

EVALUACIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE SUBPRODUCTOS
PISCÍCOLAS CONCENTRADA POR SEPARACIÓN MECÁNICA PARA LA
ELABORACIÓN DE DIETAS EXTRUIDAS PARA TILAPIA



DANNY STEVEN LEON TREJO
WITMAN DAVID RINCON HERNANDEZ

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
PROGRAMA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

POPAYÁN
2023

EVALUACION DE PROTEÍNA HIDROLIZADA DE SUBPRODUCTOS PISCÍCOLAS
CONCENTRADA POR SEPARACIÓN MECÁNICA PARA LA ELABORACIÓN DE
DIETAS EXTRUIDAS PARA TILAPIA



DANNY STEVEN LEON TREJO
WITMAN DAVID RINCON
HERNANDEZ

Trabajo de grado en la modalidad de investigación, para optar al título de ingeniero
Agroindustrial.

Directores:

Ph.D. José Luis Hoyos Concha
Ph.D. Crispulo Perea Román

Codirectora:

Ing. Mg. (Est.) Yerika Jeslanny Morales Bravo

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL


POPAYÁN
2023

Nota de aceptación

Los directores y Jurados han leído este documento, escucharon la sustentación del mismo por sus autores y lo encuentran satisfactorio.

Ph.D., José Luis Hoyos Concha
Director

Ph.D., Crispulo Perea Román
Director



Ing. Mg. (Est.) Yerika Jeslanny
Morales Bravo
Codirectora

Ph.D., Juliana Carvajal Tapia
Presidente del jurado

Mg. Elizabeth Rojas Fernández
Jurado

Popayán, 07 de julio 2023

DEDICATORIA

Dedico este gran logro a Dios por la vida y por sus bendiciones recibidas durante el transcurso de mi formación. Con todo el cariño, se lo dedico a mis padres, quienes me dieron la vida y con tanto esfuerzo me apoyaron y creyeron en que sí podría ser un gran profesional, dejándome la mejor de las herencias a pesar de que pasamos por momentos difíciles. También agradezco a mis hermanos, quienes siempre estuvieron pendientes y me brindaron su apoyo incondicional.

Danny Steven León Trejo

A mi familia, que es uno de los pilares más importantes en mi vida, por su confianza y deseo de que mejore constantemente. En especial, a mis padres Saul Rincón y Ludivia Hernández por su constante apoyo; a mi abuela Carmen Arciniegas por el cuidado y cariño brindado durante lo que llevo de existencia. Además, en memoria de mi tía Lucy Hernández y mi hermano Arles Rincón, quienes me dejaron experiencias y enseñanzas para la vida.

Witman David Rincón

AGRADECIMIENTOS

Agradezco infinitamente a Dios por la vida. Agradezco a la Universidad del Cauca, a los directores de tesis y a los docentes por su paciencia y constancia a lo largo de este proceso, formando una parte importante de esta historia con sus aportes profesionales y orientaciones. También agradezco a mis padres y familiares, quienes siempre han sido el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, estando a mi lado en los días más difíciles. Por último, quiero agradecer a mis compañeros por su apoyo y constancia, así como por compartir muchas horas de estudio a mi lado.

Danny Steven León Trejo.

Quiero agradecer a todas las personas que hicieron parte de este proceso: profesores y profesoras que aportaron su conocimiento y experiencias, directores de tesis y mis compañeros, con quienes estuvimos acompañándonos y compartiendo diferentes momentos en busca de un sueño. Agradezco a mi familia, que siempre está junto a mí a lo largo de cada proceso que emprendo. Por último, quiero expresar mi gratitud a la Universidad del Cauca y a la Facultad de Ciencias Agrarias por brindar las oportunidades para un buen aprendizaje.

Witman David Rincón.

GLOSARIO

Análisis proximal: Es un método químico de análisis cuantitativo que separa, identifica y cuantifica las principales categorías de compuestos en una mezcla.

Centrifugación: Es una técnica de separación que se emplea para aislar o concentrar partículas suspendidas en un líquido, aprovechando las distintas velocidades de desplazamiento debido a su forma, tamaño o peso al ser sometidas a una fuerza centrífuga

Extrusión: Técnica o proceso de cocción bajo condiciones controladas en el que se producen cambios en la estructura de los alimentos.

Hidrólisis proteica: Consiste en la ruptura química o enzimática de moléculas de proteína en péptidos de diversos tamaños y aminoácidos.

Pellet: Alimento balanceado aglomerado en gránulos compactos, elaborado a través del proceso de extrusión.

PHC: Proteína hidrolizada concentrada.

Vísceras: Son los órganos internos de las cavidades principales de los animales

RESUMEN

La piscicultura es un sector de gran importancia a nivel nacional debido a que la alimentación de los peces es un factor crítico, tanto desde el punto de vista nutricional como de la calidad físico-mecánica de los pellets. En este contexto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de Proteína Hidrolizada Concentrada (PHC) de vísceras de trucha en los parámetros físico-mecánicos de los pellets obtenidos para las dietas extruidas de Tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en la fase de engorde.

Para ello, se obtuvieron hidrolizados de vísceras de trucha con un grado de hidrólisis de 50-55%, los cuales se caracterizaron química, microbiológica y nutricionalmente. Posteriormente, se concentró la proteína mediante separación mecánica para disminuir la humedad y el contenido de extracto etéreo, con el fin de incorporarla en las dietas para la Tilapia. Esto permitió reducir los costos de alimentación hasta en un 24%. Finalmente, se aplicó un proceso de extrusión a los cinco tratamientos: una dieta control sin inclusión de proteína hidrolizada concentrada y cuatro dietas con diferentes niveles de inclusión para reemplazar el 25, 50, 75 y 100% de la harina de pescado.

El análisis se realizó mediante un diseño completamente al azar (DCA) y se llevó a cabo a través de un análisis de varianza ($p < 0,05$). Las medias se compararon mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha < 0,05$. Los tratamientos presentaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en los parámetros físicos de flotabilidad, índice de absorción de agua, durabilidad y en los parámetros mecánicos de dureza. En conclusión, la PHC demostró ser un sustituto parcial viable de la harina de pescado, ya que presentó características aceptables en los pellets extruidos.

Palabras clave: Proteína hidrolizada concentrada, Tilapia, parámetros físico-mecánicos, separación mecánica, harina de pescado, flotabilidad, índice de absorción, durabilidad, dureza.

ABSTRACT

Fish farming is a sector of great importance at the national level, so feed is a factor that must be taken into account both nutritionally and in the physical-mechanical quality of the pellets, therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of the inclusion of hydrolyzed protein concentrate (PHC) of trout viscera in physical- mechanical parameters of the pellet obtained for extruded diets of red Tilapia (*Oreochromis spp.*) in fattening phase, for this purpose, trout viscera hydrolysates were obtained with a degree of hydrolysis of 50-55%, which were characterized chemically, microbiologically and nutritionally, then the protein was concentrated by mechanical separation, in order to reduce the moisture and the content of ethereal extract, to be included in the diets for Tilapia, Finally, an extrusion process was carried out for the 5 treatments, a control diet without inclusion of concentrated hydrolyzed protein and four diets with inclusion of hydrolyzed protein for the substitution or replacement of 25, 50, 75 and 100% of the fish meal. A completely randomized design (CRD) was used for the analysis and was performed by applying an analysis of variance ($p < 0.05$). Means were compared using Tukey's test, with a value of ($\alpha < 0.05$). The treatments presented significant differences ($p \leq 0.05$) in the physical parameters of buoyancy, water absorption index, durability and in mechanical parameters of hardness. In conclusion, PHC serves as a partial substitute for fish meal by presenting acceptable characteristics in extruded pellets.

Keywords: Hydrolyzed protein concentrate, Tilapia, physico-mechanical parameters, mechanical separation, fish meal, buoyancy, absorption index, durability, hardness.

