemente haber sido afectados por el agua que alcanzó cerca de 60 cm de alto; por lo anterior se optó por reposicionar los cajones del lado derecho de la edificación (ver Figura 13).

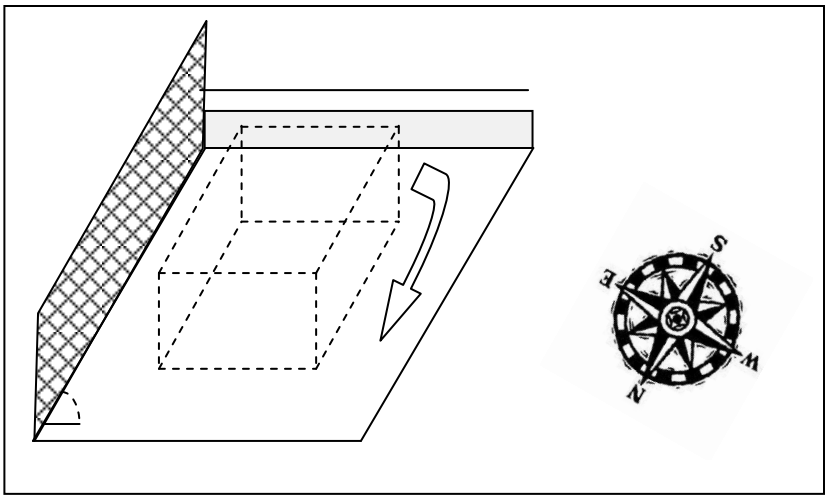


Figura 13 Localización de los cajones de crianza

3.2. OBJETIVO PARTICULAR 1

3.2.1. Caracterización del pie de cría

Se consiguieron 789 lombrices adultas cliteladas de un mismo proveedor, para ser inseminadas a los cajones, de las cuales se tomó una muestra aleatoria para ser caracterizadas (pesadas y medidas) antes de introducirlas a cada cajón con el propósito de evaluar el crecimiento de éstas, a través de 4 meses se registró aproximadamente el 40% de la población inicial, y se graficó en función a la longitud y peso aproximado.

En el Gráfico 3 se muestran los datos de peso y longitud de la muestra en la población inicial inseminada en los cajones, cada punto representa una lombriz. Se puede notar que la tendencia está en los 5 cm y 0.15 g. El gráfico permite fácilmente el cambio en la distribución de la talla de la población, pudiendo ver así su crecimiento al comparar cada monitoreo que se haga.

En términos generales, las lombrices del pie de cría son de baja talla considerando que en la literatura oscilan las lombrices adultas cliteladas entre 8 a 10 cm de largo y en un peso aproximado de 1 g, esto evidencia que el sustrato utilizado por el proveedor de los especímenes no da los mejores resultados vistos en esta práctica o bien que el cuidado que se les daba no era el adecuado, recordando que la relación carbono nitrógeno utilizada en el criadero es de 30 siendo que la recomendada es de 10 (Compagnoni y Putzolu, 2001).

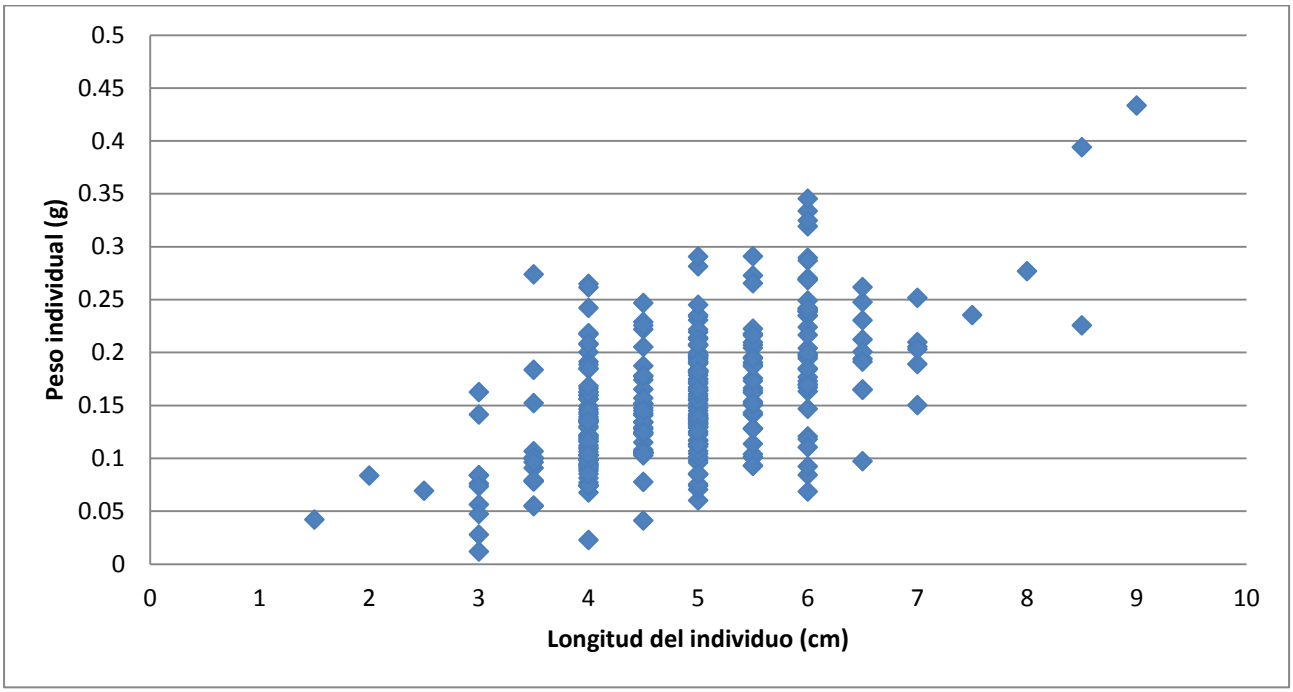


Gráfico 3 Distribución longitud/peso de aproximadamente 40% de la población de lombrices iniciales

Se realizó un promedio de pesos del pie de cría de acuerdo a su longitud centímetro a centímetro (ver Tabla 27) con el fin de obtener una referencia al final para comparar estos valores y determinar si hubo influencia de la formulación en el incremento o decremento en los pesos de las lombrices en cada uno de los sustratos propuestos al finalizar el periodo de crianza.

Tabla 27 Pesos promedio por centímetro del pie de cría

Longitud (cm)	Peso (g)
1	0.0420
2	0.0764
3	0.0962
4	0.1365
5	0.1624
6	0.2090
7	0.2063
8	0.2988
9	0.4334

En la Tabla 28 se muestra la clasificación de la muestra del pie de cría en 3 grupos hechos de acuerdo a la longitud registrada para cada una de las lombrices que constituían la población inicial de todos los cajones, el grupo de lombrices menores a 3 cm son consideradas crías, el grupo de 3 a 7 cm de longitud se consideran adultas jóvenes, de ahí en adelante se les considera adultas.

Tabla 28 Clasificación de la muestra de pie de cría

Grupo (cm)	Número de lombrices	Porcentaje
≤3	13	4.13
3<L≤7	297	94.29
7<L≤11	5	1.58

En el Gráfico 4 se observa más claramente la tendencia de la talla en las lombrices del pie de cría, donde la serie 1 es el número de lombrices centímetro a centímetro y la serie dos es de acuerdo a su clasificación por grupo, se observa que existen mayor número de lombrices con 5 cm de longitud que son consideradas como adultas jóvenes, esto es bueno para que la reproducción fuera rápida y por tanto la población creciera rápidamente.

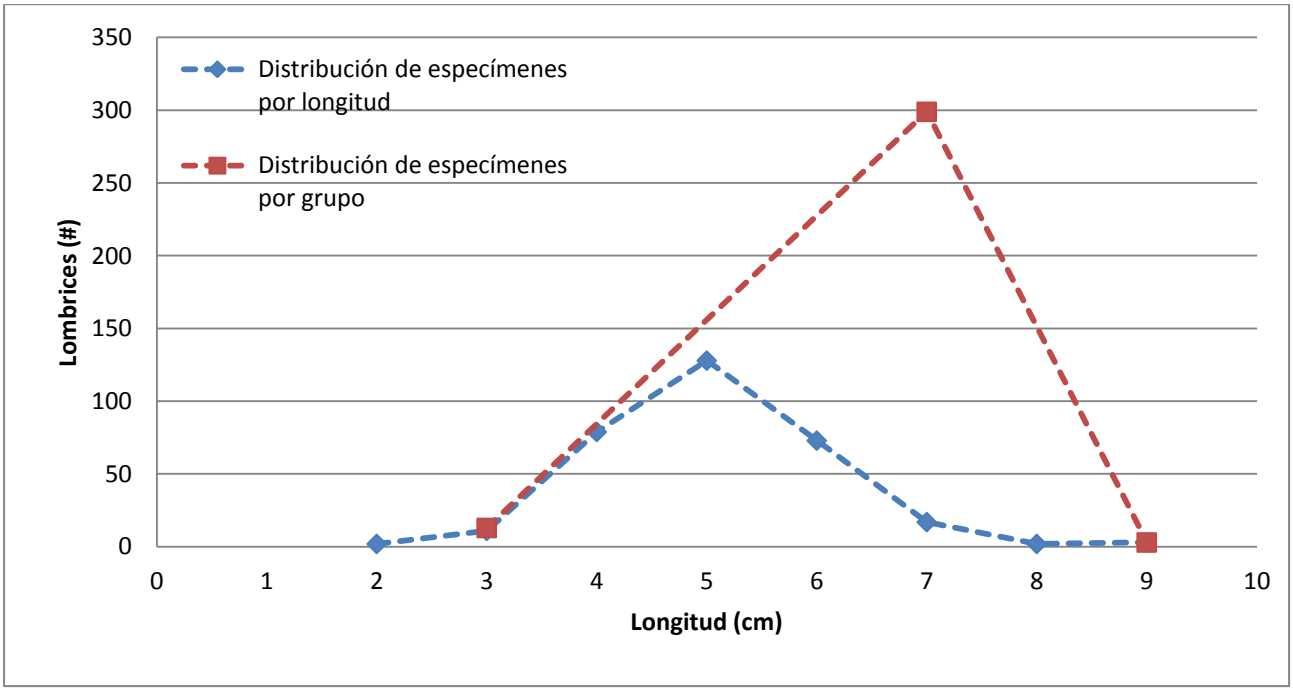


Gráfico 4 Distribución de las lombrices medidas de acuerdo a grupo y por longitud

En general el carbono sirve como fuente de energía para los organismos por lo que se requiere mayor cantidad de carbono que de nitrógeno, sin embargo, cuando hay un exceso de carbono, la actividad biológica disminuye y se requieren varios ciclos de organismos para utilizar el carbono excedente pues una vez grandes cantidades de microorganismos consumen del carbono éste disminuye, una vez que mueren éstos dejan el nitrógeno de su cuerpo por lo que la relación C/N se acerca más a 10, posiblemente por ello tienen mayor crecimiento las lombrices que son alimentadas con un sustrato de C/N menor pues más fácilmente obtienen los nutrientes que necesitan, es así que el sustrato es más aprovechado/consumido por los microorganismos que por las lombrices.

3.2.2. Siembra de lombrices

Se realizó la inseminación de las lombrices a cada cajón, esto se realizó en horas de sol (Ferruzi, 1988), con el fin de su rápida incorporación al nuevo sustrato. Las lombrices introducidas estuvieron en un rango de 82 a 97 lombrices por cajón como se muestra en la Tabla 29:

Tabla 29 Población inicial para cada cajón

C/N	Número de cajón	Número de lombrices
30	1	82
	2	97
	3	95

10	4	95
	5	82
	6	82
20	7	95
	8	82
	9	82

3.2.3. Monitoreo de la crianza

3.1.3.1.Primer monitoreo

Se asignaron los cajones para cada monitoreo con el fin de que no fuera monitoreado dos veces el mismo cajón y afectar así en el crecimiento y reproducción de las lombrices (ver Figura 12). Para el primer monitoreo (primer mes) de crecimiento dentro del sustrato, se tomaron los cajones correspondientes y fueron registradas las longitudes de todas las lombrices dentro de dichos cajones como se presentan en la Tabla 30.

Tabla 30 Distribución de la longitud de las lombrices despues de un mes de crianza

	Cajón #1 C/N=30	Cajón #4 C/N=10	Cajón #7 C/N=20
Grupos (cm)	Número de lombrices	Número de lombrices	Número de lombrices
≤3	2	0	0
3<L≤7	52	57	64
7<L≤11	28	38	31
11<L	0	0	0

Se observa en el Gráfico 5 y Gráfico 6 que los tres cajones tienen la misma tendencia hacia el centro, en los tres cajones el promedio de longitudes de las lombrices incrementó, siendo los sustratos propuestos (C/N 10 y 20) los que aumentaron más su longitud, sin embargo, solamente la formulación patrón (paja enriquecida con cáscara de aguacate) aun presenta lombrices del grupo 1 (menores a 3 cm), siendo este cajón el que presenta mayor heterogeneidad en su población esto puede deberse a que el crecimiento en este sustrato sea más lento por el menor aporte de nutrientes.

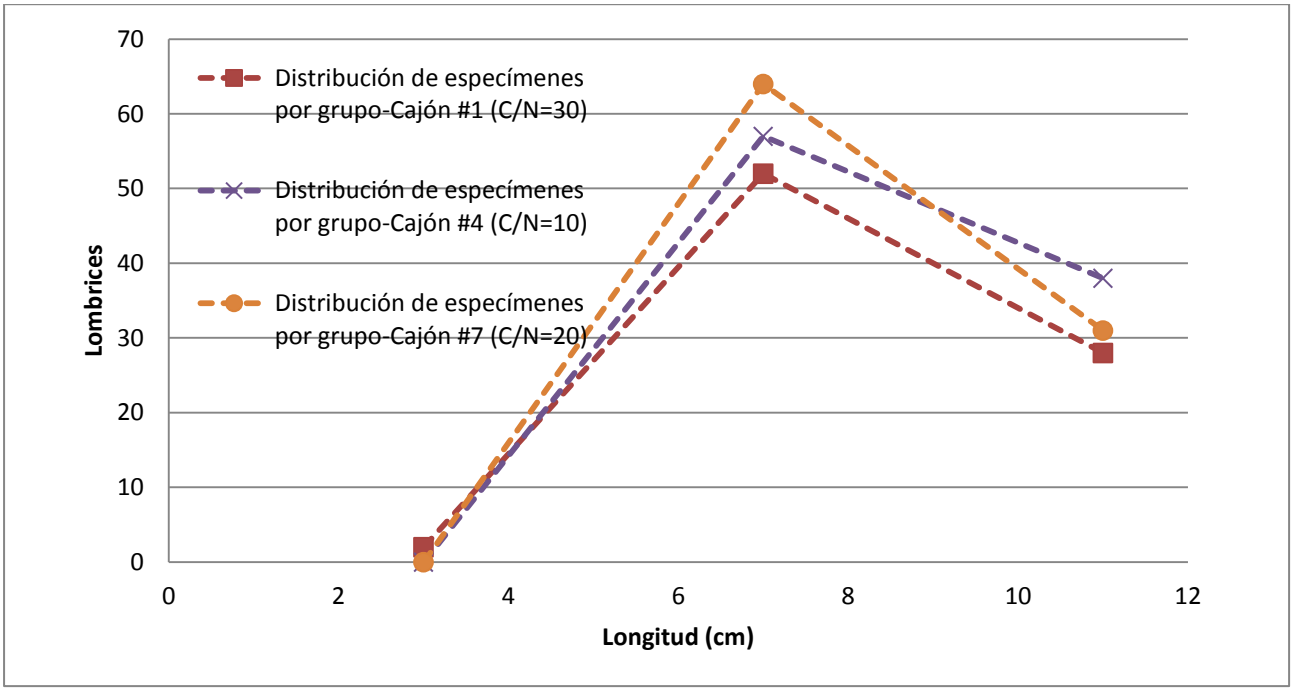


Gráfico 5 Concentración de la longitud de las lombrices divididas por grupo en el primer mes

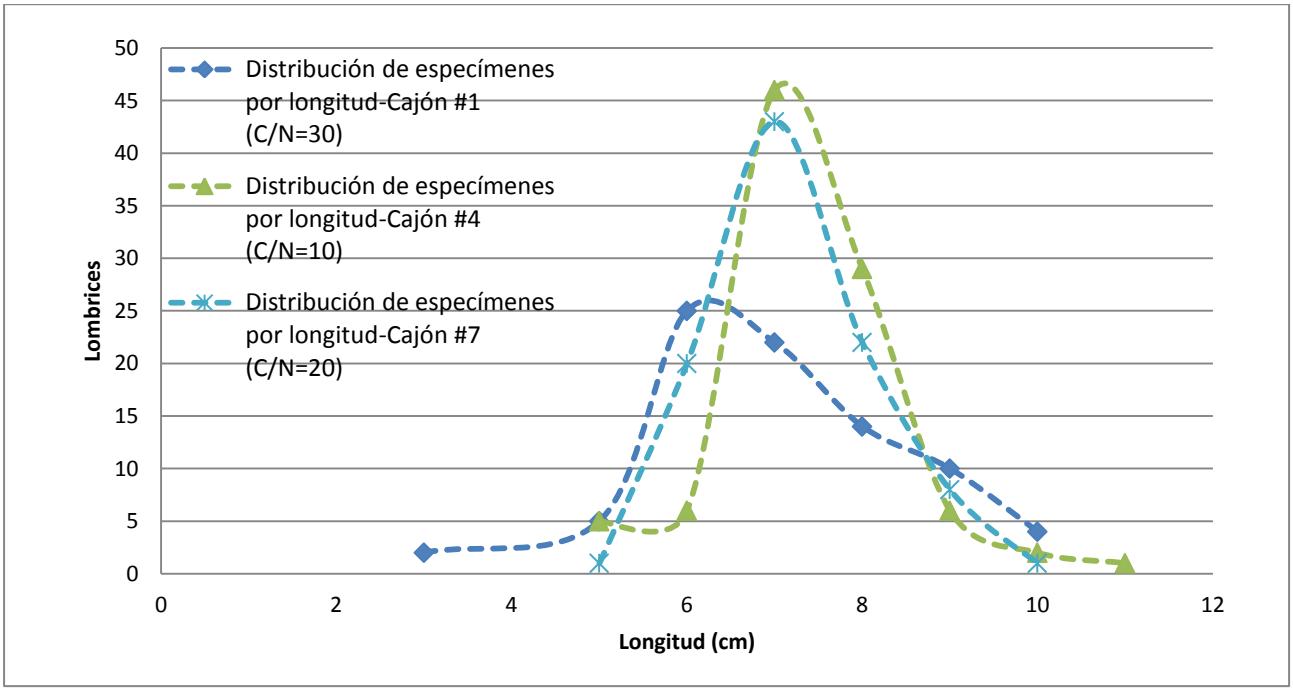


Gráfico 6 Número de especímenes por longitud al mes 1

Si se compara la distribución que había en la inseminación y al mes 1, se puede observar que la tendencia se movió de tal forma que la mayor concentración de población ya no está en 5 cm sino en los 7 cm (para los sustratos de relación C/N 10 y 20) y en 6 cm (para el cajón patrón (C/N=30)) como se ve en el Gráfico 5 y Gráfico 6. Se observa aunque no muy marcadamente, un incremento de

talla de la población (el único que alcanza lombrices de 12 cm) en el cajón #4 C/N=10, el cual es el que más presencia de desechos hortofrutícolas tiene en su formulación.