Contenido

INTRODUCCION	14
1. MARCO REFERENCIAL	16
1.1 MARCO TEÓRICO	16
1.1.1 Estado mundial y nacional de la acuicultura y piscicultura.	16
1.1.2 Generalidades de la Tilapia.	18
1.1.3 Alternativas de alimentación para tilapia.	19
1.1.4 Técnicas de separación mecánica para la concentración de la proteína hidrolizada.	20
1.1.5 Digestibilidad <i>in vitro</i> como técnica para valorar la calidad nutricional de fuentes alimenticias en animales.	22
1.1.6 Proceso de extrusión para la obtención de alimento para peces.	22
1.1.7 Calidad físico-mecánica de los pellets extrudidos.	23
1.2 MARCO HISTÓRICO	25
1.2.1 Antecedentes.	25
2. METODOLOGÍA.....	28
2.1 LOCALIZACIÓN	28
2.2 MATERIAL BIOLÓGICO	28
2.3 HIDROLIZADO DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCOÍRIS	29
2.3.1 Seguimiento al proceso de hidrólisis proteica endógena de las vísceras de trucha.	29
2.3.2 Caracterización nutricional de los hidrolizados proteicos de vísceras de trucha obtenido.	35
2.4 OBTENCIÓN DE PROTEÍNA CONCENTRADA A PARTIR DE HIDROLIZADO VÍSCERAS DE TRUCHA MEDIANTE PROCESOS DE SEPARACIÓN MECÁNICA	37
2.4.1 Determinación de proteína total y grasa total.	38
2.4.2 Determinación de proteína soluble.	40
2.2.4 Determinación de la digestibilidad <i>in vitro</i> de la materia seca (divms) de la proteína hidrolizada concentrada.	41
2.5 EXTRUSIÓN DE DIETAS CON INCLUSIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA CONCENTRADA.	43
2.5.1 Formulación y mezclado para la preparación de dietas con inclusión de	

proteína hidrolizada concentrada.....	43
2.5.2 Extrusión de las dietas.	46
2.5.3 Evaluación de las características físico-mecánicas para determinar el efecto de la inclusión de proteína hidrolizada en el proceso de extrusión.	47
2.5.4 Diseño experimental y análisis estadístico de la inclusión de proteína hidrolizada concentrada en la extrusión de dietas para tilapia.	50
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
3.1 Caracterización química, microbiológica y nutricionalmente la proteína hidrolizada de vísceras de trucha.	52
3.1.1 pH y acidez titulable.	52
3.1.2 Grado de hidrólisis.....	53
3.1.3 Consistencia.	55
3.1.4 Perfil microbiológico.	56
3.1.5 Nitrógeno básico volátil total (NBVT).....	56
3.2 Caracterización nutricional del hidrolizado entero de vísceras de trucha.	56
3.3 Proteína hidrolizada concentrada por separación mecánica.	59
3.3.1 Obtención de proteína hidrolizada concentrada.....	59
3.3.2 Caracterización de la proteína hidrolizada concentrada.	60
3.4 Efecto de la inclusión de la proteína hidrolizada de vísceras de trucha concentrada por separación mecánica en la extrusión de dietas para tilapia.	62
3.4.1 Costo de la elaboración de las dietas.....	62
3.4.2 Proceso de extrusión de las dietas para tilapia.	63
3.4.3 Evaluación de las características físico-mecánicas para determinar el efecto de la inclusión de proteína hidrolizada en el proceso de extrusión.	64
3.4.4 Comparación físico-mecánica entre el tratamiento 4 y alimento comercial.	68
4. CONCLUSIONES	70
5. RECOMENDACIONES.....	71
BIBLIOGRAFIA	72
ANEXOS	85

LISTA DE CUADROS

Tabla 1. Requerimientos nutricionales de Tilapia en fase de engorde	19
Tabla 2. Formulación de las dietas.....	44
Tabla 3. Análisis proximal del hidrolizado entero con grado de hidrólisis de 50-55%. ...	57
Tabla 4. Valores del proceso de separación mecánica.	59
Tabla 5. Caracterización de la proteína hidrolizada concentrada	60
Tabla 6. Costos de las dietas con inclusión de proteína hidrolizada concentrada.	62
Tabla 7. Resultados de las propiedades físicas y mecánicas de los pellets extruidos	64
Tabla 8. Resultados de las pruebas físico-mecánicas del T4 vs comercial.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Preparación del hidrolizado de vísceras de trucha	29
Figura 2. Medición del pH	30
Figura 3. Medición del grado de hidrólisis.....	31
Figura 4. Titulación con NaOH 0,1 N	32
Figura 5. Medición de consistencia	32
Figura 6. Determinación del nitrógeno volátil.....	33
Figura 7. Perfil microbiológico.	34
Figura 8. Tamizado y estabilizado del hidrolizado.	35
Figura 9. Análisis proximal del hidrolizado de vísceras de trucha.....	37
Figura 10. Obtención de proteína hidrolizada concentrada	38
Figura 11. Grasa total de la proteína hidrolizada concentra.....	39
Figura 12. Proteína total de la proteína hidrolizada concentrada.....	39
Figura 13. Proteína soluble de la proteína hidrolizada concentrada.	40
Figura 14. Nitrógeno volátil de la proteína hidrolizada concentrada	41
Figura 15. Proceso de digestibilidad in vitro de la PHC.....	42
Figura 16. Preparación de las dietas	45
Figura 17. Extrusión de las dietas para tilapia con la inclusión de proteína hidrolizada concentrada.....	46
Figura 18. Prueba de compresión de los pellets.....	47
Figura 19. Medición de la durabilidad de los pellets.	48
Figura 20. Flotabilidad de los pellets.	49
Figura 21. Medición de la absorción de agua de los pellets.....	50
Figura 22. pH y acidez titulable en el hidrolizado.	53
Figura 23. Porcentaje del grado de hidrólisis con respecto al tiempo.....	54
Figura 24. Consistencia del hidrolizado en relación con el tiempo.	55

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Análisis de varianza y Test de Tukey para flotabilidad	85
Anexo B. Análisis de varianza y Test de Tukey para Índice de absorción de agua(IAA).	86
Anexo C. Análisis de varianza y Test de Tukey para la prueba de durabilidad	87
Anexo D. Análisis de varianza y Test de Tukey para la prueba compresión.	88
Anexo E. Análisis de varianza y Test de Tukey para flotabilidad del tratamiento adicional.....	89
Anexo F. Análisis de varianza y Test de Tukey para índice de absorción de agua(IAA) del tratamiento adicional.	90
Anexo G. Análisis de varianza y Test de Tukey para durabilidad del tratamiento adicional.....	91
Anexo H. Análisis de varianza y Test de Tukey para compresión del tratamiento adicional.....	92

INTRODUCCION

Dentro de los sectores más importantes a nivel mundial se encuentra la agroindustria pesquera, la cual contribuye a la economía de varios países mediante la generación de empleo, ingresos y seguridad alimentaria. Actualmente, la producción mundial piscícola ha alcanzado un valor de 178 millones de toneladas, de las cuales el 89% se destina al consumo humano, siendo esta una proteína animal de alta calidad, mientras que el 11% restante se destina a usos no alimentarios, principalmente la producción de harina y aceite de pescado (FAO, 2022).

En Colombia, la pesca y la acuicultura se han convertido en un renglón importante para el desarrollo económico del país, con una producción de 179.351 toneladas. El departamento del Cauca aporta el 2% de esta producción nacional, es decir, 2.686 toneladas, siendo la tilapia una de las especies con mayor producción en Colombia (MADR, 2021).

Sin embargo, el sector piscícola enfrenta algunas limitaciones, como la baja disponibilidad y los altos costos de las materias primas proteicas de origen animal, como la harina de pescado, carne y soya, que se utilizan en la elaboración de dietas balanceadas para la tilapia. Esto resulta en una baja rentabilidad y productividad del sector (Alzate, 2018), ya que la alimentación representa entre el 50% y el 70% de los costos totales (Perea et al., 2021).

Por otro lado, la producción de trucha es un sector de alta importancia en el departamento del Cauca, con un crecimiento significativo y un papel crucial en la generación de empleos directos e indirectos en zonas rurales (MADR, 2021). Sin embargo, esta producción genera 750 toneladas de vísceras, las cuales se disponen de manera inadecuada, ocasionando problemas ambientales y de salud pública (Zapata et al., 2019; Feriz et al., 2018; Perea et al., 2017). Estas vísceras poseen un alto valor nutricional que podría ser aprovechado mediante procesos de bioconversión para la

extracción de sus componentes, aplicables en diversas industrias (CIGEPI, 2018). Por ende, técnicas de separación mediante operaciones mecánicas podrían aumentar los niveles de inclusión y reemplazar la harina de pescado por proteína hidrolizada de vísceras de trucha en dietas para tilapia, como una alternativa de alta calidad nutricional (Zapata & Castañeda, 2017).

Los alimentos destinados a peces, especialmente la Tilapia roja (*Oreochromis spp.*), deben contar con características físicas adecuadas, como durabilidad, dureza y flotabilidad controlada. Estos aspectos son cruciales para la alimentación, ya que evitan la abrasión y fragmentación del pellet, elementos esenciales para un sistema de alimentación efectivo (Yashni et al., 2020).

Por lo tanto, esta investigación se llevó a cabo con el propósito de evaluar la proteína hidrolizada concentrada de vísceras de trucha arcoíris, con el fin de incluirla o reemplazar completamente la harina de pescado en la alimentación de tilapia. El objetivo era determinar las propiedades físico-mecánicas del pellet obtenido, buscando lograr una mayor rentabilidad en la piscicultura y reducir los costos de alimentación. En esta investigación, se caracterizó la proteína hidrolizada concentrada de vísceras de trucha en términos químicos, microbiológicos y nutricionales. Luego, se evaluó el efecto de incluir la proteína hidrolizada de vísceras de trucha concentrada, obtenida mediante separación mecánica, en la extrusión de dietas como alternativa alimenticia para la tilapia.

1. MARCO REFERENCIAL

1.1 MARCO TEÓRICO

1.1.1 Estado mundial y nacional de la acuicultura y piscicultura.

A continuación, se muestra la evolución tanto a nivel mundial como nacional de la producción acuícola y piscícola.

Estado mundial. La acuicultura es un sector económico desarrollado tanto por los agricultores de los países en desarrollo como por las empresas multinacionales. Existen alrededor de 580 especies acuáticas que se producen en todo el mundo en la actualidad. Por esta razón, la producción mundial pesquera y acuícola alcanzó un récord histórico en el año 2020 con un total de 214 millones de toneladas. Esta cifra se divide en 178 millones de toneladas de animales acuáticos, principalmente para uso humano, y 36 millones de toneladas de algas acuáticas, resultado en gran parte del crecimiento de la acuicultura, especialmente en Asia.

En específico, la producción mundial de peces con aleta alcanzó los 49.120 millones de toneladas. La Carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idellus*) se destacó como la especie con mayor producción, contribuyendo con un 11,8%. Le siguieron la Carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) con un 10%, la Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con un 9%, y la Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) con una participación del 1,5% del total producido (FAO, 2022).

La producción total de pescado destinado al consumo humano alcanzó los 157,4 millones de toneladas, y de esta cantidad, la acuicultura contribuyó con el 55,6% (87,5 millones de toneladas). En los últimos decenios, la producción mundial ha experimentado aumentos notables tanto en la pesca de captura como en la

acuicultura en diversos continentes. Para el año 2020, Asia lideró con una contribución del 70%, seguida de las Américas con un 12%. El continente europeo participó con un 10%, África contribuyó con un 7%, y finalmente Oceanía aportó el 1% (FAO, 2022).

Estado nacional. En Colombia, durante el primer trimestre del año 2021, la producción de carne de pescado y camarón alcanzó las 41.356 toneladas. De esta cantidad, 4.308 toneladas fueron exportadas, incluyendo tilapia, trucha y camarón. Esto contribuyó a que la acuicultura representara el 0,3% del PIB Nacional y el 3,3% del PIB Agropecuario. Para lograr esta producción, el país cuenta con 36.268 unidades productivas y 16 plantas de procesamiento certificadas. Estas operaciones generaron 53.805 empleos directos y 161.416 empleos indirectos.

El aumento en la producción acuícola ha sido significativo en los últimos años. Entre 2011 y 2020, la producción aumentó en un 216%, pasando de 82.622 toneladas a 179.351 toneladas. El departamento del Huila lideró la producción piscícola a nivel nacional, representando el 39% del total, seguido por Meta con el 11%, Tolima con el 9%, Cundinamarca–Boyacá con el 6%, Antioquia con el 4% y Córdoba con el 3%. El Cauca participa con el 2% de la producción nacional.

Esta producción diversificada abarca diversas especies. La Tilapia es la más producida, representando el 58% del total, seguida de la cachama con el 19% y la trucha con el 16%. El restante 7% pertenece a otras especies. Gracias a esta variedad, el consumo per cápita de productos acuícolas ha aumentado en los últimos años, llegando a 8,8 Kg en el año 2020 (MADR, 2021).

1.1.2 Generalidades de la Tilapia.

A continuación, se exponen aspectos fundamentales sobre la Tilapia, incluyendo su clasificación taxonómica y su alimentación.

Características generales la Tilapia. La Tilapia es una especie adecuada para la producción en zonas tropicales y subtropicales, donde la temperatura del agua fluctúa entre 24°C y 32°C. Gracias a su naturaleza híbrida, se adapta con gran facilidad a ambientes lénticos como estanques, lagunas, reservorios y en general a medios confinados. Además, presenta ventajas sobre otras especies debido a su rápido crecimiento, adaptabilidad al entorno, resistencia a enfermedades, excelente textura y coloración de la carne, lo que la hace altamente apreciada en el mercado.

La Tilapia es un pez teleósteo del orden Perciforme, perteneciente a la familia Cichlidae. Originaria de África, habita la mayoría de las regiones tropicales del mundo donde las condiciones son propicias para su reproducción y crecimiento (Calderón, 2018). Además, se trata de un pez omnívoro que puede ser alimentado durante sus distintas etapas con concentrados balanceados que contienen entre un 24% y un 34% de proteína, de 3% a 7% de grasas y de 4% a 7% de fibra, junto con aditivos de minerales y vitaminas. La cantidad suministrada debe adecuarse al peso y/o tamaño del pez (Torres *et al.*, 2012).

Requerimiento nutricional de la Tilapia en fase de engorde. Los requerimientos nutricionales de la Tilapia en fase de engorde se presentan en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1. Requerimientos nutricionales de Tilapia en fase de engorde

Nutriente	Fase de engorde
Proteína	24-26%
Fibra cruda	4-8%
Lípidos	6-12%
Minerales	Ca 1,2-2%;
	P 0,9-1,5%
Aminoácidos	Lisina 1,5%;
	Metionina 0,75%

Fuente: Perea, 2016; Torres *et al.*, 2012 & Vásquez, 2004.

1.1.3 Alternativas de alimentación para tilapia.

En Colombia, además de la harina de pescado, se emplean otras alternativas como fuentes de proteína animal, tales como las harinas de carne, hueso y sangre, y como fuentes vegetales, las más utilizadas son la harina de trigo, maíz y sorgo, además de la torta de soya y algodón. Una opción válida también es el aprovechamiento de subproductos agroindustriales, incluyendo aquellos provenientes de las industrias piscícolas.

Hidrolizados a partir de vísceras para alimentación animal. Los hidrolizados se producen a partir de las vísceras de animales, los cuales son considerados materiales crudos de baja calidad. Debido a la falta de un buen aprovechamiento, estos causan problemas medioambientales, de salud y económicos (Perea *et al.*, 2017). Los hidrolizados se obtienen mediante la acción de enzimas, que pueden ser propias de los animales o comerciales (Zapata & Castañeda, 2017). Para permitir la acción de las enzimas, es necesario añadir un ácido orgánico que disminuya el pH a valores

aceptables para prevenir la descomposición causada por la degradación del sustrato (Montero, 2021).

Los hidrolizados de vísceras se han convertido en una excelente opción para agregar valor a los residuos sólidos, encontrando aplicaciones en la alimentación animal (Perea et al., 2022). Se han llevado a cabo estudios que reportan su uso en dietas para bovinos, aves y peces. Pueden ser empleados como suplementos proteicos y energéticos, lo cual conlleva ventajas significativas para la producción animal. Esta utilización estimula una asociación simbiótica donde, por un lado, se obtiene una fuente proteica y energética de alta calidad y, por otro, se resuelve un problema de disposición de residuos orgánicos (Montero, 2021).

1.1.4 Técnicas de separación mecánica para la concentración de la proteína hidrolizada.

La separación mecánica puede aplicarse en mezclas heterogéneas. Estas técnicas se fundamentan en diferencias físicas entre las partículas, como el tamaño, la forma o la densidad. Son empleadas para separar líquidos de líquidos, sólidos de gases, líquidos de gases, sólidos de sólidos y sólidos de líquidos (Ollero, 2020).

Separador centrífugo. La centrifugación es un método mediante el cual es posible separar sólidos de líquidos con diferentes densidades, aprovechando una fuerza centrífuga. La fuerza centrífuga es proporcionada por una máquina llamada centrifugadora, la cual aplica un movimiento de rotación a la mezcla, generando una fuerza que induce la sedimentación de los sólidos o partículas de mayor densidad. Los componentes más densos de la mezcla se desplazan hacia afuera del eje de rotación de la centrífuga, mientras que los componentes menos densos se dirigen hacia el eje de rotación (Valdéz, 2019).

La fuerza centrífuga se genera dentro del equipo mediante la introducción de un fluido

con alta velocidad tangencial en una cámara cilindro-cónica, formando un vórtice de considerable intensidad. Al hacer girar un cilindro a alta velocidad, se induce un esfuerzo de tensión considerable en su pared. Esto limita la fuerza centrífuga que se puede generar en una unidad de tamaño y material de construcción dados. La base física de la separación es la acción de la fuerza sobre las partículas en rotación, la cual aumenta con el radio del campo rotacional y con la velocidad de rotación. La velocidad de sedimentación se determina por la densidad de las partículas. Las partículas densas sedimentan primero, seguidas de las partículas más ligeras. Las partículas muy ligeras pueden incluso permanecer en suspensión (Castelló *et al.*, 2021).