De acuerdo con lo anterior podría asumirse que la paja aporta carbono en forma de fibra (carbohidratos complejos), mientras que la composta de desechos hortofrutícolas los aporta en forma de carbohidratos simples que son los que caracterizan a las frutas, por lo que las lombrices crecen más fácilmente en los sustratos con presencia de carbono proveniente de carbohidratos simples que son de más fácil digestión, aumentando el crecimiento si aumenta la concentración de estos desechos. Algo más que puede influir en la tendencia que se ha observado es que mientras menor es la relación C/N, mayor es la concentración de nitrógeno por lo que está más disponible para la generación de biomasa (Sharma y otros, 1997).

En el monitoreo del mes 1 ya se veía presencia de cocones en las tres formulaciones, cerca de 70 cocones mínimo por cajón, se decidió no moverlos de su lugar pues la mayoría se encontraban en lugares donde por la forma en que se acomodaba el sustrato, la retención de humedad era buena por lo que cuando eclosionara el cocón, las lombrices tendrían mayores probabilidades de llegar a la adultez, esta primera puesta de cocones son las de mayor interés pues tienen posibilidad de conseguir posteriormente un tamaño tal que apoye significativamente la producción de harina de lombriz a su vez de tener la posibilidad de reproducirse al final de la experimentación si alcanzan rápidamente el peso necesario para tener madurez sexual, ya que cuando las lombrices son criadas con sustratos apropiados y con buenas condiciones en el cultivo, éstas alcanzan la madurez sexual a los tres meses (Schuldt, 2006), por lo que se tuvo cuidado en no interferir en el desarrollo de los cocones, para lograr que las lombrices nacidas en el sustrato alcanzaran la madurez sexual, esta madurez sexual se distingue por la aparición del clitelo.

3.1.3.2. Segundo monitoreo

Pasados dos meses de crianza, nuevamente se tomaron los cajones preasignados (ver Figura 12), las lombrices fueron medidas y pesadas, por cuestiones de tiempo solo se trabajó con una muestra de 45 especímenes de la población de cada cajón, observando claras diferencias en la distribución de talla de las lombrices entre las formulaciones propuestas:

Al graficar los datos obtenidos (ver Gráfico 7), se observan diferencias de crecimiento y aumento de peso, los primeros datos del gráfico se han desplazado de estar a 2 cm a estar en los 4 cm (ver Gráfico 3) por lo que se puede decir la talla de la población ya estaba en crecimiento, incluso en la

caracterización del pie de cría hubo concentraciones importantes desde los 3 cm y para éste monitoreo se ven en los 5 cm. Ya que se muestran los datos para los tres cajones, se puede observar que las lombrices alimentadas con el sustrato con relación C/N=30 son las de menor peso y menor longitud, después le sigue la formulación C/N=20 que posee un aporte de carbono ajeno a la paja (composta de desechos hortofrutícolas) solo que en menor proporción que la formulación C/N=10 que es la de valores más altos (ver Tabla 17, Tabla 18 y Tabla 19), esto se explica porque tiene mayor presencia de composta, que es como se empezaba a evidenciar en el primer monitoreo (se ha observado que los desechos de alimentos ayudan más al aumento de peso que a la reproducción (Fernández y otros, 2010)). Por lo que al disminuir la relación de C/N, crece la campana observada en el Gráfico 6 (conforme disminuye la relación C/N, aumenta la cantidad de composta utilizada en el sustrato).

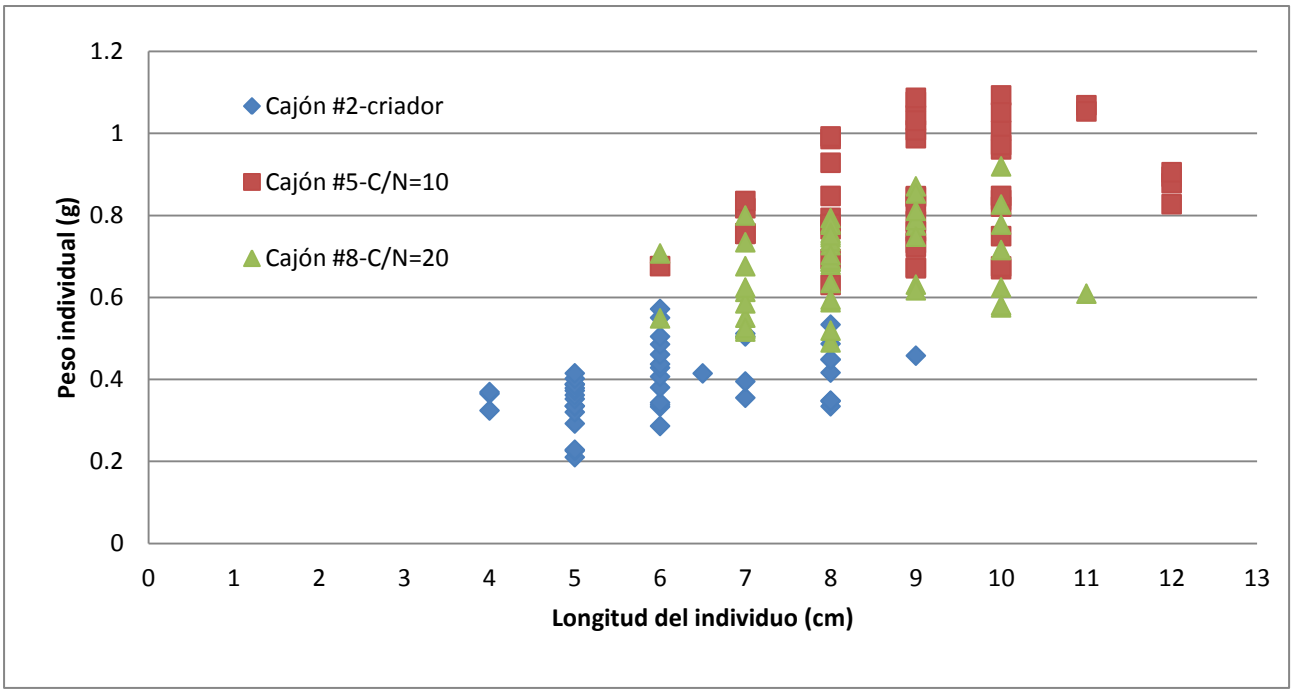


Gráfico 7 Comparación de peso y longitud de la población de lombrices en los tres cajones en el segundo monitoreo

Algunas de las lombrices criadas con la formulación de relación C/N=10 alcanzaron para el segundo mes pesos de 1 g, es decir, su peso se ha vuelto 5 veces más que el que inicial.

En la Tabla 31 se puede observar que para el mes dos de crianza, ninguno de los cajones tenía ya lombrices del grupo 1 (crías) y que incluso para la formulación de C/N=10 había aparecido un grupo nuevo de lombrices mayores a 11 cm.

Tabla 31 Distribución de la población de lombrices en los cajones por grupo al segundo mes de crianza

	Cajón #2 C/N=30	Cajón #5 C/N=10	Cajón #8 C/N=20
Grupos (cm)	Número de lombrices	Número de lombrices	Número de lombrices
≤3	0	0	0
3<L≤7	36	6	12
7<L≤11	9	28	34
11<L	0	4	0

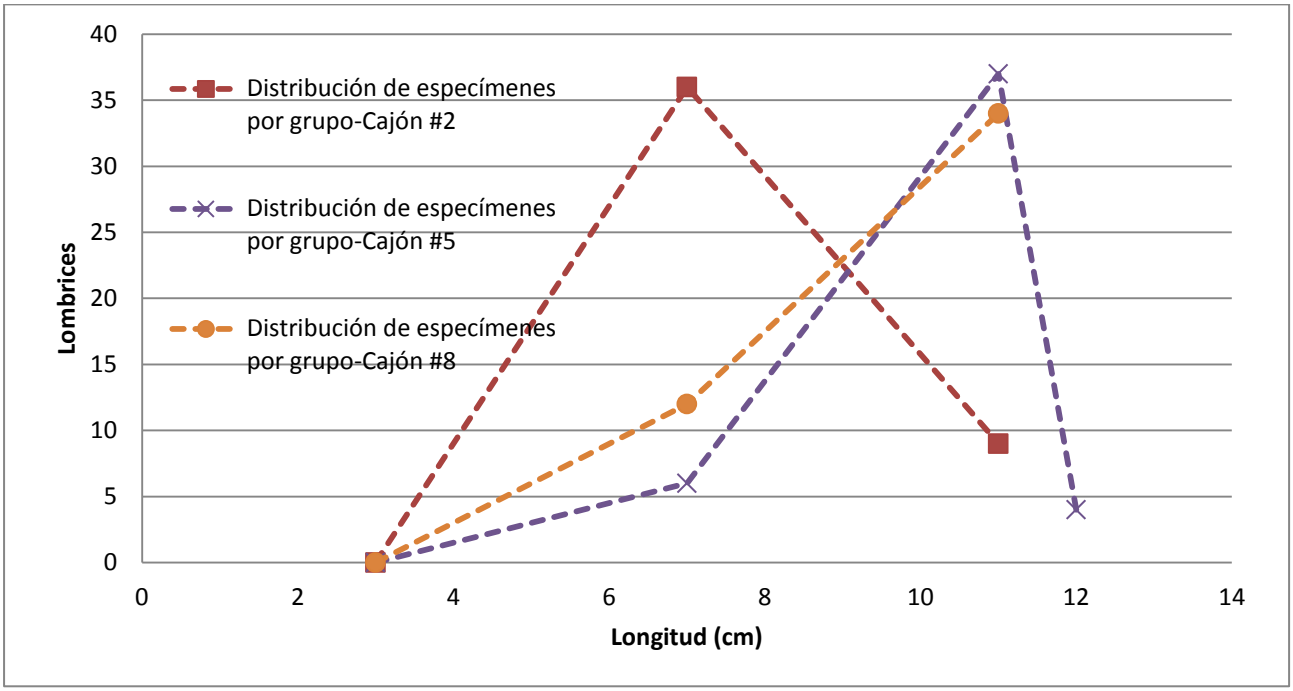


Gráfico 8 Distribución de la población a dos meses de crianza por grupos

En el Gráfico 8 se observa que solo la formulación C/N=30 aun tenía su población concentrada en el grupo 2 (3 cm<L≤7 cm) tras los dos meses de crianza, la formulación con relación C/N=20 y C/N=10 poseen poca concentración en dicho grupo pues las lombrices han crecido suficiente para entra al grupo 3 (7 cm<L≤11 cm**)**.

En el Gráfico 9 se observa para la formulación patrón (cajón #2, C/N 30) el pico de mayor tamaño está en los 5 cm, es decir, la mayor parte de la población tiene una longitud de 5 cm y un pico inferior en 8 cm, comparado con el mes anterior (ver Gráfico 6), el pico mayor pasó de estar en 6 cm a estar en 5 cm, en cambio la formulación con relación C/N=20 se desplazó nuevamente a la derecha al aumentar en 1 cm la longitud de la mayoría de la población, la formulación C/N=10 incluso se

desplazó en 2 cm. Por lo que claramente se ve una tendencia; a mayor es el contenido de residuos hortofrutícolas en el sustrato, mayor es la talla de las lombrices; esto podría deberse a la misma relación de carbono y nitrógeno (que las lombrices requieran 10 partes de carbono por una de nitrógeno) y a la manera de aporte de esta, si el carbono presente esta en forma de carbohidrato simple o complejo.

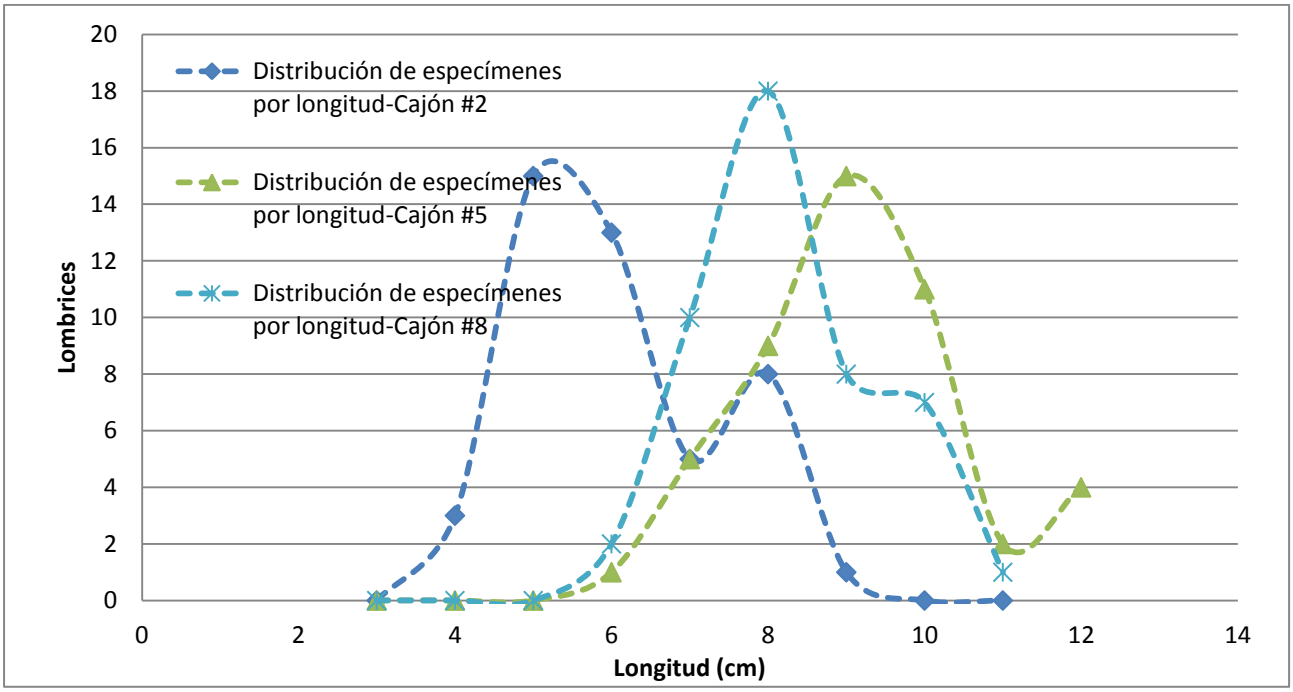


Gráfico 9 Comparación de la longitud de las lombrices de los tres cajones a los dos meses de crianza

Hasta el mes dos de crianza, se encontró evidencia de cocones eclosionados (en el primer mes se encontraban cocones sin eclosionar) e incluso algunas crías en los tres cajones, aproximadamente por cada 2 cocones sin eclosionar que se encontraban, había uno eclosionado, esto quiere decir que desde que las lombrices fueron inseminadas, comenzó la puesta de cocones y que el apareamiento fue en aumento, una vez las lombrices se adaptaron al sustrato.

3.1.3.3.Tercer monitoreo

Se realizó el tercer monitoreo después de haber transcurrido 3 meses desde la inseminación de las lombrices, con los cajones establecidos anteriormente, pesando y midiendo una muestra de 50 lombrices adultas y 50 que hubieran nacido en el cajón (éstas se distinguieron por tener menos peso que lombrices adultas de la misma longitud) para cada cajón correspondiente.

En el Gráfico 10 se muestran con la misma viñeta pero en colores distintos las lombrices adultas y sus crías encontradas en el mismo cajón correspondiente a cada formulación. A pesar de haber

buscado en todo el sustrato, no se encontró más que dos lombrices adultas en el sustrato patrón (C/N=30) del cajón #3 y una cría de 3 cm de longitud , todos los cajones estuvieron expuestos a las mismas condiciones ambientales, eran regados con el lixiviado producido por los cajones de una misma formulación (misma relación C/N), una vez vista la ausencia de lombrices se les revisó las condiciones de pH y conductividad eléctrica y se confirmó eran las correctas; no es fácil explicarse este fenómeno pues el tamaño de la cría indica tenía al menos 2 meses de edad (toma cerca de un mes la puesta y eclosión del cocón) y se encontró un cocón sin eclosionar (después de poner un cocón, la lombriz puede colocar uno más pasados 10 días): si hubiera existido una población mayor durante algún tiempo se encontrarían cocones eclosionados como ocurre en los demás cajones, si la población hubiera muerto se encontrarían restos de la misma o un olor fétido pues después de morir las lombrices fermentan y despiden un olor desagradable pero no fue así, después del primer monitoreo hubo una inundación fuerte sin embargo por ser cajones de madera los cajones no se hundieron pero ese cajón en particular pudo haber estado en mala posición, provocando la fuga de las lombrices.