Tricanter. Una centrífuga tricanter es un dispositivo que utiliza la aceleración centrífuga y cuenta con un tambor giratorio y un transportador de tornillo para llevar a cabo la separación de tres fases. Esto implica la separación simultánea de dos fases líquidas no miscibles con diferentes densidades y una fase sólida, siendo esta última la fase más pesada. La estructura y el funcionamiento del tricanter son similares a los de un decanter, que es un proceso de separación en dos fases. La diferencia radica en la forma en que se descargan los líquidos. En el caso del tricanter, se obtienen dos fases líquidas: una primera fase con el líquido más "pesado" (de mayor densidad y descargada bajo presión) y otra fase con el líquido más "ligero" (de menor densidad y descargada sin presión). La eliminación de la fase líquida "pesada" se realiza mediante un rodete ajustable, y además, es posible regular el nivel del líquido "pesado". Esta tecnología está especialmente diseñada para llevar a cabo la separación continua de las fases aceite-agua-sólidos (He *et al.*, 2013).

La versatilidad de estas centrifugadoras ha llevado a su amplio uso en aplicaciones industriales. Se ha convertido en una herramienta de procesamiento crucial en una amplia gama de aplicaciones de separación de líquidos y sólidos. Una de las principales ventajas de la centrífuga tricanter es su capacidad para eliminar niveles considerablemente altos de sólidos de un líquido, manteniendo un nivel

razonablemente bajo de líquidos retenidos en el sólido (Shokrian *et al.*, 2019)

1.1.5 Digestibilidad *in vitro* como técnica para valorar la calidad nutricional de fuentes alimenticias en animales.

La digestibilidad es una forma de medir la eficacia de la conversión de un alimento en sustancias útiles para la nutrición en el aparato digestivo. Involucra dos procesos: la digestión, que implica la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos, y la absorción de pequeñas moléculas como aminoácidos y ácidos grasos en el intestino (Hernández, 2018).

La digestibilidad *in vitro* de la proteína se investiga en laboratorios donde se simula el proceso de digestión. Estos métodos empleados para determinar los valores de digestibilidad deben ser menos costosos, de desarrollo sencillo, requerir menos tiempo y brindar respuestas eficientes, además de garantizar condiciones experimentales más precisas que los ensayos realizados *in vitro* (Vela, 2020).

1.1.6 Proceso de extrusión para la obtención de alimento para peces.

En este proceso, una mezcla de materias primas (conocida como dieta) se comprime a través del barril de un extrusor, mientras se aplica calor y vapor a la mezcla a medida que pasa a lo largo del barril mediante tornillos giratorios. Al final de la extrusora, la masa se empuja a través de una pequeña abertura conocida como matriz. Todo el proceso ocurre en condiciones de alta temperatura, con un contenido de humedad de la masa interna en el rango de 15 a 45%. Al salir de la matriz, el extruido experimenta una caída repentina de presión, lo que provoca una rápida pérdida de humedad y una expansión de volumen. El alimento resultante presenta una textura porosa y una durabilidad aceptable (Liu *et al.*, 2021).

En esta transformación, que se describe como un proceso de cocción, el almidón sufre diversas modificaciones, como la fusión, gelatinización, fragmentación y dextrinización.

Durante este proceso, los gránulos de almidón experimentan rupturas en su estructura molecular de amilosa y amilopectina, liberando cadenas más cortas de glucosa que, a su vez, pueden ser digeridas con mayor facilidad. Las grasas se emulsionan debido a la presión inyectada con el agua; algunos lípidos forman complejos con la amilosa, y las proteínas se desnaturalizan. Además, durante este proceso se generan otras reacciones que pueden modificar las propiedades nutricionales, de textura y organolépticas del producto final (Romero, 2018).

1.1.7 Calidad físico-mecánica de los pellets extrudidos.

Además de la parte nutricional, que puede determinar la calidad de un alimento, las propiedades físicas también establecen un criterio de calidad; estas están directamente relacionadas con las condiciones de procesamiento de extrusión y con la formulación de la dieta. Las variables del proceso, como la temperatura, la humedad, la velocidad del tornillo y el tipo de materias primas utilizadas en la formulación, generan diversas respuestas dependiendo de su interacción (Hoyos *et al.*, 2017). Por lo tanto, las características pueden ser las siguientes:

Flotabilidad. La capacidad de flotabilidad se relaciona directamente con la densidad, porosidad y velocidad de hundimiento (De Cruz *et al.*, 2015). Esta característica reviste gran importancia, ya que es uno de los factores clave para garantizar una óptima alimentación de la tilapia (Yashni *et al.*, 2020). Además, la flotabilidad adecuada puede prevenir el desperdicio y la descomposición del alimento no consumido en conjunto con los desechos de pescado y otras materias orgánicas en el tanque. Esto, a su vez, puede ayudar a controlar los niveles de desechos de nitrógeno, los cuales resultan venenosos para los peces (Dauda *et al.*, 2019).

Índice de absorción de agua. El índice de absorción de agua se usa como un índice de gelatinización del almidón cuando aumenta la temperatura de la mezcla en el extrusor, además esta variable se relaciona con el nivel de humedad durante el

proceso de extrusión debido a que el agua actúa como un lubricante en medio de la extrusión, favoreciendo la reducción de la fricción del tornillo, la pared interna del barril del extrusor y las moléculas de almidón, lo que resulta en una menor degradación de amilosa y amilopectina, en consecuencia una vez que los gránulos de almidón alcanzan su máxima capacidad de absorción de agua este empieza a disminuir con el inicio de la dextrinización (Cuatin, 2020; Soares *et al.*, 2015).

Durabilidad. La durabilidad es un factor determinante en la calidad de los pellets. Se define como la capacidad de resistir la manipulación y la presión repetidas durante el proceso de transporte y entrega, minimizando la generación de partículas finas o la rotura de los gránulos. La calidad de los gránulos suele expresarse en una escala del 0 al 100% de recuperación de gránulos, conocida como Índice de Durabilidad del Pellet (IDP) (Evans *et al.*, 2019).

Compresión. La compresión es otro factor determinante en la calidad y proporciona un método objetivo para evaluar las propiedades mecánicas significativas y controlar la calidad, así como la carga estática máxima permitida para minimizar el daño mecánico. Factores como la preparación de la muestra antes de la prueba, la geometría de la carga y la tasa de carga pueden influir en los resultados de tales pruebas. Por lo tanto, resulta deseable estandarizar los procedimientos de prueba para permitir una comparación más sencilla de los datos (ASAE S3684, 2006).

1.2 MARCO HISTÓRICO

1.2.1 Antecedentes.

A continuación, se presentan algunos estudios realizados a nivel nacional e internacional sobre el uso de hidrolizados a partir de residuos de origen animal.

En una investigación llevada a cabo en Popayán, Cauca, se evaluaron procesos para obtener ensilaje de residuos de Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) como alternativa para la alimentación animal. Se realizaron cuatro ensilajes químicos y cuatro biológicos; se evaluaron variables como pH, acidez titulable, consistencia, perfil microbiológico y la caracterización nutricional mediante análisis de composición química y pruebas de digestibilidad in vitro.

Los tratamientos con adición de ácido fórmico presentaron valores inferiores a 3,26 para el pH, mientras que los tratamientos con inclusión de melaza generaron porcentajes más altos de acidez titulable, entre 3,56% y 3,78%. Los ensilados preparados con vísceras enteras mostraron un grado mayor de licuefacción, de 9,75 a 20,38 cm/30s. La digestibilidad in vitro de la materia seca de los ensilajes superó el 96% y fue equivalente a la encontrada en la harina de pescado. Los autores concluyeron que los ensilajes son una alternativa de calidad para la alimentación animal debido a su contenido nutricional (Perea et al., 2017).

En la misma localidad, se llevó a cabo una caracterización química de la harina proteica hidrolizada obtenida a partir de subproductos de trucha (*Oncorhynchus mykiss*). Se evaluaron las condiciones de rendimiento y caracterización química, incluyendo nitrógeno soluble y volátil, índice de peróxido, perfil de masa molecular, perfil de aminoácidos, concentración y digestibilidad en pepsina. Los subproductos de la trucha arcoíris mostraron un nivel de lípidos y proteínas cercano al 90% en materia

seca. El grado de hidrólisis fue cercano al 62%, con masas moleculares de fracciones proteicas entre 0,2 y 0,6 KDA. La prueba de digestibilidad mostró un valor superior en comparación con la harina de pescado comercial, lo que sugiere ventajas en la absorción y explotación nutricional (Hoyos et al., 2018).

En la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, se investigó sobre los métodos tradicionales utilizados para analizar la calidad física de alimentos extruidos para peces, incluyendo dureza, durabilidad, estabilidad en agua, velocidad de hundimiento, densidad aparente, capacidad de absorción y pérdida de aceite, y porosidad. Estas propiedades son relevantes para decisiones relacionadas con procesamiento, transporte, almacenamiento, aprovechamiento biológico y evaluación de materias primas. Por lo tanto, se requiere que los pellets sean resistentes al estrés mecánico y presenten textura y tamaño adecuados para facilitar la ingesta en el agua (Hoyos et al., 2017).