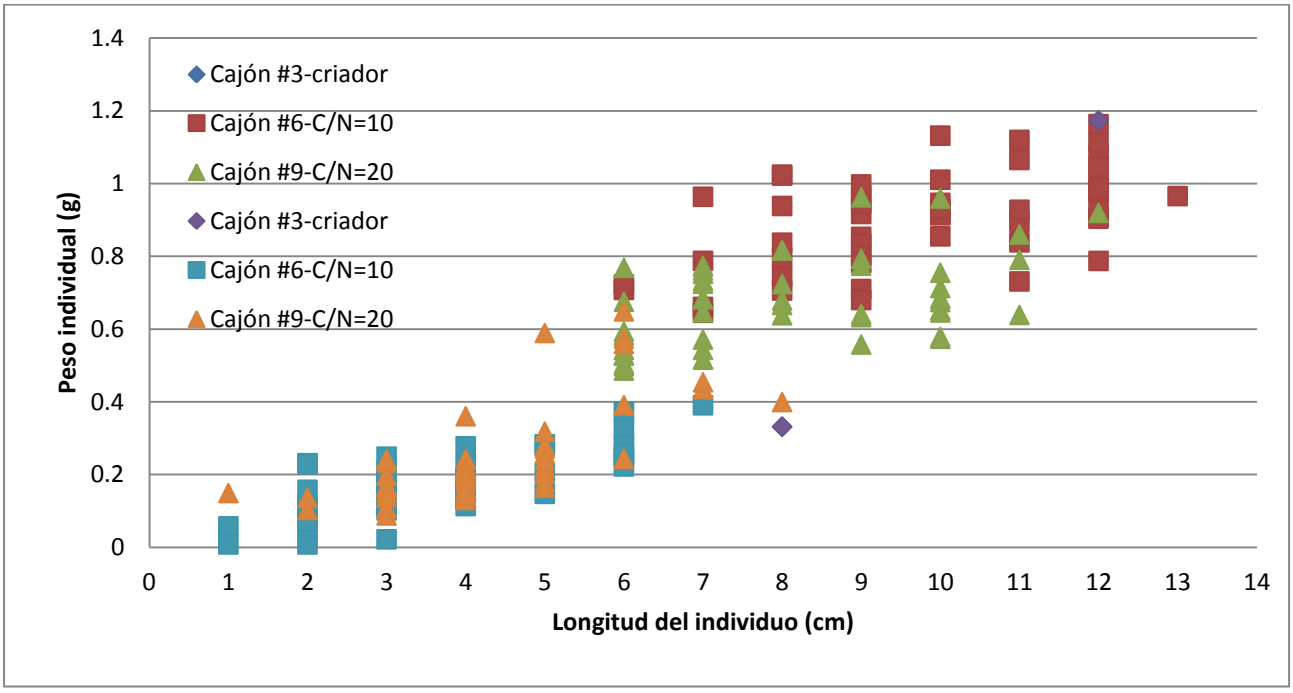


Gráfico 10 Comparación de peso y longitud de la población de lombrices en los tres cajones en el tercer monitoreo

Los otros dos cajones revisados (#6 con C/N=10 y #9 con C/N=20) presentan aproximadamente la misma tendencia que el mes anterior (ver Tabla 32), siendo más grandes las lombrices alimentadas con formulación de C/N=10, la presencia de las crías dificultó determinar si la población de adultas de 6 cm había aumentado de peso o de tamaño pues las crías y las adultas de 6 cm de longitud

contaban con aproximadamente el mismo peso, por lo que en la población de crías no se logra ver dicha tendencia como se había visto con anterioridad (ver Tabla 31 para la comparación).

En la Tabla 32 se muestra la suma de la población de crías y adultas para el mes tres de crianza, del cajón 3 con C/N=30 se ve la misma población ya explicada para el Gráfico 10. Para el cajón #6 con C/N=10 tiene distribución muy equitativa entre sus grupos, incluso al compararlo con la Tabla 31 del mes anterior se ve que la proporción del grupo mayores a 11 cm aumentó por lo que las lombrices aun se encontraban creciendo. En el cajón #9 con C/N=20 hubo más concentración de lombrices en el grupo entre 3 cm<L≤7 cm, esto puede ser a causa de una alta relación de nacimiento pero menor relación de crecimiento por lo que la población se estanca en ese grupo durante más tiempo. En el cajón #9 fueron pesadas crías de mayor tamaño en comparación de las del cajón #6.

Tabla 32 Distribución de la población de lombrices de los cajones por grupo al mes tres de crianza

	Cajón #3 C/N=30	Cajón #6 C/N=10	Cajón #9 C/N=20
Grupos (cm)	Número de lombrices	Número de lombrices	Número de lombrices
≤3	1	29	14
3<L≤7	0	27	59
7<L≤11	1	30	26
11<L	1	14	1

En el Gráfico 11 ya se observan especímenes para los cuatro grupos, aunque en este monitoreo no se notó la misma tendencia para los cajones monitoreados como lo visto en los meses anteriores, algunas causas puede ser la falta de homogeneidad en el muestreo y la ausencia de lombrices en un cajón. Se nota la presencia de lombrices adultas, las cuales no ganaron mucho peso en el último mes transcurrido, se puede pensar que están cerca del límite de su crecimiento puesto que otras sí han crecido. También se observan las crías, aunque ya se notaba presencia el mes anterior no fueron consideradas para ser muestreadas dicho mes (por su difícil separación del sustrato y por la posibilidad de causarles la muerte), en este mes algunas alcanzan ya los 6 cm por lo que se piensa son las nacidas dos meses atrás.

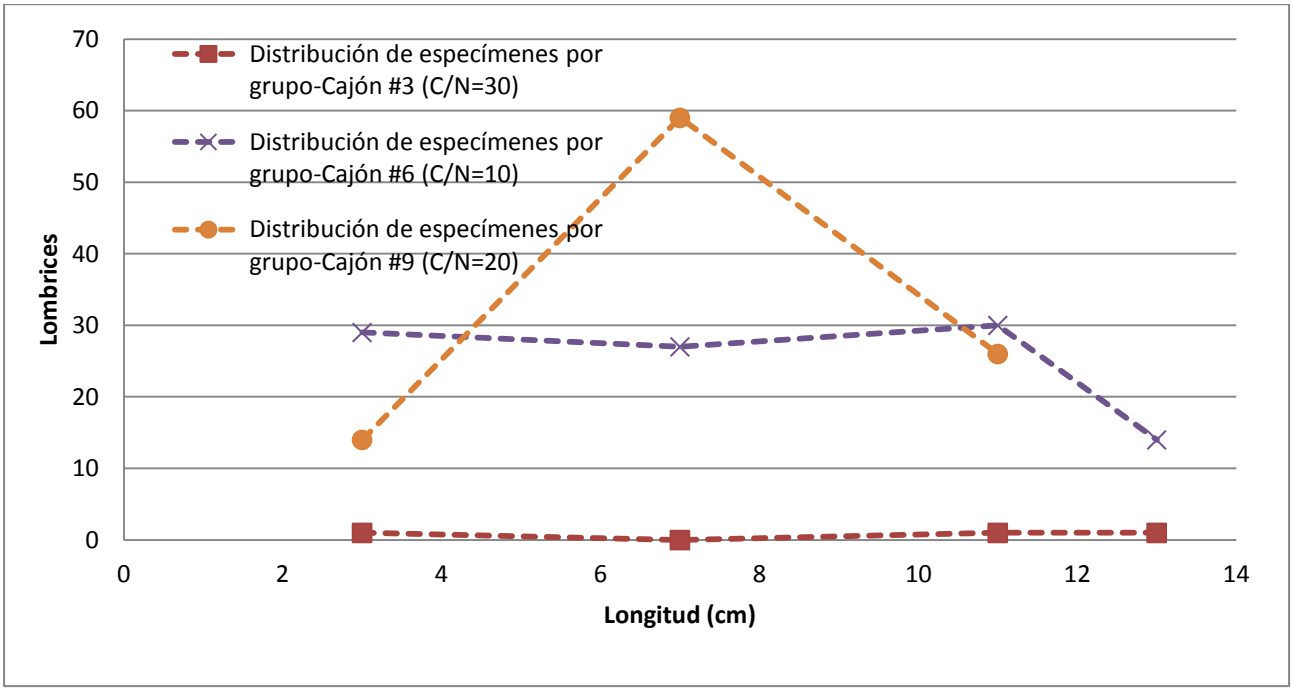


Gráfico 11 Distribución de la población de lombrices a tres meses de crianza por grupos

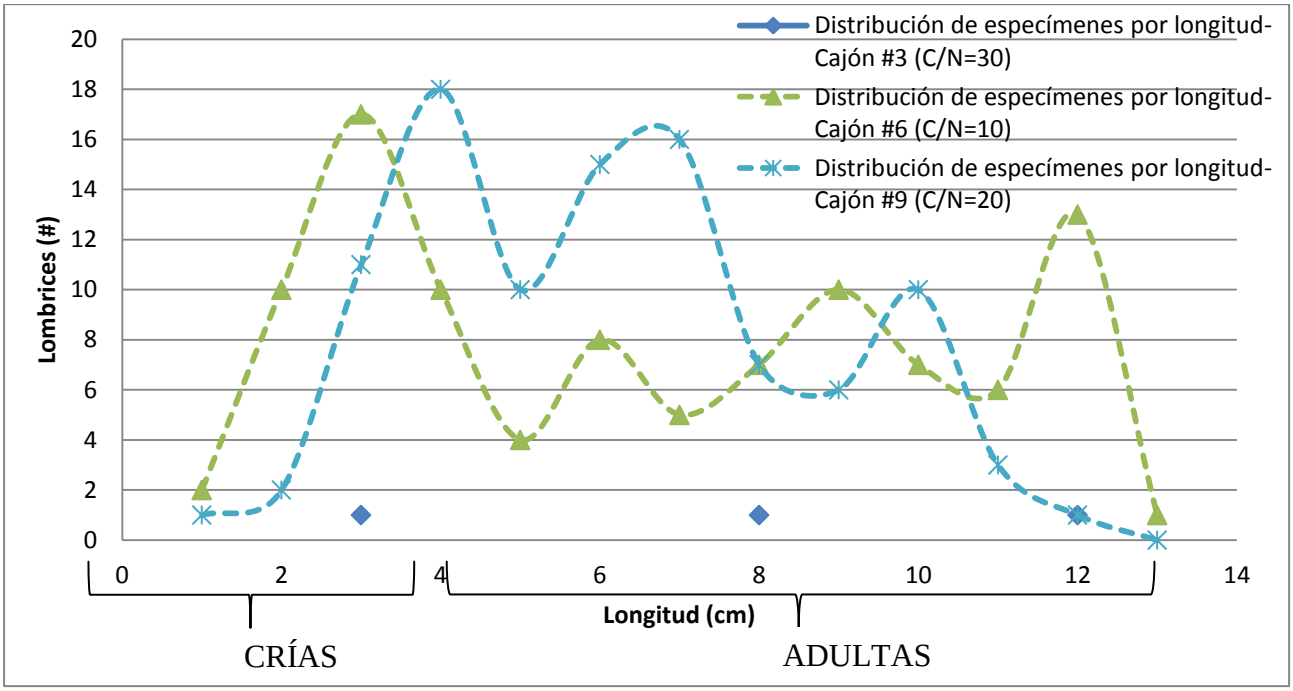


Gráfico 12 Distribución de la longitud de las lombrices de los tres cajones a los tres meses de crianza

En el Gráfico 12 se observan distintas campanas que indican mayor número de lombrices de una misma longitud; en el caso del cajón #6 con C/N=10 se observan dos picos de mayor tamaño, uno de ellos en 3 cm, por tener esta longitud se asume que son las crías de aproximadamente un mes de nacidas, existe un segundo pico en 12 cm, como se observa esta es la formulación que ha alcanzado

un mayor número de lombrices de mayor talla. En el caso del cajón #9 se observan crías de mayor talla que para el cajón #6, a reserva de las deficiencias en el proceso de muestreo, mientras que para la población adulta se observa pequeña cantidad de especímenes que han alcanzado tallas grandes >10 cm; coincidiendo con los resultados reportados en monitoreos pasados. En general y considerando todos los monitoreos, se observó que la composta con lombrices de mayor tamaño fue el sustrato con relación C/N=10, recordando que es la que tiene mayor presencia de desechos hortofrutícolas concluyendo que en cuestión de talla es esta relación C/N la que da mejores resultados en esta práctica, por la disponibilidad del carbono presente en el sustrato (el carbono esta en forma de fibra, con la presencia de paja y en forma de azucares simples, presentes en los desechos hortofrutícolas).

3.1.1.1.Recolecta de las lombrices (conteo total de la población)

Concluidos los 4 meses de crianza, se pesaron 100 lombrices por cada cajón y se midieron todas las lombrices presentes en los 8 cajones de crianza, se colocan a continuación los gráficos en los que se representan los datos obtenidos.

En el primer grupo de gráficos se presenta la muestra de 100 lombrices por formulación en un gráfico de dispersión (longitud vs peso individual) por cada formulación, en el segundo grupo de gráficos se muestra el número de lombrices por grupo de la población total en cada formulación y en el tercer grupo de gráficos se muestra la población total por formulación en número de especímenes de acuerdo a su longitud.

Como se observa en el Gráfico 13, Gráfico 14 y Gráfico 15, en la muestra de 100 lombrices se observa menor peso con respecto al mes pasado en las tres formulaciones, esto puede ser causado por la disminución de la temperatura ambiental, la disminución de la materia orgánica disponible para alimentarse pues si bien aun había composta disponible, los nutrientes necesarios para su crecimiento pudieran no ser los suficientes o que el aumento de la población reduce la talla de las lombrices, esta pérdida de peso ocurre en la mayoría de las experimentaciones con lombrices (Durán y Henríquez, 2009; Fernández y otros, 2010; Gunadi y Edwards, 2003; Suthar, 2009). La distribución presente en la población a comparación de la que se vio en la inseminación sí cambia pues en la contabilización de la población final existen crías que pueden tener apenas unas semanas de nacidas y por tanto tener talla muy pequeña. En los cajones de la formulación C/N=30 (ver Gráfico 13) se nota mayor concentración en la longitud de 5 cm y si se toma el punto medio de esos datos se tiene que hay mayor concentración de lombrices a los 0.2 g, este valor es apenas poco más

alto que el que se había reportado en la inseminación (que había sido 5 cm y 0.15 g). Para la formulación C/N= 20 está a los 6 cm con 0.15 g, la razón de que sea más baja puede ser que en este lecho es donde hay más reproducción, tan solo en los cocones eclosionados (ver Tabla 33) se contabilizaron 40% más que para la formulación de C/N=10 por lo que tienen un gasto energético mayor. En la formulación C/N=10 la mayor concentración de datos está en los 5 cm y 0.25 g, este valor es mayor que para la formulación C/N=30, además, si se ven los promedios de peso presentados en la Tabla 34 los pesos promedio para la formulación C/N=10 es mayor que para las otras formulaciones a partir de la longitud de 6 cm.

En la literatura se ha propuesto que la pérdida de peso puede ser causada por que la lombriz utiliza energía al reproducirse (Cluzeau y otros, 1992). Si se pone en orden de menos peso a mayor peso los datos de la formulación con relación C/N=30 sería la más baja, luego estaría la formulación C/N=20 y finalmente C/N=10, es decir, la tendencia vista en meses anteriores permanece. Los datos de los tres cajones para cada formulación están en el mismo rango entre sí aproximadamente.