En Popayán, Cauca, se realizó un estudio sobre el uso de subproductos de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) para la producción de alimentos extruidos para peces. Se evaluó el efecto de la inclusión de residuos de ensilado químico de beneficio de trucha. Se empleó un extrusor de tornillo simple para evaluar variables como el perfil de temperatura de extrusión, velocidad del tornillo, humedad y harina proteica hidrolizada (HPF). Los autores encontraron que la HPF mostró potencial tecnológico funcional para mejorar la calidad física del pellet (Hoyos et al., 2022).

En la Universidad de Antioquia, en Medellín, se investigó sobre la cinética de secado de pellets no extruidos para Tilapia roja (*Oreochromis spp*). Se comparó el secado convectivo y el secado con microondas en la elaboración de pellets utilizando dieta control y dieta con inclusión de ensilado de vísceras. Los resultados indicaron que el secado con microondas ofreció propiedades similares a los extruidos, como flotabilidad y relación de expansión (Gaviria et al., 2020).

En Noruega, se estudió el efecto de la sustitución de harina de pescado por harina de tunicados en el proceso de extrusión y la calidad física del pellet. Se encontró que la harina de tunicados puede mejorar las propiedades físicas de los pellets (Samuelsen et al., 2022).

En una investigación en India, se elaboró un hidrolizado de pescado basado en Bind-Add+, un aditivo aglutinante que contribuye a propiedades aglutinantes y de absorción de agua en la producción de pellets por extrusión (Sahu et al., 2017).

En Indonesia, se analizaron características químicas y físicas de concentrados de proteína de pescado elaborados a partir de Carpa (*Cyprinus carpio*). Se evaluaron parámetros como contenido de proteína, grasa, agua, cenizas, capacidad de emulsión, densidad aparente, capacidad y estabilidad de formación de espuma, y absorción de agua y aceite (Afrianto *et al.*, 2020).

2. METODOLOGÍA

La metodología utilizada para la evaluación de la proteína hidrolizada de subproductos piscícolas concentrada por separación mecánica y desarrollo de dietas extruidas para tilapia se describe a continuación.

2.1 LOCALIZACIÓN

El estudio se desarrolló en el Centro Internacional Biotecnológico Agroindustrial (CBA) y en el laboratorio de Reología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, ubicados en la vereda Las Guacas del municipio de Popayán, Cauca. Estas instalaciones se encuentran entre las coordenadas 02° 45' 08,91" de latitud norte y 76° 55' 10,86" de longitud oeste, a una altitud promedio de 1.737 metros sobre el nivel del mar. La temperatura promedio es de 18,7°C y la precipitación anual alcanza los 2594 mm.

La extrusión se realizó en las instalaciones de la empresa Alimentos Concentrados del Sur S.A., ubicada en el municipio de Garzón, Huila. Esta locación se encuentra entre las coordenadas 2°19' 83.39" de latitud norte y -75°61' 61.20" de longitud oeste, con una altitud promedio de 828 metros sobre el nivel del mar. La temperatura media es de 25°C y la precipitación anual es de 2682 mm.

2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

Se emplearon vísceras de trucha como material biológico, las cuales fueron obtenidas de la Asociación Productora y Comercializadora de Productos Acuícolas y Agrícolas de Silvia Cauca (APROPESCA). Estas vísceras fueron transportadas en recipientes plásticos hasta el Centro Internacional Biotecnológico Agroindustrial de la Universidad del Cauca, ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias, con el propósito de llevar a cabo la elaboración del hidrolizado.

2.3 HIDROLIZADO DE VÍSCERAS DE TRUCHA ARCOÍRIS

Se obtuvieron hidrolizados a partir de las vísceras de Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Para la elaboración, se emplearon vísceras enteras provenientes del proceso de faenamiento, las cuales se mezclaron con un 2,5% de ácido fórmico al 85% m/v con el objetivo de reducir el pH a un rango de entre 3,2 y 3,6. Esto facilitó la acción hidrolítica de las enzimas endógenas presentes en las vísceras (Perea *et al.*, 2017). A esta mezcla se le añadió un 0,25% de benzoato de sodio como fungicida y un 0,1% de Butil-Hidroxi-Tolueno como antioxidante. Posteriormente, los hidrolizados se almacenaron en recipientes plásticos cerrados a temperatura ambiente para su seguimiento posterior (Llanes *et al.*, 2011) (ver Figura 1).

Figura 1. Preparación del hidrolizado de vísceras de trucha



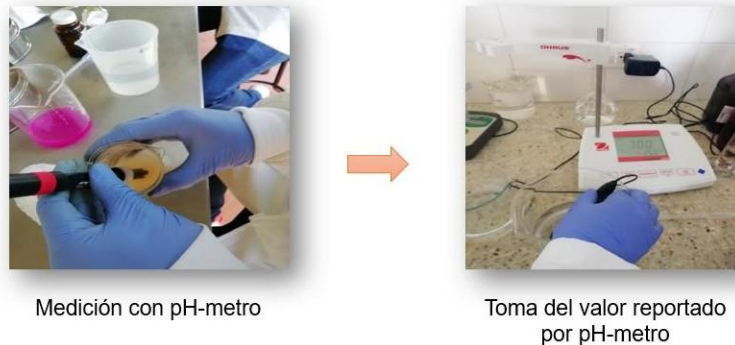
2.3.1 Seguimiento al proceso de hidrólisis proteica endógena de las vísceras de trucha.

Durante el período de almacenamiento, se llevaron a cabo mediciones de diversos parámetros, tales como el pH, la acidez titulable, la consistencia, el nitrógeno volátil total, el perfil microbiológico y el grado de hidrólisis. Estas mediciones se llevaron a

cabo con el propósito de mantener un control preciso sobre la evolución del proceso de hidrolización y su desarrollo.

pH: Se realizaron mediciones cada tres días, comenzando desde el inicio de la hidrólisis (día 0) hasta su conclusión (día 9). Estas mediciones se llevaron a cabo utilizando el método del potenciómetro y un pH-metro con una precisión de 0,01, según el procedimiento descrito por Perea *et al.* (2017). (Ver Figura 2).

Figura 2. Medición del pH



Grado de hidrólisis proteica. Se llevó a cabo la medición diaria desde el inicio (día 0) hasta el final (día 7). Para ello, se tomó una muestra de 4 g del hidrolizado, al cual se añadieron 12 g de solución buffer fosfato pH 7 en una relación de 2:3. Luego, se agitó vigorosamente durante 10 segundos mediante vórtex y posteriormente se centrifugó a 12.000 rpm a 4°C durante 15 minutos. El líquido resultante se extrajo y filtró mediante vacío utilizando papel Whatman N°2. Seguido de esto, se realizaron diluciones, tomando volúmenes de 100, 200, 300 y 500 μL , cada uno de los cuales se aforó en un balón de 10 ml con agua destilada. Se tomó una muestra de 128 μL de esta solución diluida y se le añadieron 2 ml de solución buffer pH 8,2. En un entorno oscuro, se agregó 1 ml del reactivo TNBS al 0,01%, y la mezcla se agitó por 15 segundos utilizando vórtex. Luego, se incubó la mezcla en un baño de agua a una temperatura

de 50°C durante 30 minutos. Posteriormente, se añadieron 2 ml de solución de bisulfito de sodio 0,1M y se dejó en reposo durante 15 minutos. El contenido se calculó utilizando un espectrofotómetro UV-Visible a una longitud de onda de 420 nm (Jamdar *et al.*, 2010) (Ver Figura 3). Los cálculos se realizaron según la ecuación 1.

$$\%GH = \frac{P1-P0}{PT-P0} * 100 \quad (\text{Ec. 1})$$

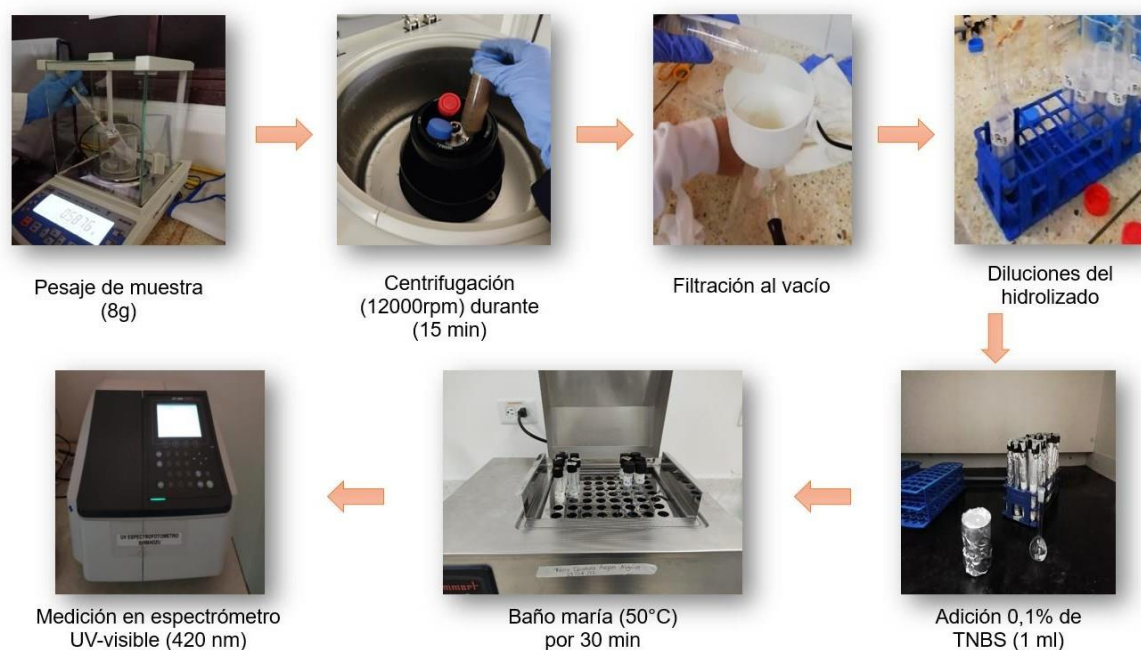
Donde:

P1 = Concentración de aminoácidos liberados, expresados en mg Leu/g de proteína en la muestra seca.

PT = Concentración de aminoácidos totales, expresados en mg Leu/g de proteína en la muestra seca.

P0 = Concentración de aminoácidos iniciales, expresados en mg Leu/g de proteína en la muestra seca.

Figura 3. Medición del grado de hidrólisis.



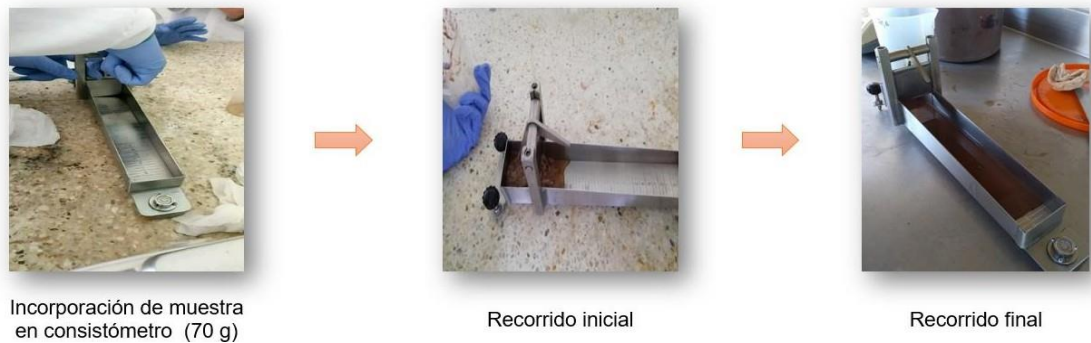
Acidez titulable. La acidez titulable se registró cada tres días. Para esto, se tomó una dilución 10^{-1} de la muestra del hidrolizado y se tituló utilizando NaOH 0,1 N (Figura 4), hasta que se alcanzó un pH de 8,2 (Agudelo *et al.*, 2010).

Figura 4. Titulación con NaOH 0,1 N



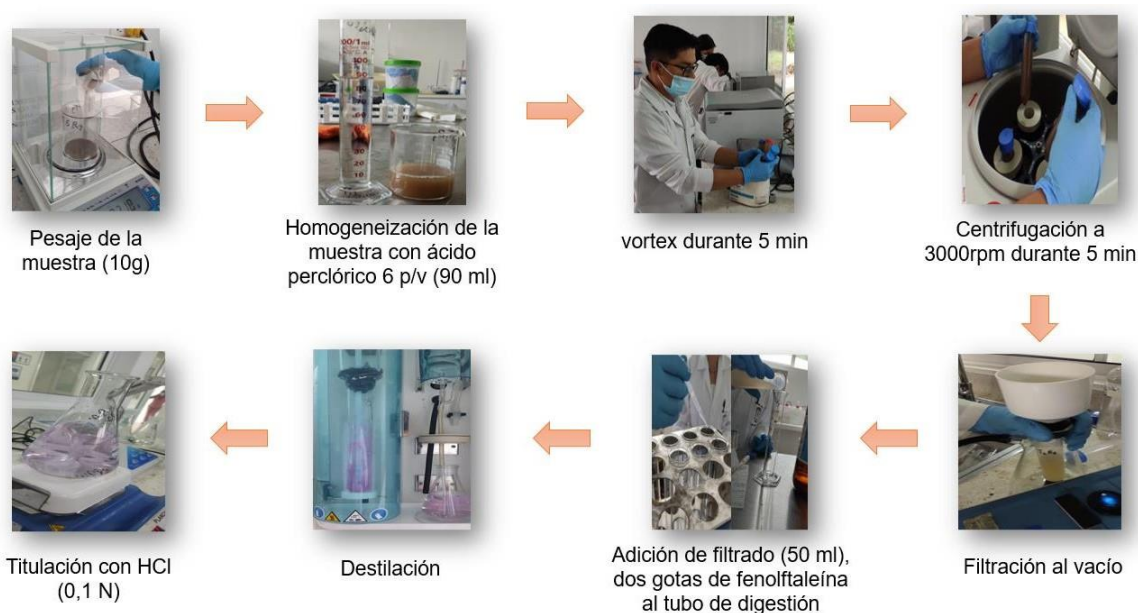
Consistencia. La medición de la consistencia se llevó a cabo cada tres días. Para ello, se tomó una muestra de 70 g previamente homogeneizada. Posteriormente, esta muestra se colocó en el consistómetro y, después de transcurridos 30 segundos, se registró la distancia recorrida por la muestra (Perea *et al.*, 2017) (Figura 5).

Figura 5. Medición de consistencia



Nitrógeno volátil total. Las muestras fueron tomadas al inicio y al final de la hidrólisis (50-55%). Para ello, se homogeneizó 10,0 g de muestra con 90 ml de una disolución de ácido perclórico al 6% p/v durante 10 minutos. El homogeneizado fue centrifugado a 3.000 rpm durante 5 minutos y luego se procedió a filtrarlo. En un tubo de destilación se añadieron 50 ml del filtrado y se incorporaron dos gotas de fenolftaleína. Estos tubos se llevaron a la unidad de destilación, donde se agregaron 6,5 ml de NaOH al 20% p/v. El destilado fue recogido sobre 100 ml de una solución de ácido bórico al 3% p/v. Por último, la disolución recogida fue titulada con HCl al 0,1 N, de acuerdo con lo establecido en el reglamento (CE) N° 1022 (CE, 2008) y la norma técnica NTC 3644-2 (NTC, 1998) (Figura 6).

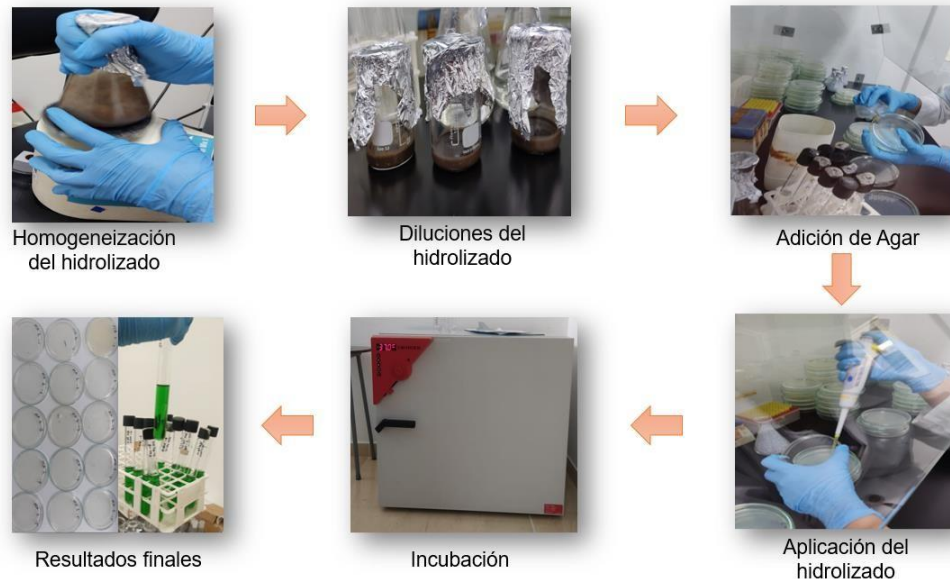
Figura 6. Determinación del nitrógeno volátil.