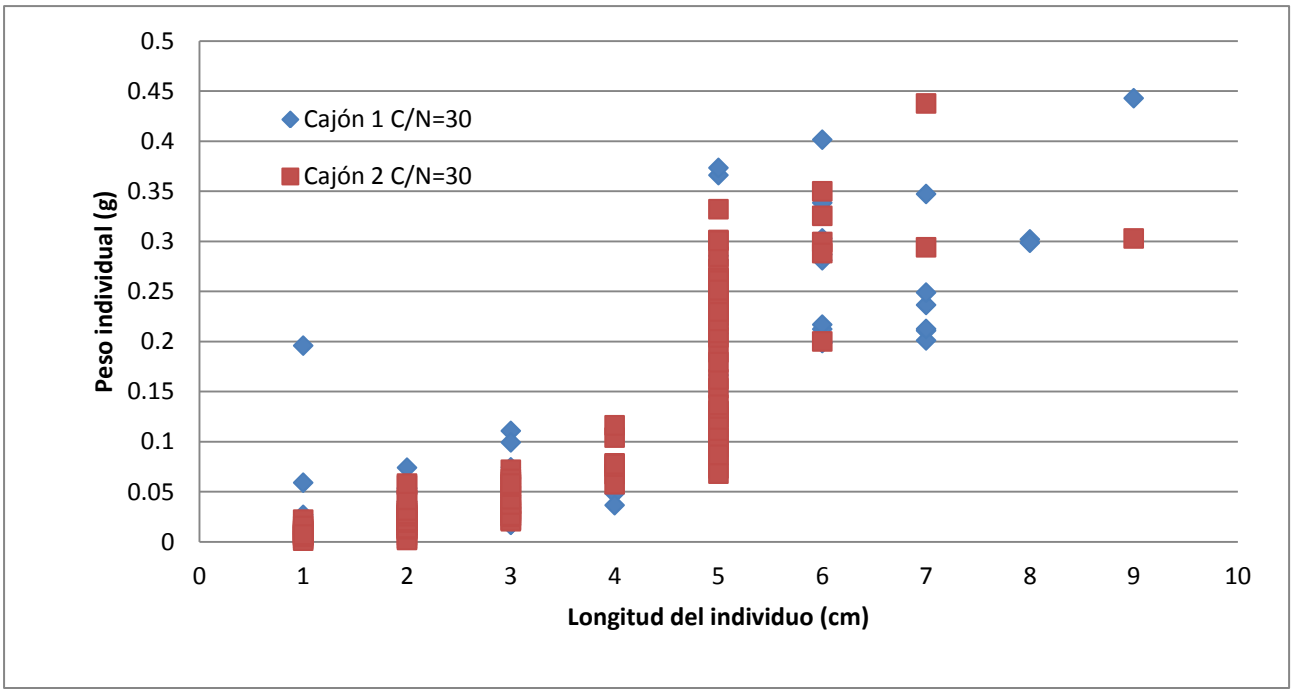


Gráfico 13 Comparación de peso y longitud de la muestra de lombrices en los dos cajones de la formulación C/N=30

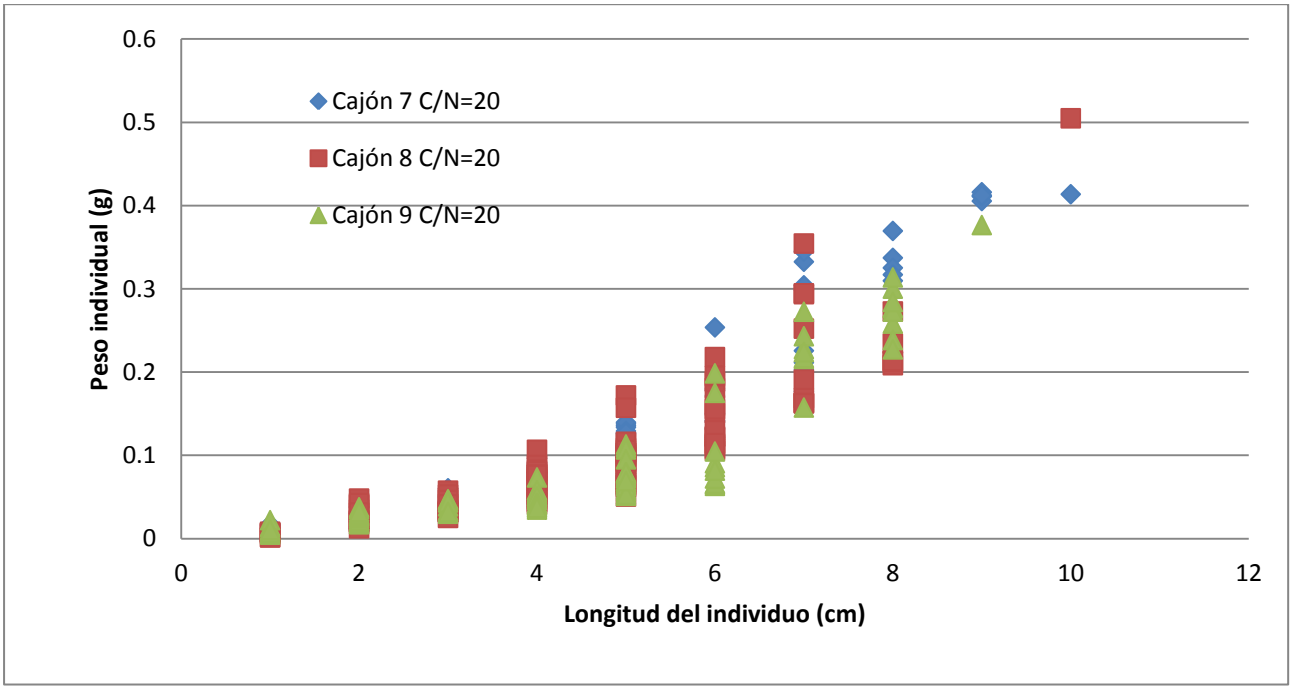


Gráfico 14 Comparación de peso y longitud de la muestra de lombrices en los dos cajones de la formulación C/N=20

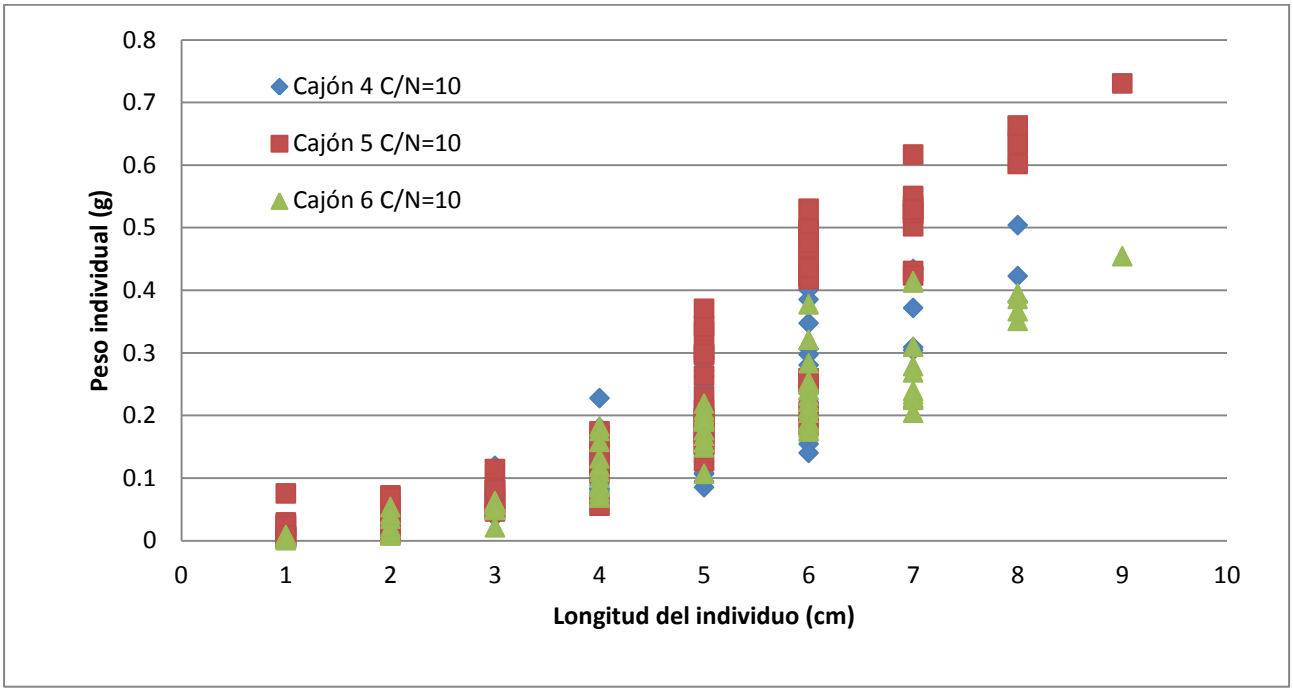


Gráfico 15 Comparación de peso y longitud de la muestra de lombrices en los dos cajones de la formulación C/N=10

En la Tabla 33 se resumen los datos obtenidos de la separación de la población total de lombrices y los cocones (eclosionados y no eclosionados) del sustrato, el cajón 3 se eliminó del promedio para

no afectar a los resultados de dicha formulación pues la muerte de las lombrices de este cajón no fue por una característica inherente al sustrato de crianza en cuestión.

Tabla 33 Promedio de la población final de lombrices y cocones

Relación C/N	Número de lombrices	Cocones eclosionados	Cocones sin eclosionar
C/N=30	2007	202.5	242
C/N=10	5601.6	1664.6	827
C/N=20	5782.3	2299.6	495

Al analizar los datos en la Tabla 33 y de acuerdo al pie de cría utilizado, la población total, sin distinguir el tamaño individual, en la formulación C/N=30 fue en promedio 22.7 veces más que la inicial, la de C/N=20 fue 67.1 veces más y la de C/N=10 fue 65.4 veces más, es decir, las formulaciones con presencia de desechos hortofrutícolas crecieron el triple que la patrón.

Con ayuda de los datos de longitudes y pesos de las 100 lombrices de cada cajón se sacó el promedio de los pesos al finalizar la crianza de las lombrices recopilando la información en la Tabla 34.

Tabla 34 Promedio de pesos de cada cajón en la recolección

Longitud (cm)	Cajones peso (g)							
	C/N=30		C/N=10			C/N=20		
	1	2	4	5	6	7	8	9
1	0.0462	0.0086	0.0118	0.0165	0.005	0.0106	0.0057	0.0111
2	0.0306	0.024	0.0319	0.0385	0.0227	0.0259	0.0288	0.0258
3	0.051	0.0408	0.0795	0.0708	0.0516	0.0476	0.0391	0.0392
4	0.0519	0.0825	0.1171	0.1331	0.1068	0.0714	0.0662	0.0454
5	0.2514	0.2026	0.1813	0.2277	0.1811	0.1359	0.0955	0.0738
6	0.271	0.2928	0.2649	0.3943	0.2293	0.1551	0.1477	0.1006
7	0.243	0.366	0.3547	0.5148	0.2766	0.2621	0.2272	0.2228
8	0.3004		0.4363	0.6329	0.3746	0.3319	0.2286	0.2723
9	0.443	0.303		0.7304	0.4544	0.4114		0.3768
10						0.4138	0.505	

Se compararon los datos de la Tabla 34 con la Tabla 27 para concluir si las lombrices habían ganado o perdido peso en la experimentación tomando en cuenta únicamente el inicio y el último mes, para ello se le restó los pesos iniciales a los pesos de la recolección, en la Tabla 35 se muestran con signo negativo aquellos cajones que tienen menor peso con respecto al inicial. Se observa que las lombrices de 3 cm y menores (consideradas crías) son de menor peso que las usadas en el pie de cría, esto se atribuye a que las usadas como pie de cría provenían de condiciones adversas para el crecimiento por lo que asumimos preferían utilizar su energía en la ganancia de masa que en el aumento longitudinal. Otra característica que se observa en la Tabla 34 es que hasta los 6 cm de longitud, las lombrices aumentan aproximadamente al doble su masa al aumentar su tamaño, es decir, las lombrices de 2 cm pesan el doble que las de 1 cm, las de 3 cm pesan el doble que las de 4 cm y así sucesivamente.

Tabla 35 Comparación de pesos promedio antes y después de la crianza

Longitud (cm)	**Cajones peso (g)**							
	1	2	4	5	6	7	8	9
1	0.0042	-0.0334	-0.0302	-0.0255	-0.037	-0.0314	-0.0363	-0.0309
2	-0.0114	-0.018	-0.0101	-0.0035	-0.0193	-0.0161	-0.0132	-0.0162
3	0.009	-0.0012	0.0375	0.0288	0.0096	0.0056	-0.0029	-0.0028
4	0.0099	0.0405	0.0751	0.0911	0.0648	0.0294	0.0242	0.0034
5	0.2094	0.1606	0.1393	0.1857	0.1391	0.0939	0.0535	0.0318
6	0.229	0.2508	0.2229	0.3523	0.1873	0.1131	0.1057	0.0586
7	0.201	0.324	0.3127	0.4728	0.2346	0.2201	0.1852	0.1808
8	0.2584	-0.042	0.3943	0.5909	0.3326	0.2899	0.1866	0.2303
9	0.401	0.261	-0.042	0.6884	0.4124	0.3694	-0.042	0.3348

Al observar el Gráfico 16, Gráfico 17 y el Gráfico 18 que representan la población total de lombrices en cada cajón de las formulaciones, se nota la diferencia alcanzada en la producción de lombriz para cada grupo en la clasificación por tamaño. La formulación con más crías fue la de relación C/N=20, seguida de C/N=10 y finamente C/N=30 (de la que fueron menos de la mitad por cada cajón de crianza con respecto a las otras dos).

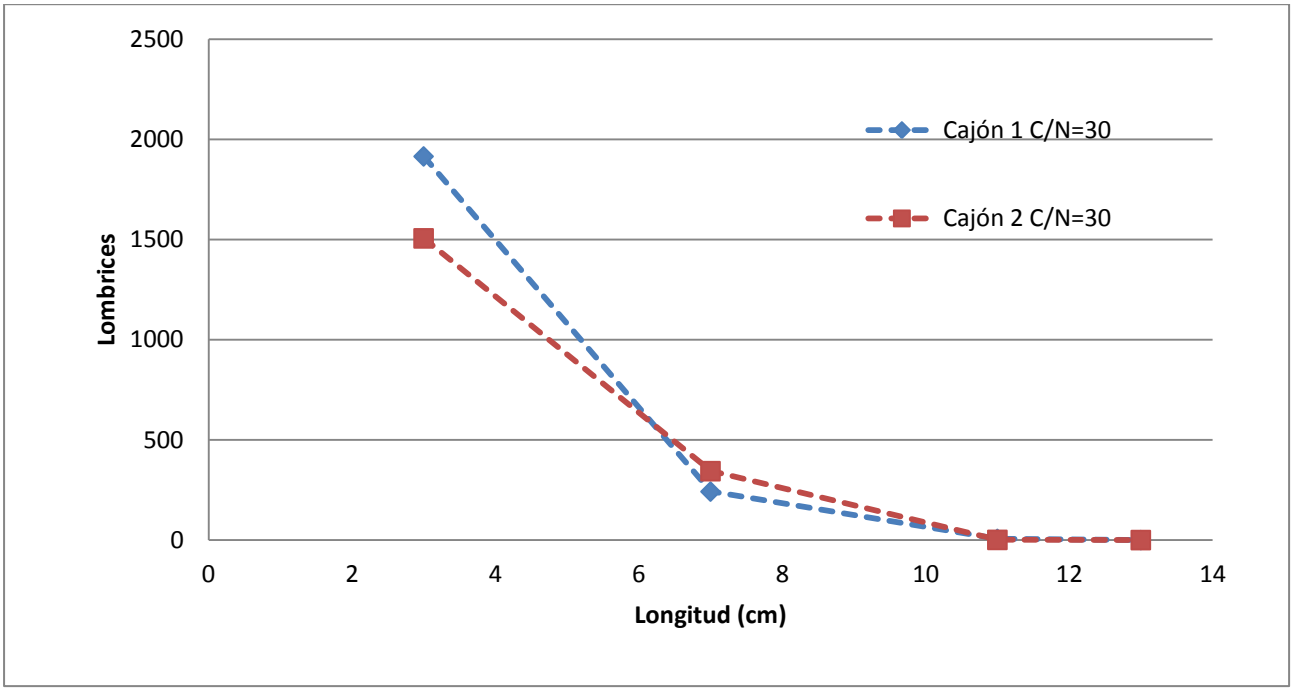


Gráfico 16 Distribución de la población total de lombrices al final de la crianza (4 meses) para la formulación C/N=30 de acuerdo a su clasificación por grupos

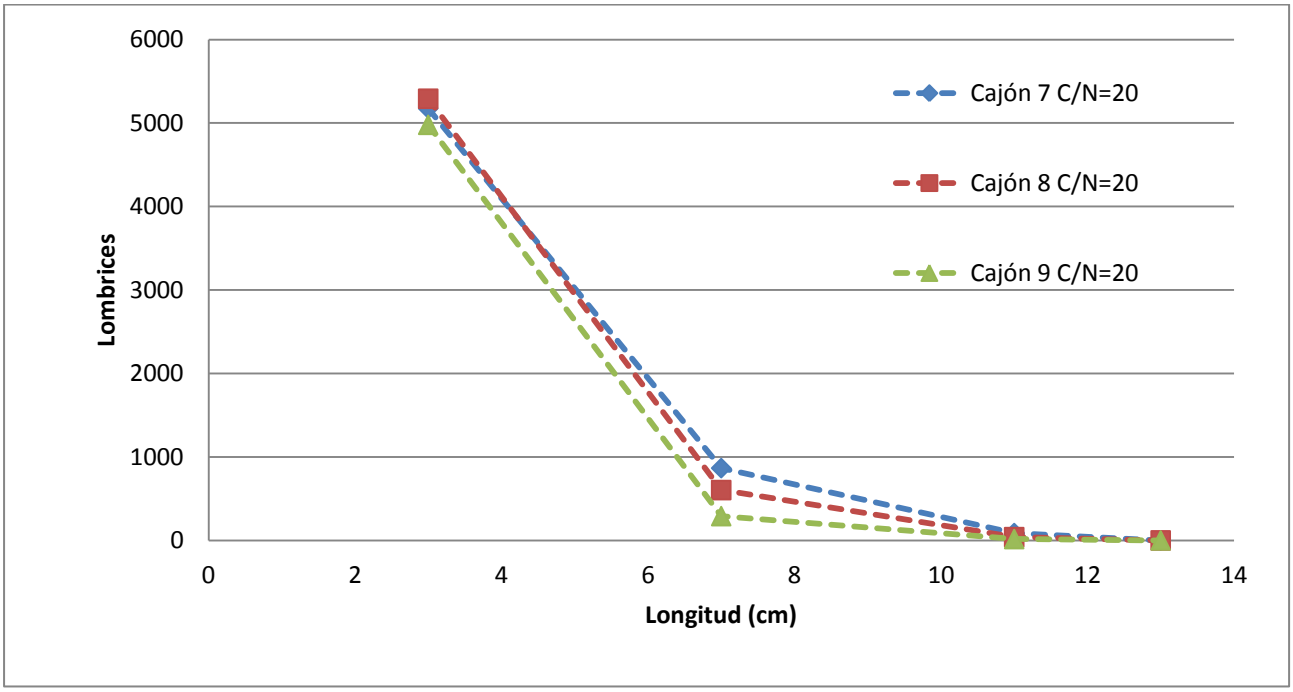


Gráfico 17 Distribución de la población total de lombrices al final de la crianza (4 meses) para la formulación C/N=20 de acuerdo a su clasificación por grupos