Perfil microbiológico. Se aplicó al inicio de la hidrólisis (día 0) y al final (día 7). Se llevaron a cabo las mediciones del recuento de aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes totales. Las pruebas microbiológicas se realizaron por triplicado de acuerdo con las Normas Técnicas Colombianas. El recuento de aerobios mesófilos, de acuerdo

con la NTC 4519, se realizó en Agar Plate Count (APC), incubando las muestras a 35°C durante 48 horas (NTC, 2009); el recuento de mohos y levaduras, según la NTC 4132, se determinó mediante siembra en Potato Dextrose Agar (PDA) a 25°C durante un periodo de 3 a 5 días (NTC, 1997); para el conteo de coliformes totales, de acuerdo con la NTC 4516, se empleó el método del Número Más Probable (NMP), realizando la siembra en tubos de fermentación en caldo brillante; la temperatura de incubación que se tuvo en cuenta fue de 35°C durante 24 a 48 horas (NTC, 1998) (Figura 7).

Figura 7. Perfil microbiológico.



Tamizado y estabilizado del hidrolizado. Al llegar al séptimo día de seguimiento, se alcanzó el grado de hidrólisis proteica requerido, que osciló entre 50% y 55%, como se determinó previamente mediante la prueba explicada anteriormente. Posteriormente, se procedió a tamizarlo a través de mallas de 30 y 40 μm para eliminar cualquier impureza. Luego, se detuvo el proceso de hidrólisis mediante un secado en horno a una temperatura de 60°C durante un período de 3 horas, con el

objetivo de lograr la estabilización del producto (Berman, 2007).

Figura 8. Tamizado y estabilizado del hidrolizado.



Tamizaje (malla 30 y 40 μm)



Estabilizado en horno a 60°C

2.3.2 Caracterización nutricional de los hidrolizados proteicos de vísceras de trucha obtenido.

Se procedió a realizar un análisis proximal del hidrolizado. Para ello, se tomaron muestras de los tarros plásticos después de su mezcla. La determinación de la materia seca se efectuó mediante un proceso de secado en un horno a una temperatura de 105°C hasta alcanzar un peso constante, de acuerdo con el método AOAC 934.01.

La cuantificación de la proteína se llevó a cabo mediante el método Kjeldahl, que implica la digestión ácida y la destilación de nitrógeno. Para esto, se utilizó un digestor y destilador de la marca Raypa, siguiendo el procedimiento establecido en la metodología AOAC 920.105.

El contenido de extracto etéreo se determinó siguiendo el método 920.39 de la AOAC. Esto se logró a través de la recirculación continua de éter de petróleo en el equipo Soxhlet de la marca Raypa, lo que permitió la extracción de la grasa y su cuantificación mediante la pérdida de peso.

La determinación del contenido de cenizas se efectuó mediante la incineración en una mufla a una temperatura de 450°C durante un período de 10 horas. Esta metodología se basó en el método 942.05 de la AOAC.

Por otro lado, el contenido de fibra se determinó utilizando el método 962.09 de la AOAC, que involucra un tratamiento con ácido-base en el equipo Fibertest de la marca Raypa. La cuantificación del contenido de extracto no nitrogenado se realizó mediante un cálculo indirecto basado en la ecuación (2) (Figura 8).

$$\%ENN = 100 - (\%C + \%G + \%Pc + \%Fc) \quad (\text{Ec. 2})$$

En esta fórmula:

%C = Porcentaje de cenizas

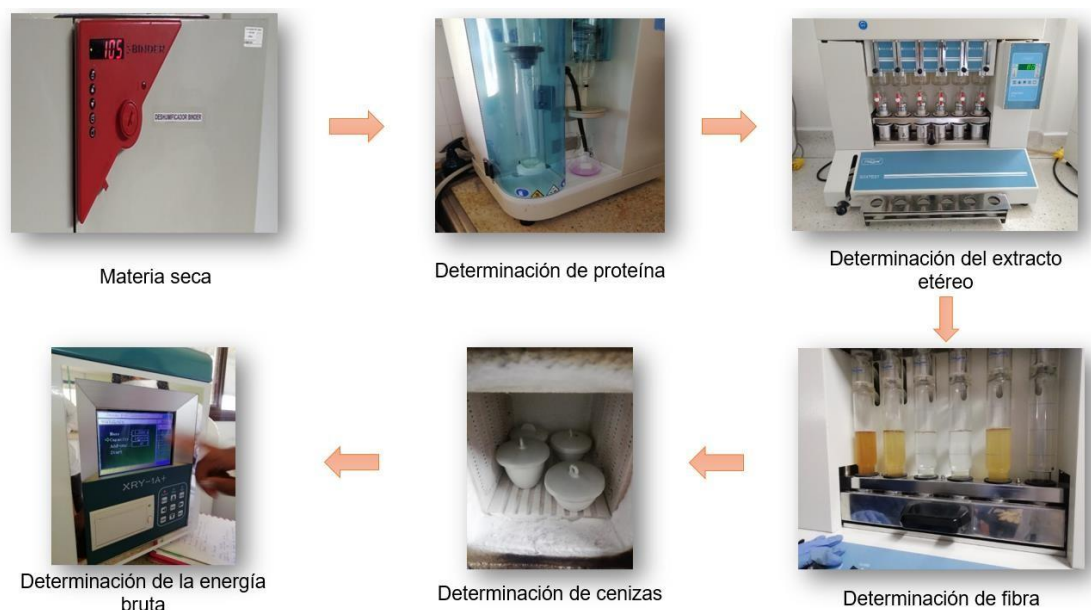
%G = Porcentaje de grasa

%Pc = Porcentaje de proteína cruda

%Fc = Porcentaje de fibra cruda

La energía bruta se determinó mediante la medición del calor de combustión al someter la muestra a una oxidación en la bomba calorimétrica de chaqueta CAL2k® (Carmona *et al.*, 2012).

Figura 9. Análisis proximal del hidrolizado de vísceras de trucha.



2.4 OBTENCIÓN DE PROTEÍNA CONCENTRADA A PARTIR DE HIDROLIZADO VÍSCERAS DE TRUCHA MEDIANTE PROCESOS DE SEPARACIÓN MECÁNICA

La obtención de proteína concentrada a partir de hidrolizado de vísceras de trucha mediante procesos de separación mecánica fue llevada a cabo una vez que el hidrolizado alcanzó el grado de hidrólisis proteica establecido. Inicialmente, se sometió el hidrolizado a un baño maría a 50°C durante 15 minutos. Posteriormente, se procedió a la concentración de la proteína utilizando un separador centrífugo. En este proceso, se realizó la separación de los líquidos inmiscibles de diferentes densidades y la sedimentación de componentes sólidos. Esto se logró mediante un rotor de auto bombeo que movía el fluido axialmente hacia arriba de su diámetro. La fuerza centrífuga generada (100 - 400 g) separaba las dos fases líquidas a medida que fluían a través del rotor (He *et al.*, 2013; Nolsøe *et al.*, 2007; CINC, 1999). A continuación, la fase más densa obtenida del separador se centrifugó a 4500 rpm durante 10 minutos,

logrando así la separación de agua, aceite y sólidos, lo que permitió concentrar la proteína (Figura 9).

El rendimiento del proceso se determina mediante la ecuación 3.

$$\%R = \frac{\text{Cantidad inicial}}{\text{Cantidad final}} \quad (\text{Ec. 3})$$

Figura 10. Obtención de proteína hidrolizada concentrada



2.4.1 Determinación de proteína total y grasa total.

La determinación de proteína total y grasa total se llevó a cabo siguiendo los métodos oficiales. Para la determinación de lípidos, se utilizó el método 920.39 de la AOAC (AOAC, 2006) (Figura 10). Por otro lado, la determinación de proteína se realizó mediante el método 920.105 de la AOAC (AOAC, 2006) (Figura 11).