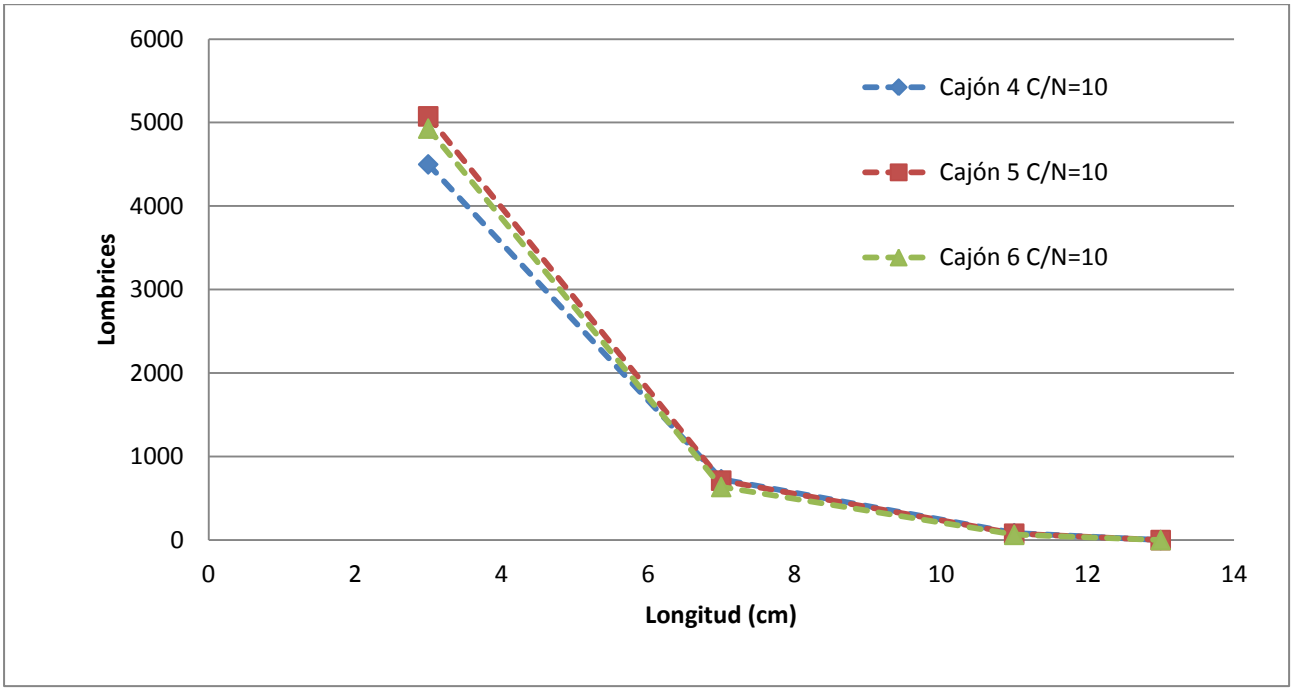


Gráfico 18 Distribución de la población total de lombrices al final de la crianza (4 meses) para la formulación C/N=10 de acuerdo a su clasificación por grupos

Para la comparación de la población total de acuerdo a la longitud de las lombrices (Gráfico 19, Gráfico 20 y Gráfico 21) se eliminó el primer dato (número de lombrices con longitud de 1 cm) para facilitar ver los demás datos en la formulación C/N=20 y en la C/N=10 pues en ambos la población de 1 cm se encuentra en las 4 000 lombrices. En los cajones de la formulación C/N=30 pasa lo contrario que en las otras dos formulaciones, las de 1 cm son pocas y se compensa en la población de 2 cm que es casi igual que para las otras dos formulaciones, en la población de 3 cm, la de la formulación C/N=30 es mayor que la de las otras dos, esto se debe a que en las formulaciones de C/N 10 y 20 hubo mayor reproducción y como se esperaba, las primeras lombrices nacidas en estos sustratos alcanzaron la madurez sexual y también se contabilizaron las crías de estas, mientras que para el sustrato considerado como patrón (C/N 30) por tener lombrices de baja talla, estas no alcanzaron la madurez sexual, es por esto la superioridad de lombrices de 1 cm para las formulación de C/N 10 y 20.

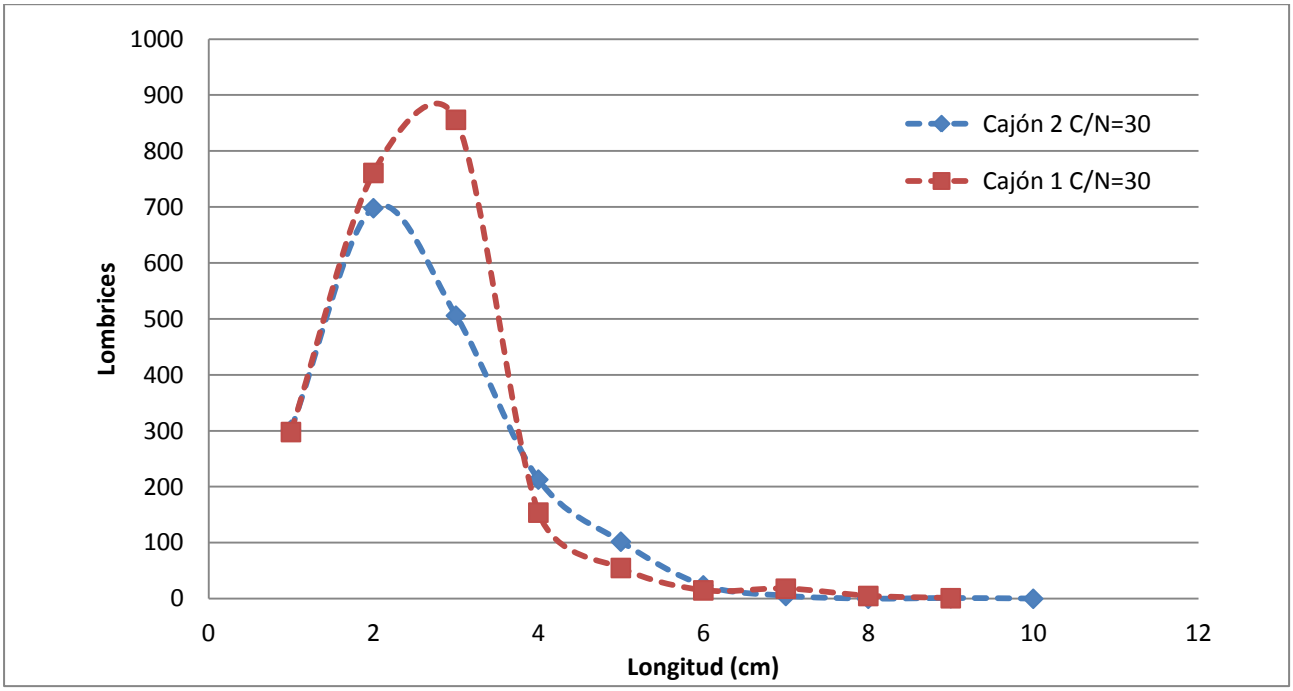


Gráfico 19 Distribución de la población total de lombrices al finalizar la crianza (4 meses) de acuerdo a la longitud de cada espécimen en la formulación C/N=30

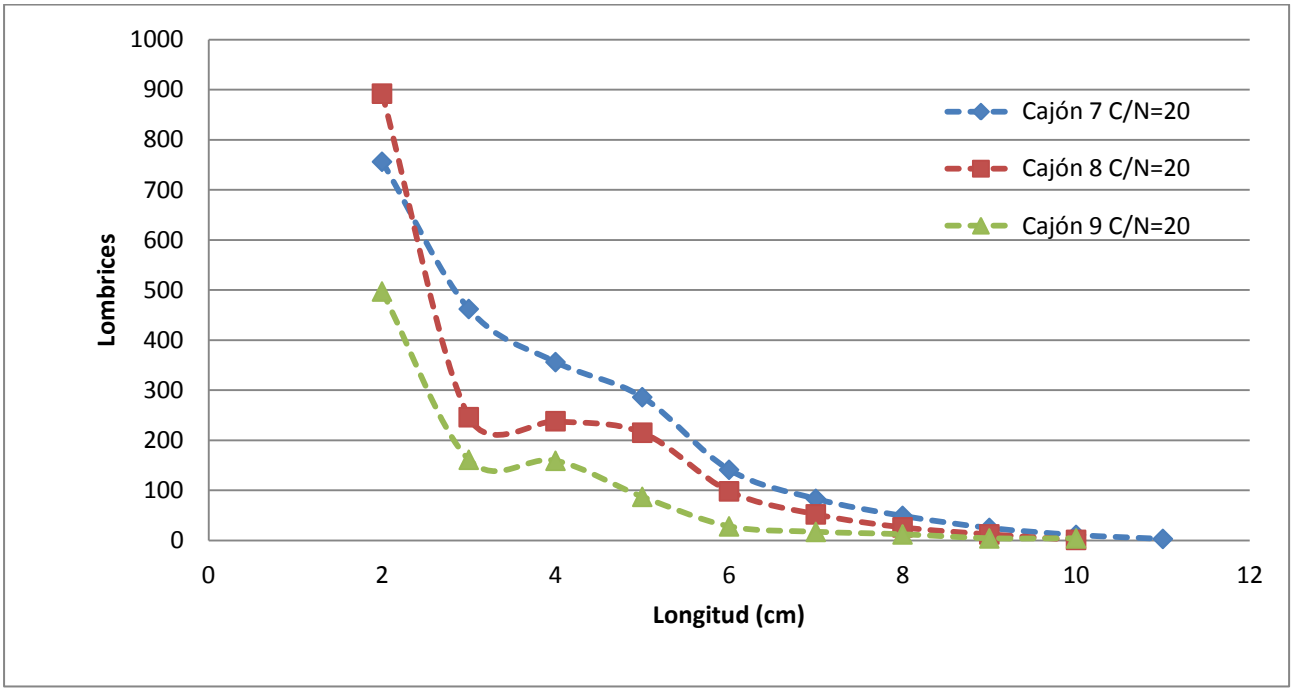


Gráfico 20 Distribución de la población total de lombrices al finalizar la crianza (4 meses) de acuerdo a la longitud de cada espécimen en la formulación C/N=20

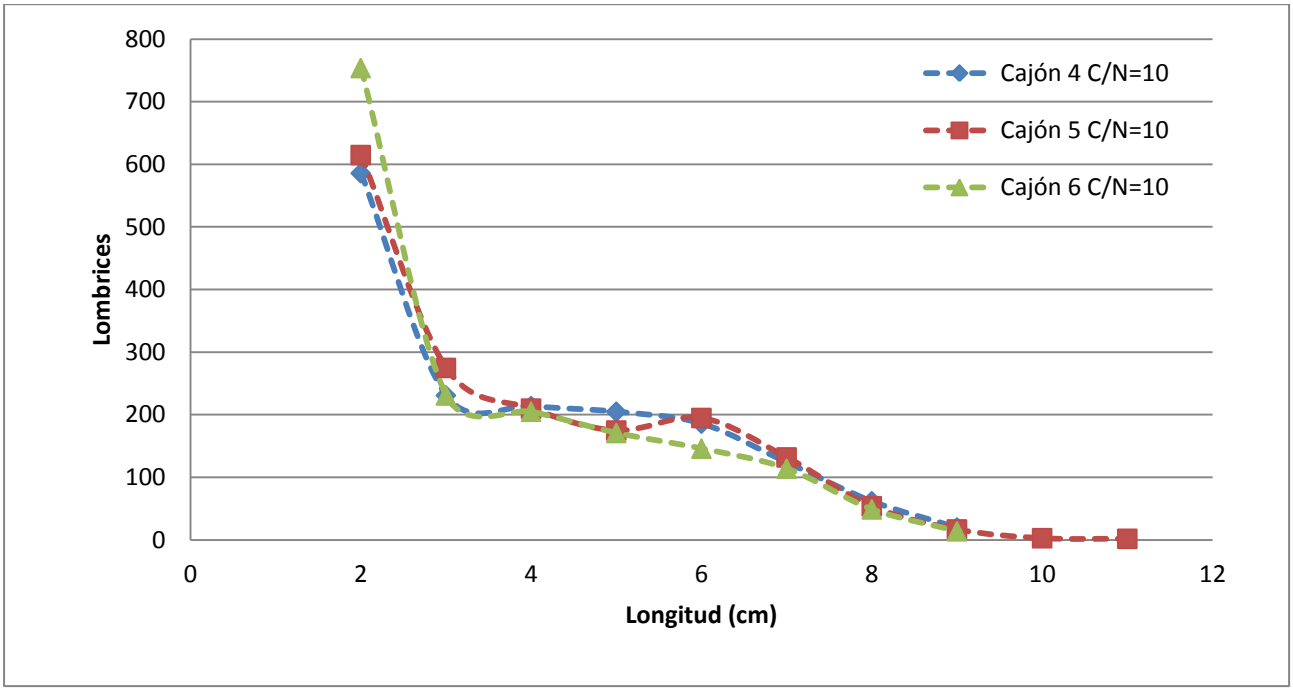


Gráfico 21 Distribución de la población total de lombrices al finalizar la crianza (4 meses) de acuerdo a la longitud de cada espécimen en la formulación C/N=10

Se realizó el análisis de varianza para determinar si la relación del sustrato afecta en la reproducción después de 4 meses de crianza, se llevo a cabo el experimento con tres niveles de relación y 3 réplicas (ver Tabla 36).

Tabla 36 Población total de lombrices a los 4 meses de crianza

Relación C/N	Número de lombrices a los 4 meses de crianza			Totales y_i	Promedios $\bar{y}_i$
10	5312	5864	5629	16805	5601.667
20	6128	5933	5286	17347	5782.333
30	2163	1851		4014	2007.000
Totales				38166	13391.000

En el Gráfico 22 se muestran los datos experimentales en un diagrama de caja donde los bigotes representan los valores máximos y mínimos de las replicas en cada nivel, la línea media muestra el promedio de las observaciones en cada relación C/N, con base en éste grafico se tienen firmes sospechas que no existe diferencias significativas entre la relación C/N=10 y 20, mientras que para la relación C/N=30 existe un claro descenso en el número de lombrices.

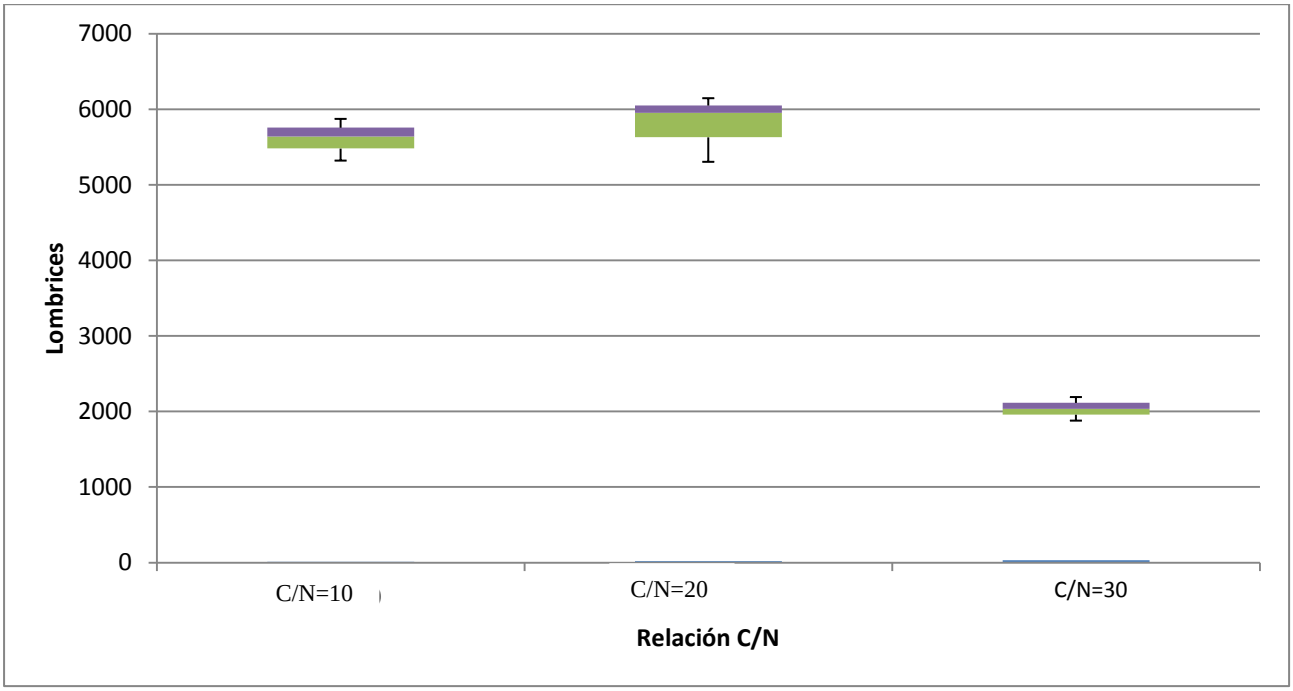


Gráfico 22 Diagrama de caja para población final después de 4 meses de crianza

Se usó el análisis de varianza para probar H_0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ contra la hipótesis alternativa H_1: algunas medias son diferentes (Montgomery, 2012).

Tabla 37 Análisis de varianza para las tres formulaciones (C/N=10, C/N=20 y C/N=30)

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F_0
Relación C/N	17732432.17	2	8866216.083	13.5319
Error	3276043.333	5	655208.6667	
Total	21008475.5	7		

En la Tabla 37 se resume el análisis de varianza, se calculó el cociente F_0=8866216.083/655208.6667=13.5319 y se comparó este valor con el punto porcentual seleccionando α=0.05 $F_{0.05,2,5}$=5.79. Puesto que F_0=13.5319>5.79, se rechaza H_0 y se concluye que las medias de los tratamientos difieren; es decir, la relación C/N del sustrato afecta de manera significativa el número de lombrices encontradas después de 4 meses de crianza.

Se realizó un análisis de varianza más para la relación C/N=10 y 20 ya que en la gráfica de caja se observan muy similares sus resultados obteniendo la Tabla 38.

Tabla 38 Análisis de varianza para la formulación C/N=10 y C/N=20

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F_0
Relación C/N	48960.6667	1	48960.6667	0.0008
Error	194935189.3	3	64978396.44	
Total	194984150	7		

En la Tabla 38 Se resume el análisis de varianza para la relación C/N=10 y 20, se calculó el cociente F_0=48960.6667/64978396.44=0.0008 y se comparó este valor con el punto porcentual seleccionando α=0.05 $F_{0.05,1,3}$=10.13. Puesto que F_0=0.0008<10.13, se acepta H_0 y se concluye que las medias de los tratamientos de la relación C/N=10 y 20 no difieren; es decir, la relación C/N=10 y20 del sustrato no afecta de manera significativa el número de lombrices encontradas después de 4 meses de crianza.

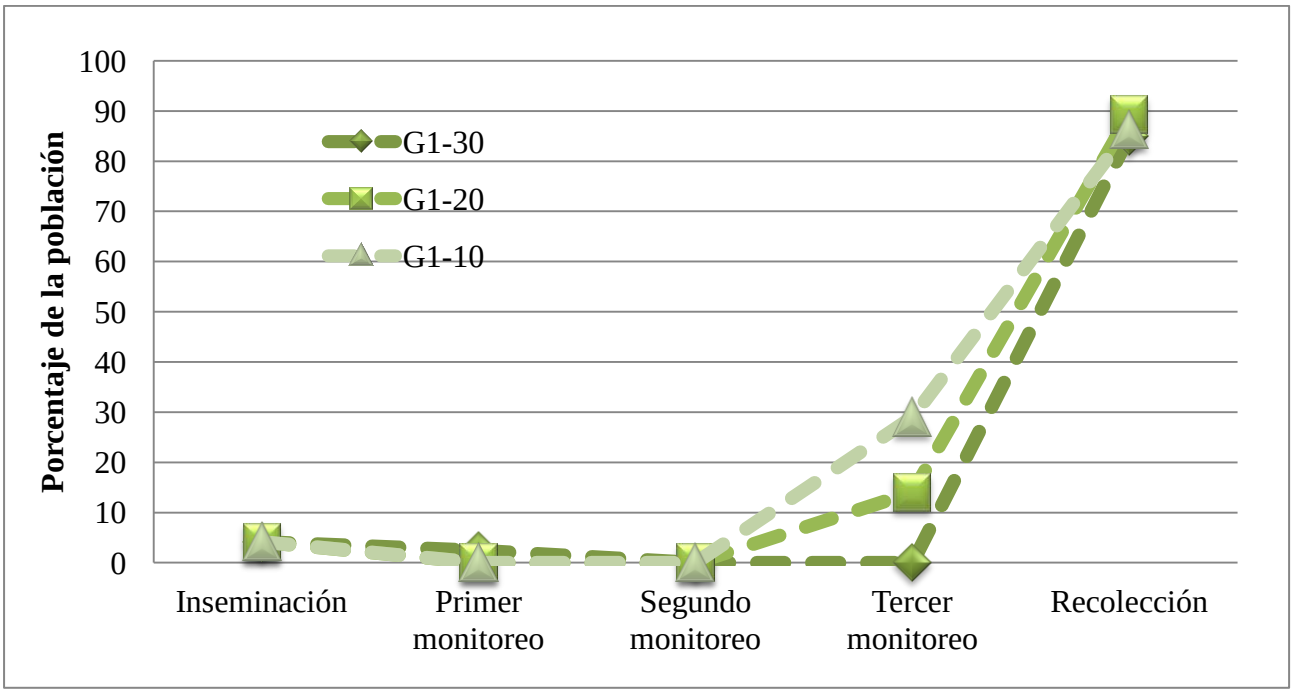


Gráfico 23 Evolución del porcentaje de la población del grupo 1 durante 4 meses de crianza

De acuerdo al análisis de varianza no hay diferencia significativa entre la formulación de C/N=10 y C/N=20 para este periodo (4 meses), sin embargo por la diferencia en las pendientes de los gráficos se puede suponer que si el tiempo es extendido la formulación C/N=20 aumentará (ver Gráfico 23).

3.3. OBJETIVO PARTICULAR 2

3.3.1. Elaboración de la harina de lombriz

Se utilizaron lombrices mayores a 4 cm de longitud, fueron limpiadas y sacrificadas de la misma manera para las tres formulaciones.

Las lombrices del sustrato de C/N=30 y C/N=20 fueron colocadas en la misma charola, a cada formulación se le asignó un área por motivo de espacio (sin haber sido mezcladas) dentro del secador, mientras que las lombrices de C/N=10 se colocaron en una segunda charola, ambas charolas se colocaron al mismo tiempo dentro de la estufa de secado, durante 100 min a 70°C.

Se determinó la humedad (termobalanza) de las lombrices sacrificadas antes de ser introducida al secador para obtener por balances de materia la humedad final.

La humedad de las lombrices sacrificadas fue de 74.61% (promedio de las humedades de las lombrices de los tres sustratos); las humedades finales obtenidas por balance de materia fueron para la charola 1 (C/N=30 y 20) 12.82% y 13.95% para la charola 2 (C/N=10), ambas inferiores a 15% como lo estipula la NOM-247-SSA1-2008 (Secretaría de Salud, 2008) dirigida a harinas de cereales. Se observó durante la prueba que primero las lombrices perdían totalmente su estructura celular, liberando el agua alrededor suyo, al finalizar el secado se notaba una mancha roja alrededor de la harina.

3.3.2. Cuantificación del contenido proteico

Una vez obtenida la harina, se midió el nitrógeno total presente (micro-Kjeldahl) para evaluar las formulaciones.

En la Tabla 39 se observa que el porcentaje de proteína bruta incrementa cuando disminuye la relación C/N, es decir, la formulación que tuvo mayor porcentaje de proteína es la de relación C/N=10, recordando que es la formulación que contiene mayor cantidad de desechos hortofrutícolas, como se vio en el objetivo particular 1, es este sustrato el que consiguió mayor incremento de longitud y peso en sus lombrices, por lo que se asume que con esta formulación la lombriz adquiere todas las necesidades de energía, condiciones estructurales y fisicoquímicas en el sustrato que requiere para su bienestar. Es así que se comprueba que los desechos de la industria alimenticia (Garg y otros, 2012) (Suthar, 2009) son aptos para la práctica de la lombricultura, obteniendo un producto con un contenido de proteína superior al 70%.

Tabla 39 Resultados promedios de nitrógeno total y proteína bruta en las harinas de lombriz

Promedios	C/N = 30	C/N = 20	C/N = 10
Nitrógeno total (%)	12.275	13.075	14.5
Proteína (%)	**76.73**	**81.74**	**90.63**

3.4. OBJETIVO PARTICULAR 3

En las muestras microbiológicas se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 40 Resultados de las pruebas microbiológicas de mohos y levaduras para muestras vivas y las harinas obtenidas para los sustratos de C/N=10, C/N=20 y C/N=30

	Mohos y Levaduras					
	Muestra Viva			Harina de lombriz		
Relación C/N	10	20	30	10	20	30
UFC promedio	1750	950	2300	15	20	0

Tabla 41 Resultados de las pruebas microbiológicas de coliformes totales para muestras vivas y las harinas obtenidas para los sustratos de C/N=10, C/N=20 y C/N=30

	Coliformes totales					
	Muestra Viva			Harina de lombriz		
Relación C/N	10	20	30	10	20	30
UFC promedio	4000	1400	250	0	0	0

De acuerdo a la NOM-247-SSA1-2008 (Secretaría de Salud, 2008) dirigida a harinas de cereales (comparativo más cercano por ser de consumo humano), los límites que se deben respetar se encuentran entre 50 a 500 UFC/g para coliformes totales y 100 a 1000 UFC/g para mohos (los rangos representan los valores requeridos para varios tipos de harinas) por lo que las harinas obtenidas de los tres sustratos de crianza entran en el límite de unidades formadoras de colonias permitidas.

Las pruebas microbiológicas también se le hicieron a las muestras vivas con el fin de observar la carga microbiológica antes del proceso y ver el efecto que tiene el secado por aire caliente en la carga microbiológica. Los resultados en la Tabla 41 muestran que a mayor contenido de composta, mayor es el contenido de coliformes totales pues la formulación elaborada mayoritariamente con paja (C/N=30) presenta una carga muy baja de éstos, esto en las muestras de lombrices vivas.

CONCLUSIONES

- Los desechos de la industria alimenticia pueden ser usadas como sustrato en la lombricultura.
- Se consiguió el triple de población de adultas para los sustratos con desechos hortofrutícolas a los dos meses de crianza comparándola con la población final de la experimentación en el sustrato C/N=30 (recomendado por el proveedor de lombrices).
- No se encontró diferencia significativa en la producción de lombrices con la formulación C/N=10 y 20 (ambas con desechos hortofrutícolas) a los 4 meses de crianza.
- El porcentaje de proteína de las harinas estuvo entre 75% y 90%, de acuerdo al sustrato con el que fueron criadas las lombrices, encontrando que a mayor porcentaje proteico, menor es la relación C/N.
- Se cuantificó mayor porcentaje de proteína en la harina de lombriz obtenida a partir de las lombrices criadas con el sustrato C/N=10 que es el de mayor saturación de nitrógeno (menor relación C/N).
- La carga microbiológica de las harinas estuvo por debajo de los límites microbiológicos permisibles que establece la NOM-247-SSA1-2008 referente a cereales y sus derivados (parámetro más cercano) por lo que son seguras para el consumo humano.
- Un tratamiento térmico y buenas prácticas de manufactura para la obtención de harina de lombriz, redujo a 0 una carga de hasta 4000 coliformes presentes antes del sacrificio.

ANEXO

Anexo 1-Datos de muestreo de las lombrices inseminadas

Tabla 42 Datos de peso (W) y longitud (L) de las lombrices utilizadas como pie de cría

	L (cm)	W (g)
1	4	0.1121
2	8	0.2768
3	6	0.1978
4	5	0.2306
5	3.5	0.1836
6	3.5	0.1066
7	3.5	0.0995
8	4	0.1591
9	5	0.234
10	6	0.2347
11	2.5	0.0692
12	3	0.0563
13	6	0.1728
14	5	0.113
15	4	0.1354
16	6	0.1632
17	4	0.1335
18	6.5	0.194
19	4	0.1204
20	6.5	0.2122
21	5	0.13
22	5.5	0.207
23	6	0.1668
24	6	0.1962
25	5	0.2066
26	5	0.1324
27	6	0.2239
28	4	0.2182
29	5	0.1974
30	4	0.2076
31	7	0.2516
32	6	0.3337
33	6	0.1767
34	6	0.1699
35	4	0.1088
36	6	0.269
37	5	0.1408
38	7.5	0.2353
39	6	0.2388
40	5	0.1958
41	4.5	0.2218
42	6	0.204
43	6	0.2895
44	5	0.2353
45	5	0.213
46	4	0.1392
47	4.5	0.1241
48	3.5	0.0786
49	4	0.1558
50	4	0.166
51	4	0.1026
52	6	0.1942
53	4.5	0.1423
54	3	0.084
55	4	0.2003
56	5	0.1705
57	6.5	0.2006
58	4.5	0.1342
59	4	0.16
60	5	0.1364
61	5	0.142
62	4.5	0.2288
63	5	0.193
64	6	0.3192
65	4	0.1913
66	5	0.214
67	4	0.0916
68	5.5	0.1953
69	5	0.2814
70	5	0.207
71	4.5	0.1773
72	6.5	0.2476
73	2	0.0836
74	4	0.2172
75	5	0.1448
76	6	0.2691
77	4.5	0.1515
78	4.5	0.2467
79	3.5	0.1521
80	3	0.1625
81	5.5	0.2043
82	4.5	0.174
83	4	0.2084
84	4	0.2648
85	3.5	0.2738
86	6	0.2869
87	5	0.1973
88	6	0.2402
89	4	0.1372
90	5.5	0.2175
91	6	0.239
92	5.5	0.2224
93	5	0.1974
94	5	0.245
95	3.5	0.0908
96	5	0.1223
97	4.5	0.1515
98	5	0.2192
99	4	0.1885
100	5.5	0.2095
101	6	0.3453
102	4	0.185
103	5.5	0.2727
104	6	0.1206
105	4	0.077
106	5	0.2906
107	4.5	0.1652
108	5	0.1333
109	4	0.0676
110	3	0.076

111	4	0.0936
112	6	0.0842
113	6	0.118
114	5	0.1378
115	4	0.1418
116	6	0.235
117	4	0.1628
118	3.5	0.0547
119	4.5	0.1873
120	6.5	0.1648
121	3.5	0.0553
122	4	0.136
123	8.5	0.2256
124	4.5	0.0776
125	6	0.2386
126	8.5	0.394
127	5	0.1814
128	4	0.0742
129	4	0.0227
130	4	0.1302
131	4	0.1221
132	5	0.1784
133	4.5	0.2255
134	5	0.0601
135	6.5	0.0972
136	5	0.1637
137	4.5	0.0411
138	6	0.0685
139	4	0.0747
140	5	0.0848
141	4	0.0812
142	5	0.156
143	5	0.2216
144	6.5	0.2304
145	5.5	0.2161
146	4	0.119
147	5.5	0.2654
148	5.5	0.093
149	5	0.1942
150	4	0.1562
151	5	0.1172

152	4.5	0.1276
153	6	0.1988
154	4.5	0.1407
155	5	0.1546
156	5	0.1111
157	5	0.0853
158	6	0.0923
159	5.5	0.101
160	5	0.1043
161	7	0.1502
162	5	0.1809
163	5.5	0.1662
164	5.5	0.1009
165	6.5	0.1913
166	5.5	0.1038
167	3	0.0118
168	5	0.148
169	5	0.1336
170	3	0.0837
171	5	0.098
172	5.5	0.0928
173	4	0.0738
174	4.5	0.1055
175	4.5	0.1055
176	4	0.1492
177	5	0.1717
178	3	0.0278
179	5	0.0959
180	5.5	0.1412
181	5.5	0.1639
182	5	0.0704
183	5	0.132
184	5.5	0.1534
185	5	0.1815
186	5	0.1014
187	5	0.1165
188	5	0.139
189	6	0.3247
190	4.5	0.129
191	5.5	0.1136
192	5	0.136

193	5.5	0.1905
194	6	0.2165
195	6	0.2417
196	5	0.1586
197	3.5	0.0779
198	4.5	0.115
199	5	0.0739
200	5	0.1406
201	4	0.0986
202	5.5	0.1431
203	5	0.0755
204	4.5	0.1079
205	6	0.2702
206	5	0.1827
207	5.5	0.162
208	4	0.088
209	5	0.1998
210	5	0.19
211	3.5	0.0791
212	5	0.1744
213	5	0.1833
214	3	0.0734
215	5	0.1373
216	4	0.1288
217	5.5	0.1756
218	5	0.085
219	4	0.1181
220	5	0.1293
221	3	0.0473
222	6	0.1692
223	3.5	0.1006
224	6	0.184
225	5	0.1476
226	5	0.1954
227	5	0.175
228	5	0.2128
229	4.5	0.134
230	6.5	0.2617
231	6	0.2684
232	5	0.1672
233	5	0.1515

234	5	0.1977
235	5	0.1136
236	4	0.1027
237	4	0.0988
238	5.5	0.1283
239	5	0.1658
240	4.5	0.178
241	4.5	0.1475
242	5	0.1895
243	5.5	0.1506
244	4	0.1463
245	4	0.1214
246	5	0.191
247	5	0.1239
248	4.5	0.1059
249	5	0.1344
250	4	0.1102
251	7	0.189
252	5	0.1563
253	4	0.1062
254	5	0.1379
255	4	0.1163
256	4.5	0.1227
257	5	0.155
258	5.5	0.1517
259	4	0.1844
260	4	0.0898
261	7	0.2054
262	4	0.0738
263	5	0.1832
264	5	0.1912
265	7	0.2097
266	5	0.1638
267	4.5	0.1568
268	4	0.1027
269	6	0.185
270	5.5	0.1883
271	6	0.249
272	4	0.1625
273	3	0.1413
274	5	0.2076

275	4	0.1438
276	1.5	0.042
277	9	0.4334
278	4	0.2421
279	5	0.1067
280	4	0.1682
281	4	0.0952
282	4.5	0.2052
283	4.5	0.1027
284	4	0.0985
285	4.5	0.1246
286	4	0.0932
287	4.5	0.145
288	5	0.1726
289	5.5	0.1731
290	5	0.1822
291	5	0.138
292	6	0.1467
293	3.5	0.0962
294	5	0.1288
295	6	0.1104
296	5	0.113
297	7	0.203
298	5.5	0.1869
299	5.5	0.2909
300	4.5	0.1052
301	6.5	0.1649
302	4.5	0.1046
303	4.5	0.1046
304	5	0.1254
305	4	0.1156
306	5	0.1606
307	4	0.098
308	5.5	0.1277
309	4	0.2615
310	5	0.165
311	4	0.1348
312	4	0.1035
313	4	0.0852
314	5.5	0.1943
315	6	0.2417

Anexo 2 -Datos del primer monitoreo

Tabla 43 Datos obtenidos en el primer monitoreo - población total 8 de julio

	Cajón #1-C/N=30	Cajón #4-C/N=10	Cajón #7-C/N=20
1	3	5	5
2	3	5	6
3	5	5	6
4	5	5	6
5	5	5	6
6	5	6	6
7	5.5	6	6
8	6	6	6
9	6	6.5	6
10	6	6.5	6
11	6	6.5	6
12	6	7	6
13	6	7	6
14	6	7	6
15	6	7	6
16	6	7	6
17	6	7	6
18	6	7	6
19	6	7	6
20	6	7	6
21	6	7	6
22	6	7	7
23	6	7	7
24	6	7	7
25	6	7	7
26	6	7	7
27	6	7	7
28	6	7	7
29	6	7	7
30	6	7	7
31	6.5	7	7
32	6.5	7	7
33	7	7	7
34	7	7	7
35	7	7	7
36	7	7	7

37	7	7	7
38	7	7	7
39	7	7	7
40	7	7	7
41	7	7	7
42	7	7	7
43	7	7	7
44	7	7	7
45	7	7	7
46	7	7	7
47	7	7	7
48	7	7	7
49	7	7	7
50	7	7	7
51	7	7	7
52	7	7	7
53	7	7	7
54	7	7	7
55	8	7	7
56	8	7	7
57	8	7	7
58	8	8	7
59	8	8	7
60	8	8	7
61	8	8	7
62	8	8	7
63	8	8	7
64	8	8	7
65	8	8	8
66	8	8	8
67	8	8	8
68	8.5	8	8
69	9	8	8
70	9	8	8
71	9	8	8
72	9	8	8
73	9	8	8
74	9	8	8
75	9	8	8
76	9	8	8
77	9	8	8

78	9	8	8
79	10	8	8
80	10	8	8
81	10	8	8
82	10	8	8
83		8	8
84		8	8
85		8	8
86		8	8
87		9	9
88		9	9
89		9	9
90		9	9
91		9	9
92		9	9
93		10	9
94		10	9
95		11	10

Anexo 3- Datos del segundo monitoreo

Tabla 44 Datos obtenidos en el segundo monitoreo de los cajones - 2 de agosto

	Cajón #2-C/N=30		**Cajón #5 – C/N=10**		**Cajón #8 – C/N=20**	
	L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
1	4	0.3243	6	0.6765	6	0.7074
2	4	0.3652	7	0.8177	6	0.5491
3	4	0.3693	7	0.8353	7	0.5222
4	5	0.2105	7	0.7553	7	0.5508
5	5	0.2263	7	0.7552	7	0.6138
6	5	0.2287	7	0.7569	7	0.6763
7	5	0.2925	8	0.9865	7	0.5169
8	5	0.3204	8	0.9286	7	0.7347
9	5	0.335	8	0.9928	7	0.8
10	5	0.3353	8	0.7664	7	0.5857
11	5	0.3526	8	0.7942	7	0.6243
12	5	0.3619	8	0.779	7	0.5258
13	5	0.3728	8	0.6305	8	0.4905
14	5	0.379	8	0.8476	8	0.6355
15	5	0.3875	8	0.694	8	0.68
16	5	0.3888	9	0.9885	8	0.6873
17	5	0.4023	9	0.7328	8	0.7277

18	5	0.4151	9	0.8446	8	0.7938
19	6	0.2865	9	1.0774	8	0.7815
20	6	0.3333	9	1.0443	8	0.6877
21	6	0.3384	9	1.008	8	0.7468
22	6	0.3436	9	0.8472	8	0.7776
23	6	0.3805	9	0.6733	8	0.7575
24	6	0.407	9	0.6712	8	0.6925
25	6	0.4286	9	0.7862	8	0.7375
26	6	0.4375	9	0.7236	8	0.5885
27	6	0.461	9	0.8252	8	0.5192
28	6	0.4858	9	1.0312	8	0.5948
29	6	0.5048	9	1.087	8	0.7521
30	6	0.5507	9	0.7612	8	0.7036
31	6	0.572	10	0.8378	9	0.871
32	6.5	0.4148	10	1.0928	9	0.7756
33	7	0.3554	10	0.669	9	0.6315
34	7	0.3951	10	1.0068	9	0.7896
35	7	0.505	10	0.9612	9	0.7483
36	7	0.5119	10	0.972	9	0.8113
37	8	0.3346	10	0.8216	9	0.8537
38	8	0.347	10	0.7496	9	0.6175
39	8	0.3485	10	1.0515	10	0.5758
40	8	0.4167	10	0.6758	10	0.9198
41	8	0.4482	10	0.8477	10	0.7158
42	8	0.4492	11	1.0689	10	0.7778
43	8	0.487	11	1.0538	10	0.6243
44	8	0.5338	12	0.8947	10	0.581
45	9	0.458	12	0.8275	10	0.8268
46			12	0.8788	11	0.6094
47			12	0.9055		

Anexo 4- Datos del tercer monitoreo

Tabla 45 Datos obtenidos en el tercer monitoreo de los cajones - 31 de agosto

	Cajón #2-C/N=30		**Cajón #6-C/N=10**		**Cajón #9-C/N=20**	
# lombriz	L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
Adultas						
1	12	1.173	6	0.7074	6	0.593
2	8	0.3313	6	0.7222	6	0.5828
3			7	0.7874	6	0.7682
4			7	0.6608	6	0.498

5			7	0.6446	6	0.4856
6			7	0.9636	6	0.675
7			8	1.0217	6	0.5276
8			8	0.7962	6	0.5427
9			8	0.7057	6	0.5043
10			8	0.7441	6	0.5271
11			8	0.8373	7	0.7709
12			8	1.0245	7	0.7324
13			8	0.9383	7	0.7609
14			9	0.71	7	0.7516
15			9	0.8534	7	0.7244
16			9	0.8346	7	0.7737
17			9	0.8025	7	0.6832
18			9	0.7815	7	0.516
19			9	0.9162	7	0.5426
20			9	0.966	7	0.6459
21			9	0.9446	7	0.5161
22			9	0.6797	7	0.4098
23			9	0.9976	7	0.5709
24			10	0.9145	7	0.682
25			10	1.0105	8	0.6785
26			10	0.9126	8	0.7232
27			10	0.9469	8	0.8163
28			10	1.1316	8	0.8163
29			10	0.9313	8	0.6662
30			10	0.8548	8	0.6378
31			11	1.0648	9	0.9621
32			11	0.8948	9	0.7933
33			11	0.8383	9	0.774
34			11	0.9279	9	0.6326
35			11	0.7308	9	0.5574
36			11	1.12	9	0.6405
37			12	1.0226	10	0.9588
38			12	0.9071	10	0.6521
39			12	0.934	10	0.674
40			12	0.9033	10	0.7128
41			12	0.9772	10	0.5783
42			12	1.1633	10	0.6833
43			12	0.9798	10	0.6833
44			12	0.9835	10	0.5732
45			12	0.7872	10	0.7547

46			12	1.0773	10	0.6455
47			12	0.9875	11	0.8599
48			12	1.1129	11	0.6387
49			12	1.0465	11	0.7902
50			13	0.9655	12	0.9192
Crías						
1	3	0.1012	1	0.0077	1	0.149
2			1	0.0575	2	0.1362
3			2	0.1152	2	0.1027
4			2	0.1104	3	0.2332
5			2	0.158	3	0.197
6			2	0.0408	3	0.1622
7			2	0.0077	3	0.1656
8			2	0.0704	3	0.2408
9			2	0.0729	3	0.1065
10			2	0.2312	3	0.1696
11			2	0.2284	3	0.1516
12			2	0.0729	3	0.1658
13			3	0.1613	3	0.1376
14			3	0.1163	3	0.0874
15			3	0.1894	4	0.2422
16			3	0.1586	4	0.224
17			3	0.1766	4	0.1759
18			3	0.1312	4	0.3602
19			3	0.16	4	0.2018
20			3	0.1244	4	0.135
21			3	0.1417	4	0.2167
22			3	0.1322	4	0.2151
23			3	0.2117	4	0.1961
24			3	0.2489	4	0.13
25			3	0.1409	4	0.1469
26			3	0.0218	4	0.1594
27			3	0.1236	4	0.2101
28			3	0.1133	4	0.196
29			3	0.1011	4	0.1874
30			4	0.1687	4	0.1464
31			4	0.1568	4	0.141
32			4	0.1883	4	0.16
33			4	0.19	5	0.2718
34			4	0.133	5	0.219
35			4	0.2775	5	0.18

36			4	0.1962	5	0.2571
37			4	0.225	5	0.2788
38			4	0.13	5	0.3178
39			4	0.1133	5	0.164
40			5	0.278	5	0.2033
41			5	0.2034	5	0.589
42			5	0.283	5	0.2392
43			5	0.1468	6	0.5738
44			6	0.3231	6	0.6485
45			6	0.3729	6	0.559
46			6	0.2222	6	0.2433
47			6	0.2814	6	0.3906
48			6	0.2473	7	0.4348
49			6	0.2578	7	0.4535
50			7	0.3903	8	0.3992

Anexo 5- Datos del cuarto monitoreo – Datos de peso en la recolección de la muestra en cada cajón

Tabla 46 Muestreo del cajón #1 en la recolección

Adultas		**Crías**	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.256	4	0.0485
5	0.2857	2	0.0226
5	0.1665	2	0.029
6	0.2812	2	0.02
5	0.2817	3	0.049
5	0.3662	3	0.0442
6	0.3031	2	0.0489
5	0.2081	1	0.196
5	0.15	2	0.0126
7	0.211	3	0.0174
6	0.2125	2	0.0281
5	0.238	2	0.0384
6	0.287	2	0.0143
5	0.2167	1	0.0149
6	0.4016	3	0.0346
6	0.1986	2	0.0742
7	0.3474	2	0.0492
7	0.2012	2	0.03
7	0.2366	2	0.0292
6	0.3386	2	0.0252
7	0.2127	2	0.0483
5	0.2231	2	0.0074
9	0.443	2	0.0187
6	0.1991	2	0.0542
5	0.3735	2	0.0274
6	0.217	1	0.0592
8	0.3021	2	0.0532
7	0.249	2	0.0533
8	0.2987	2	0.0074
		2	0.0128
		3	0.0442
		3	0.0286
		4	0.0367
		1	0.0271
		3	0.0583
		2	0.0405
		4	0.0704
		3	0.1109
		3	0.0994
		3	0.0745

		3	0.0171
		2	0.027
		2	0.0252
		3	0.0333
		1	0.0054
		1	0.0127
		2	0.0073
		2	0.0245
		2	0.0268
		1	0.0082

Tabla 47 Muestreo del cajón #2 en la recolección

Adultas		**Crías**	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.0734	2	0.0217
5	0.0943	1	0.0129
5	0.1301	2	0.0272
5	0.131	2	0.0064
5	0.244	2	0.0131
5	0.2394	2	0.0033
5	0.1535	2	0.025
5	0.1247	3	0.0383
5	0.1132	3	0.0375
6	0.3501	2	0.0131
5	0.1893	1	0.0107
5	0.1148	3	0.0287
5	0.1037	1	0.0032
5	0.2264	2	0.0116
5	0.2042	2	0.0167
7	0.4378	4	0.0677
5	0.1624	4	0.0576
5	0.2636	3	0.0219
5	0.2463	3	0.0214
6	0.2995	2	0.002
5	0.2291	3	0.0207
5	0.2089	2	0.0127
5	0.233	2	0.0139
5	0.137	3	0.0254
5	0.2722	3	0.0307
5	0.2542	1	0.0223
5	0.2505	1	0.0068
5	0.0925	1	0.008
5	0.3015	1	0.0086
5	0.0869	1	0.0114
5	0.246	2	0.0194
5	0.2849	2	0.0271
5	0.3007	1	0.0092
5	0.0682	1	0.0013
6	0.3256	2	0.0215
5	0.2209	1	0.0053
5	0.2514	2	0.0241
5	0.2372	2	0.031
5	0.263	1	0.0066
7	0.2942	2	0.0211
5	0.3322	2	0.029
5	0.2566	4	0.0753
5	0.2303	2	0.0258
9	0.303	1	0.016
6	0.2002	3	0.0721
6	0.2884	2	0.0282
5	0.2607	3	0.0323
5	0.1795	3	0.0603
5	0.2478	3	0.0263
5	0.2514	1	0.0073
		3	0.0376
		2	0.0316
		3	0.0462
		3	0.0428
		2	0.0421
		3	0.0552
		3	0.0628
		4	0.0785
		4	0.1042
		4	0.0776
		3	0.0572
		2	0.0567
		3	0.0583
		4	0.1165
		2	0.0423
		2	0.0583

Tabla 48 Muestreo del cajón #4 en la recolección

Adultas		Crías	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.1601	1	0.0181
6	0.1545	3	0.0618
5	0.1596	1	0.0103
8	0.3821	1	0.0134
5	0.162	3	0.0874
5	0.163	4	0.0711
6	0.3065	1	0.0098
5	0.2285	4	0.1089
6	0.2254	4	0.0815
6	0.3474	4	0.0988
5	0.1466	3	0.0663
6	0.3852	1	0.0052
7	0.3041	2	0.0182
5	0.3581	1	0.0093
6	0.2975	4	0.2277
8	0.504	4	0.1182
5	0.2634	1	0.0099
5	0.2242	4	0.149
5	0.1412	4	0.1803
5	0.115	4	0.1751
6	0.238	3	0.0953
5	0.2767	3	0.0829
7	0.3718	4	0.1578
5	0.2627	4	0.0671
7	0.434	4	0.1424
6	0.2355	4	0.1581
6	0.2139	4	0.1562
5	0.2454	4	0.1806
5	0.1672	4	0.1161
5	0.172	3	0.0845
5	0.1246	3	0.0874
8	0.4227	4	0.1048
5	0.2448	3	0.039
7	0.309	1	0.0174
5	0.1609	4	0.0962
5	0.1066	4	0.1269
5	0.1509	2	0.0183
5	0.0853	2	0.0126
6	0.241	4	0.0716
6	0.4007	1	0.0095
5	0.1688	4	0.1278
5	0.2711	4	0.1159
5	0.0947	4	0.1134
6	0.2806	4	0.0983
6	0.1402	2	0.047
5	0.1396	4	0.1248
5	0.1556	2	0.0501
6	0.2422	1	0.0148
5	0.2014	2	0.0347
5	0.1079	4	0.0777
		3	0.0835
		4	0.115
		3	0.0767
		4	0.1143
		4	0.0746
		4	0.0956
		4	0.0686
		4	0.0824
		2	0.044
		2	0.0176
		4	0.0844
		4	0.0892
		2	0.0164
		4	0.1104
		4	0.1347
		3	0.1196
		2	0.0596
		3	0.0388
		3	0.0937
		3	0.0956

Tabla 49 Muestreo del cajón #5 en la recolección

Adultas		Crías	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.2293	4	0.1681
5	0.1524	3	0.0668
5	0.2084	2	0.0316
5	0.1271	2	0.0286
5	0.193	4	0.1073
5	0.1857	1	0.0265
5	0.1993	3	0.061
5	0.1616	4	0.1589
5	0.1951	4	0.1218
6	0.2575	3	0.0516
5	0.1561	1	0.0292
5	0.196	1	0.0231
5	0.1726	3	0.0852
6	0.2065	4	0.1237
6	0.1841	4	0.1179
5	0.1686	4	0.1747
7	0.522	3	0.0498
8	0.6337	2	0.0509
9	0.7304	2	0.0382
8	0.6632	4	0.0559
7	0.4308	3	0.0466
7	0.535	4	0.1293
7	0.5022	4	0.1276
7	0.5506	4	0.1214
6	0.422	2	0.0569
6	0.4988	3	0.0802
8	0.6017	4	0.144
7	0.4236	3	0.1144
6	0.2596	4	0.1378
7	0.5234	4	0.1555
6	0.2533	4	0.1527
6	0.4402	1	0.0237
6	0.4228	2	0.0439
7	0.6168	2	0.0724
5	0.3041	3	0.0813
6	0.4862	2	0.0698
5	0.3348	1	0.0755
6	0.4175	1	0.0061
7	0.5285	1	0.0054
5	0.2634	1	0.0071
6	0.4978	1	0.0074
6	0.4464	1	0.0045
6	0.4361	1	0.003
5	0.2968	1	0.0022
6	0.4682	2	0.0091
5	0.2985	2	0.0125
6	0.4761	2	0.0246
5	0.3417	1	0.0079
5	0.3704	2	0.0234
6	0.5302	1	0.0088

Tabla 50 Muestreo del cajón #6 en la recolección

Adultas		Crías	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.1927	4	0.1824
6	0.2311	4	0.1002
7	0.4147	4	0.1752
6	0.3774	4	0.0779
6	0.3208	4	0.07
5	0.1951	4	0.1316
5	0.1925	4	0.0866
5	0.1903	4	0.1101
6	0.2493	4	0.0852
6	0.2407	1	0.0083
5	0.1568	4	0.1182
7	0.3098	4	0.1178
6	0.2108	4	0.0891
5	0.1764	4	0.0877
6	0.2835	2	0.0351
7	0.2271	4	0.0856
8	0.3511	3	0.0502
5	0.2189	3	0.0623
5	0.1959	4	0.0711
6	0.2218	3	0.057
7	0.4123	3	0.049
5	0.2015	3	0.0607
6	0.2541	3	0.0213
5	0.2079	4	0.1579
6	0.1912	3	0.063
7	0.2788	3	0.0498
7	0.2338	4	0.0688
5	0.1489	1	0.0059
5	0.1068	1	0.0032
6	0.2223	1	0.0042
6	0.1898	1	0.0013
6	0.1863	2	0.0093
6	0.2043	1	0.0009
5	0.1674	2	0.0099
5	0.1953	1	0.0083
6	0.2127	1	0.004
7	0.2286	1	0.0035
5	0.1933	1	0.0061
5	0.1572	1	0.0051
6	0.1759	2	0.0193
7	0.2688	2	0.0134
6	0.1743	2	0.0083
9	0.4544	3	0.0509
7	0.2249	1	0.009
7	0.2043	2	0.0143
6	0.1808	1	0.0055
8	0.3948	2	0.0217
8	0.3861	1	0.0052
8	0.3664	2	0.0537
7	0.2392	2	0.0421

Tabla 51 Muestreo del cajón #7 en la recolección

Adultas		Crías	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.1358	4	0.0912
5	0.1339	3	0.053
6	0.2539	4	0.0617
5	0.1381	1	0.0052
5	0.1099	1	0.0123
5	0.0993	3	0.0467
5	0.1069	3	0.0428
5	0.1399	1	0.004
6	0.1329	4	0.0593
5	0.1065	2	0.0129
8	0.3374	2	0.0191
5	0.0784	2	0.0238
10	0.4138	4	0.0964
9	0.4056	3	0.0345
6	0.1801	4	0.0472
6	0.1402	4	0.0795
7	0.2259	2	0.0229
7	0.2029	2	0.0237
8	0.3697	3	0.0451
7	0.2607	3	0.0458
8	0.3254	3	0.0448
5	0.0963	2	0.0261
7	0.2987	4	0.0747
5	0.1085	4	0.0562
5	0.1053	4	0.0805
5	0.0832	2	0.0385
7	0.3044	1	0.0157
6	0.112	4	0.0696
8	0.3172	4	0.0697
6	0.1723	4	0.0789
9	0.4162	1	0.0173
9	0.4112	2	0.031
7	0.2117	4	0.0804
6	0.1783	3	0.0582
5	0.0962	3	0.0425
5	0.1294	3	0.0607
5	0.0995	2	0.0301
6	0.1418	4	0.0747
6	0.1418	2	0.025
6	0.1503	1	0.0089
5	0.1265	2	0.0205
5	0.1272	4	0.0887
5	0.0765	3	0.0509
8	0.3099	2	0.0371
7	0.1771	3	0.0493
9	0.4124	3	0.0439
7	0.3327	4	0.047
6	0.1215	4	0.0578
7	0.3451	4	0.0582
6	0.1317	4	0.0856

Tabla 52 Muestreo del cajón #8 en la recolección

Adultas		Crías	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
7	0.3546	3	0.0493
6	0.2182	4	0.1069
5	0.1722	4	0.0886
5	0.1574	2	0.0353
6	0.1812	4	0.0716
5	0.109	3	0.0578
6	0.1887	4	0.0829
5	0.1148	4	0.0655
6	0.1598	4	0.0418
6	0.151	3	0.0346
7	0.1633	3	0.053
7	0.1689	3	0.0463
5	0.09	4	0.0436
5	0.092	4	0.0632
7	0.2938	4	0.069
7	0.2524	4	0.0788
5	0.101	2	0.0409
6	0.1558	4	0.0811
6	0.1232	2	0.0483
5	0.1033	4	0.0734
6	0.108	3	0.0413
5	0.0792	2	0.0427
10	0.505	1	0.0016
7	0.2948	1	0.0021
5	0.1036	4	0.0562
6	0.1956	4	0.0494
5	0.0736	3	0.0318
8	0.2085	4	0.054
8	0.2132	2	0.0196
5	0.1165	1	0.0085
5	0.1065	1	0.0073
7	0.1631	2	0.0217
8	0.2137	4	0.0769
6	0.1221	4	0.0767
8	0.273	3	0.0335
7	0.1913	1	0.0072
6	0.1058	4	0.0447
6	0.1302	3	0.0322
5	0.0985	3	0.0324
5	0.0507	2	0.0126
5	0.085	4	0.0472
8	0.2345	2	0.0232
7	0.1625	1	0.0056
5	0.062	4	0.0521
6	0.1128	2	0.0217
5	0.0639	1	0.0074
5	0.0676	2	0.0315
5	0.0653	3	0.0314
6	0.1147	3	0.0251
5	0.0935	2	0.0197

Tabla 53 Muestreo del cajón #9 en la recolección

Adultas		Crías	
L (cm)	W (g)	L (cm)	W (g)
5	0.0783	1	0.005
7	0.228	4	0.0552
7	0.2727	2	0.0219
6	0.1753	3	0.0469
5	0.0729	4	0.0527
6	0.0861	3	0.0475
5	0.0756	2	0.0379
7	0.1577	4	0.0578
5	0.1102	2	0.0202
6	0.0907	3	0.0338
8	0.2778	3	0.0333
8	0.3004	4	0.0384
5	0.0694	1	0.0136
5	0.0651	2	0.0179
7	0.2161	2	0.0176
8	0.2585	4	0.0409
5	0.0781	4	0.0351
5	0.1133	4	0.0492
8	0.2767	2	0.0189
8	0.2728	1	0.015
9	0.3768	2	0.0278
8	0.2844	4	0.0515
5	0.1073	4	0.0737
7	0.2433	4	0.0401
8	0.3139	1	0.0224
8	0.2387	2	0.0223
5	0.0954	1	0.0098
5	0.0541	1	0.0067
8	0.2275	1	0.009
6	0.0655	2	0.0217
5	0.0679	1	0.0073
6	0.1987	4	0.0582
5	0.058	2	0.0249
5	0.0598	3	0.039
6	0.0636	3	0.0461
5	0.0566	1	0.0107
5	0.0667	4	0.0467
5	0.0516	4	0.0509
6	0.1049	3	0.0301
5	0.0798	4	0.0432
5	0.0733	4	0.0414
7	0.2173	3	0.0437
5	0.0793	2	0.0277
5	0.0632	2	0.0359
5	0.0532	2	0.0266
5	0.0694	3	0.0323
6	0.0664	2	0.0291
7	0.2242	2	0.0299
6	0.0724	4	0.0373
6	0.0819	2	0.0326

Bibliografía

Ahmed, S. A., Kadam, J. A., Mane, V. P., Patil, S. S., & Baig, M. V. (2009). Biological efficiency and nutritional contents of pleurotus florida (Mont.) singer cultivated on different agro-wastes. *Nature and Science , 7* (1), 44-48.

APROAM. (Julio de 2008). *Asociación Agrícola Local de Productores de Aguacate de Uruapan Michoacán.* Recuperado el 15 de Marzo de 2013, de http://www.aproam.com/boletines/a55.html

Arvanitoyannis, I. S. (2008). *Waste management for the food industries.* New York: Academic Press.

Barbosa, G., & Vega, H. (2000). *Deshidratación de alimentos.* Zaragoza: Acribia.

Bello, J., García, M., & López, A. (2000). *Fundamentos de seguridad alimentaria (aspectos higiénicos y toxicológicos).* Zaragoza: Eunate.

Bodwell, C. (1975). *Evaluation of proteins for humans.* Westport: The avi publishing company.

Boulogne, S., Marquez, E., García, Y., Medina, A., & Cayot, P. (2008). Optimización de la operación de secado de la carne de lombriz (Eisenia andrei) para producir harina destinada al consumo animal. *Revista Ciencia e Ingeniería , 29* (2), 91-97.

Bourges, H., Casanueva, E., & Rosado, J. (2009). *Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana* (Vol. II). Queretaro: Panamericana.

Brown, M., & Stringer, M. (2003). *Microbiological risk assessment in food processing.* Cambridge: CRC.

Castro, A. R., Cova, L. J., García, D. E., & Medina, M. G. (2007). Efecto de la cáscara de huevo en la producción de cápsulas de la lombriz roja (Eisenia andrei). *Zootecnia aplicada , 2* (25), 135-142.

Cheftel, J.-C., Cuq, J.-L., & Lorient, D. (1989). *Proteínas alimentarias.* Zaragoza: Acribia.

Cluzeau, D., Fayolle, L., & Hubert, M. (1992). The adaptation value of reproductive strategy and mode in three epigeous earthworm species. *Soil Biology Biochemistry , 24* (12), 1309-1315.

Colina, M. L. (2010). *Deshidratación de alimentos.* México: Trillas.

Compagnoni, L., & Putzolu, G. (2001). *Cría moderna de las lombrices y utilización rentable del humus.* Barcelona, España: Editorial Vecchi.

Cova, L. J., García, D. E., Scorza, J. V., Medina, M. G., Clavero, T., Perea, F., y otros. (2009). Efecto de la estrategia de conservación en la calidad nutritiva de la harina de la lombríz roja (Eisenia spp.) a mediano plazo. *Revista de la Facultad de Agronomía* (26), 107-128.

Curry, J. P., & Schmidt, O. (2007). The feeding ecology of earthworms - A review. *Pedobiologia* (50), 463-477.

Domínguez, J., Aira, M., & Gómez, B. M. (2009). El papel de las lombrices de tierra en la descomposición de la materia orgánica y el ciclo de nutrientes. *revista científica y técnica de ecología y medio ambiente , 18* (2), 20-31.

Durán, L., & Henríquez, C. (2009). Crecimiento y reproducción de la lombriz roja (Eisenia foetida) en cinco sustratos orgánicos. *Agronomía Costarricense , 2* (33), 275-281.

Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Sherman, R. (2010). *Vermiculture Technlogy: Earthworms, organic wastes and environmental management.* Florida: CRC.

Elias, X. (2009). *Reciclaje de residuos industriales: residuos sólidos urbanos y fangos de depuradora.* Madrid: Diaz de santos.

FAO. (Junio de 2006). *FAO.org.* Recuperado el 22 de Febrero de 2013, de ftp://ftp.fao.org/es/ESA/policybriefs/pb_02_es.pdf

Fennema, O. (1993). *Química de los alimentos.* Zaragoza: Acribia.

Fernández, M. J., Romero, E., & Nogales, R. (2010). Feasibility of vermicomposting for vegetable greenhouse waste recycling. *Bioresource Technology* (101), 9654-9660.

Ferruzi, C. (1988). *Manual de lombricultura.* Madrid: Mundi-Prensa.

Flack, F. M., & Hartenstein, R. (1984). Growth of the earthworm Eisenia Foetida on microorganisms and cellulose. *Soil biology biochemistry , 16* (5), 491-495.

Frederickson, J., Butt, K. R., Morris, R. M., & Daniel, C. (1997). Combining vermiculture with traditional green waste composting systems. *Soil biology biochemistry , 29* (3/4), 725-730.

Gabetta, J. (2004a). *Cría casera de lombrices: Manual práctico para su aprovechamiento ecológico.* Buenos Aires: Ediciones Continente S.R.L.

Gabetta, J. (2004b). *Lombricultura rentable.* Buenos Aires: Ediciones Continente S.R.L.

García, I. (2008). *Alimentos seguros.* Madrid: Diaz de Santos.

García, M. D., Oruña, L., Dominguez, H., & Martinez, V. (2005b). Evaluación de la calidad proteica de harina de lombriz (Eisenia foetida) en ratas en crecimiento. *Revista cubana de ciencia Agrícola , 39* (3), 333-338.

García, M., Solano, V., Perdomo, F., & Palomino, S. (2005a). *Cría de la lombriz de tierra.* San Pablo.

Garg, V. K., Suthar, S., & Yadav, A. (2012). Management of food insdustry waste employing vermicomposting technology. *Bioresource Technology , 126*, 437-443.

Gómez, M. (2011). Efecto de las lombrices de tierra en la estructura y función de las comunidades microbianas en el proceso de descomposición de la materia orgánica. *Ecosistemas , 20* (1), 155-162.

Google. (2009). Google Earth. Cuautitlán Izcalli.

Granie'sworms. (2013). *Lombricultura*. Recuperado el 13 de 05 de 2013, de http://graniesworms.s5.com/about.html

Gunadi, B., & Edwards, C. A. (2003). The effects of multiple applications of different organic wastes on the growth fecundity and survival of Eisenia fetida (Savigny)(Lumbricidae). *Pedobiologia* (47), 321-329.

Gutiérrez, B., & Herrera, N. (2001). *La ingeniería ambiental en México.* Distrito Federal: Limusa.

Hart, F. L., & Johnstone, H. (1991). *Análisis Moderno de los Alimentos* (2da reimpresión ed.). Zaragoza: Acribia.

Hernández, J. A. (2013). *Lumbricultura en zonas cálidas*. Recuperado el 25 de Febrero de 2013, de http://lumbricultura.blogspot.mx/p/evaluacion-sensorial-de-galletas.html

Ibarz, A. (2005). *Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos.* Barcelona: Mundi-Prensa.

International, A. (2006). *Guidelines for laboratories performing microbiological and chemical analyses of food and pharmaceuticals : an aid to interpretetion of ISO/IEC 17025.* Maryland: AOAC International.

Mataix, J. (2009). *Tratado de Nutrición y Alimentación.* Barcelona: Oceano.

Montgomery, D. (2012). *Diseño y análisis de experimentos.* Distrito Federal: Limusa Wiley.

Morata, A. (2010). *Nuevas tecnologías de conservación de alimentos.* Madrid: Cimapress.

Moreno, J., & Moral, R. (2008). *Compostaje.* Madrid: Mundi-Prensa.

Morón, O. E., Diaz, D., Pietrosemoli, S., Barrera, R., Gallardo, N., Peña, J., y otros. (2008). Efecto de la inclusión de harina de lombriz sobre el rendimiento en canal, en cortes y calidad fisico-química de la carne de codorniz (coturnix coturnix japonica). *Revista de la Facultad de Agronomia* (25), 674-685.

Ochoa, I., & Rivas, I. M. (2005). Manual de análisis para frutas, hortalizas y productos derivados: Revisión bibliográfica. 179. Cuautitlán Izcalli, México, México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.

Parnaudeau, V., Nicolardot, B., Robert, P., Alavoine, G., Pagés, J., & Duchiron, F. (2006). Organic matter characteristics of food processing industry wastewaters affecting their C and N mineralization in soil incubation. *Bioresource technology* (97), 1284-1295.

Promin-Suplementos e Insumos. (2013). Recuperado el 25 de Febrero de 2013, de http://www.promin.com.br/promin/?page_id=94

Sales, F. (1996). Harina de lombriz, alternativa en trópico y tipos de alimento. *Folia Amazonica , 8* (2), 77-90.

Sánchez, E., Faria, A., Hernández, J., Pietrosemoli, S., Ballesteros, A., Canelón, R., y otros. (Octubre de 2005). *Evaluación sensorial de galletas enriquecidas con harina de lombrices (Eisenia andrei), obtenidas en diversos sustratos alimenticios.* Recuperado el 20 de Febrero de 2013, de http://lumbricultura.blogspot.mx/p/evaluacion-sensorial-de-galletas.html

Schuldt, M. (2006). *Lombricultura: teoría y práctica.* Madrid: Ediciones mundi-prensa.

Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. (2007). NMX-FF-109-SCFI. Humus de lombriz (lombricomposta) - Especificaciones y métodos de prueba.

Secretaría de Salud. (1994). *NOM-110-SSA1-1994.* Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de aimentos para su análisis microbiológico.

Secretaría de Salud. (1994). *NOM-111-SSA1-1994.* Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Secretaría de Salud. (1994). *NOM-113-SSA1-1994.* Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

Secretaría de Salud. (2008). *NOM-247-SSA1-2008.* Productos y servicios. Cereales y sus productos. Cereales, harinasdecereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de: cereales, semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales.

SEMARNAT. (2000). Recuperado el 03 de 09 de 2012, de http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/3335/1/nom-021-semarnat-2000.pdf

SEMARNAT. (2005). Recuperado el 21 de Abril de 2012, de http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_resumen/08_residuos/cap8.html

SEMARNAT. (2010). Recuperado el 21 de Abril de 2012, de http://aplicaciones.semarnat.gob.mx/estadisticas/compendio2010/archivos/01_rsu/d3_RSM01_03.pdf

SEMARNAT. (2001). *Guía para la gestión integral de los residuos solidos municipales.* Distrito Federal: P7 Ediciones .

Serna, L. R., & Lopez, S. (2010). *Actualización del manual del laboratorio de análisis de alimentos del programa de tecnología química de la Universidad Tecnológica de Pereira*. Recuperado el 09 de 01 de 2013, de http://repositorio.utp.edu.co/dspace/handle/11059/1824

Sharma, V., Canditelli, M., Fortuna, F., & Cornacchia, G. (1997). Processing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting: review. *Energy conversion and management , 38* (5), 453-478.

Smulders, F. J., & Collins, J. (2004). *Food safety assurance and veterinary pubilc health-Safety assurance during food processing.* (Vol. 2). Wageningen: Wageningen Academin Publishers.

Soriano, J. M. (2006). *Nutrición Básica Humana.* Madrid: Publicaciones de la Universidad de Valencia.

Soriano, M., & Pons, V. (2001). *Prácticas de Edafología y Climatología.* Valencia: Universidad Politecnica de Valencia.

Stoffella, P., & Kahn, B. (2005). *Utilización de compost en los sistemas de cultivo hortícola.* Barcelona: Mundi-Prensa.

Suthar, S. (2009). Vermicomposting of vegetable-market solid waste using eisenia fetida: Impact of bulking material on earthworm growth and decomposition rate. *Ecological Engineering* (35), 914-920.

The Weather Channel. (1995-2012). *The Weather Channel*. Recuperado el 25 de Marzo de 2012, de http://www.weather.com: http://www.weather.com/weather/monthly/MXMO0875?month=1

Toccalino, P. A., Roux, J. P., & Agüero, C. M. (2001). *Comportamiento reproductivo de Eisenia foetida (Lombriz roja de california) durante las cuatro estaciones del año y alimentadas con distintos compostajes.* Recuperado el 17 de 02 de 2013, de http://www1.unne.edu.ar/cyt/2001/4-Veterinarias/V-040.pdf

Unda, F. (1994). *Ingeniería sanitaria aplicada a saneamiento y salud pública.* D.F.: Noriega.

Viayra, M. (2005). *www.cronica.com.mx*. Recuperado el 20 de 03 de 2013, de http://www.cronica.com.mx/notas/2005/162574.html

Vielma, R., Ovalles, J., León, A., & Medina, A. (2003). Valor nutririvo de la harina de lombriz (Eisenia foetida) como fuente de aminoácidos y su estimación cuantitativa mediante cromatográfia en fase reversa (HPLC) y derivatización precolumna con o-ftalaldehído (OPA). *Ars Pharmaceutica , 44* (1), 43-58.

Vielma, R., Rosales, R., Rosales, D., Medina, Y., & Villarreal, A. (2008). Perfil electroforético y calidad microbiológica de la harina de lombriz Eisenia fetida. *Revista Chilena de Nutrición , 35* (3), 225-234.