Figura 11. Grasa total de la proteína hidrolizada concentra

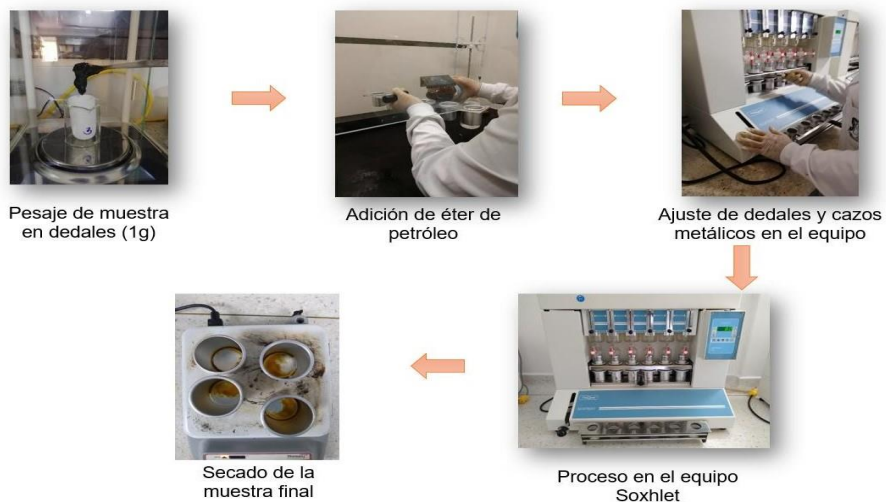
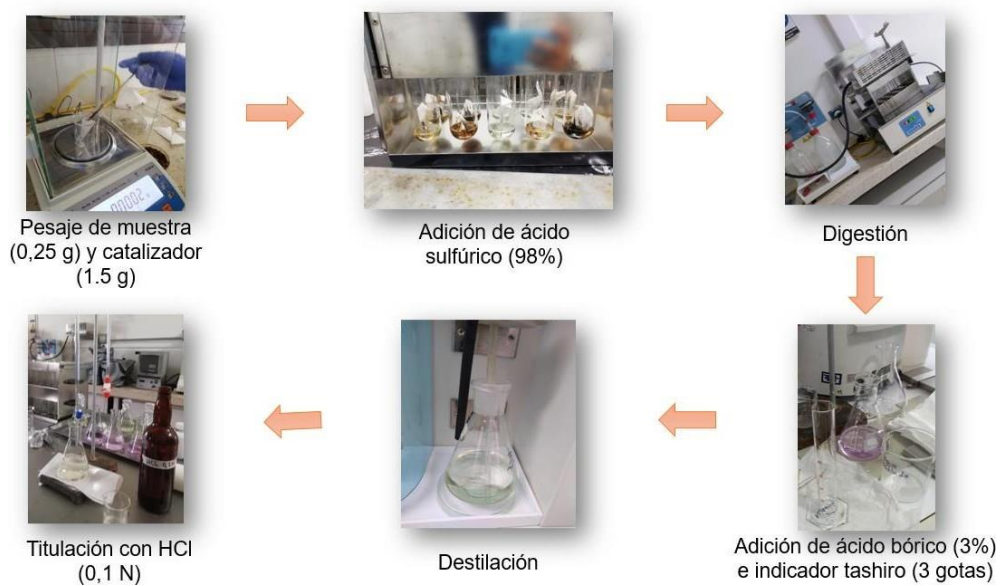


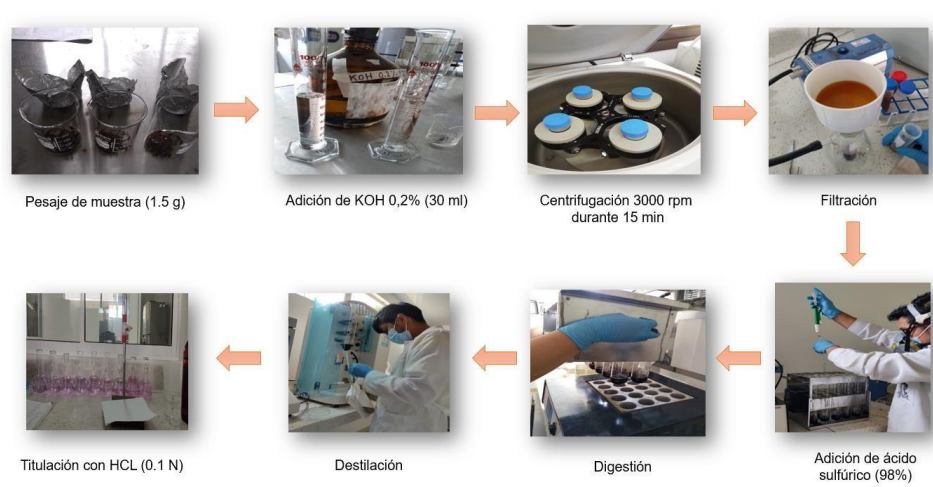
Figura 12. Proteína total de la proteína hidrolizada concentrada.



2.4.2 Determinación de proteína soluble.

Para llevar a cabo este procedimiento, se tomó una muestra de 1,5 g a la que se le agregaron 75 ml de KOH, y se agitó durante 20 minutos. Luego, la muestra se centrifugó durante 5 minutos a 3000 rpm y se filtró. Se tomó una cantidad de 15 ml del filtrado y se agregó a un tubo de digestión para la destilación. Finalmente, se determinó la cantidad de proteína soluble de acuerdo con la norma técnica colombiana NTC 4860 (NTC, 2000) (Figura 12).

Figura 13. Proteína soluble de la proteína hidrolizada concentrada.



2.2.1 Determinación de nitrógeno volátil total.

La determinación se llevó a cabo siguiendo el procedimiento mencionado en el numeral 2.3.2. (Figura 13).

Figura 14. Nitrógeno volátil de la proteína hidrolizada concentrada



2.2.4 Determinación de la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (divms) de la proteína hidrolizada concentrada.

A la proteína hidrolizada concentrada obtenida, se le determinó la digestibilidad *in vitro* de la materia seca mediante el siguiente procedimiento:

Para el ensayo *in vitro*, se empleó la metodología de digestibilidad descrita por Ly (2008) y Gonzalvo (2001), con adaptaciones realizadas por Perea (2016) específicamente para la tilapia. Este método consta de una etapa en la cual la muestra se somete a una digestión gástrica utilizando pepsina, con el propósito de simular el proceso de degradación que ocurre en el estómago.

Digestibilidad *in vitro* de la proteína. Para ello, se pesaron 0,5 g de la muestra y luego se añadieron 25 ml de solución tampón fosfato, procediendo a la mezcla. A continuación, se incorporaron 10 ml de HCl para ajustar el pH a 2,0. Posteriormente, se agregaron 1 ml de pepsina y 0,5 ml de la solución de chloramphenicol. La mezcla

se colocó en un baño maría a 39°C durante 2 horas, manteniendo una agitación suave y constante. Luego, se filtró utilizando crisoles filtrantes; el residuo resultante se lavó con 10 ml de etanol al 96% y 10 ml de acetona al 99,5%. Por último, se secó el residuo en un horno a 60°C hasta alcanzar un peso constante (Figura 14). Utilizando la ecuación 4, se calculó el porcentaje de digestibilidad in vitro de la proteína hidrolizada concentrada.

$$\%DivMS = \frac{(Pm * MS) - ((Crisol+Residuos) - Crisol)}{(Pm * MS)} * 100 \quad (Ec. 4)$$

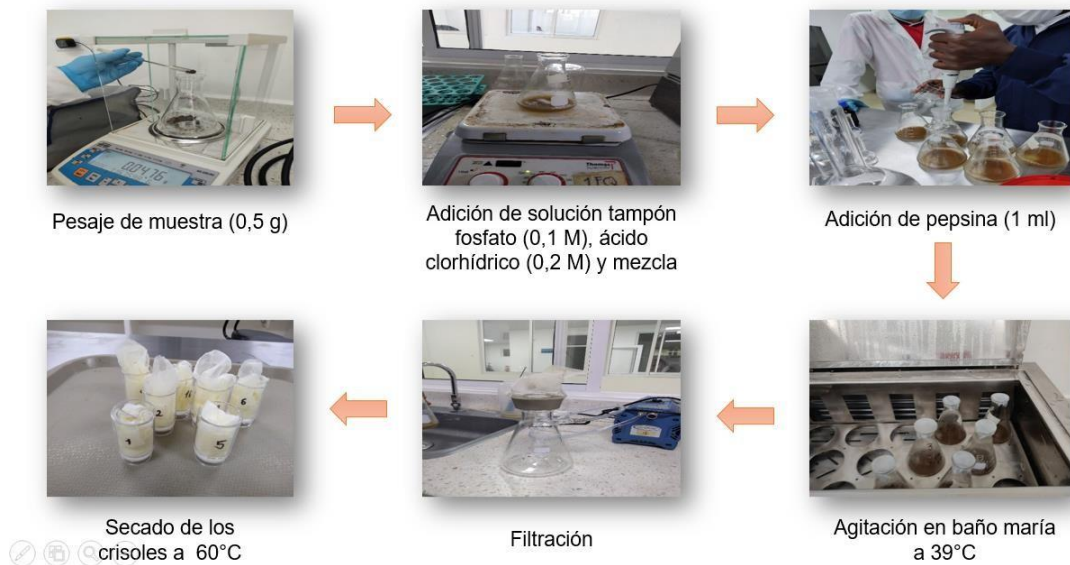
Dónde:

%DivMS = porcentaje de digestibilidad in vitro de la materia seca

Pm = peso de la muestra

MS = Materia seca de la muestra

Figura 15. Proceso de digestibilidad in vitro de la PHC



2.5 EXTRUSIÓN DE DIETAS CON INCLUSIÓN DE PROTEÍNA HIDROLIZADA CONCENTRADA.

2.5.1 Formulación y mezclado para la preparación de dietas con inclusión de proteína hidrolizada concentrada.

Una vez se realizaron los análisis complementarios de la caracterización nutricional y microbiológica a la proteína hidrolizada concentrada obtenida mediante separación mecánica, se procedió a la formulación de las 5 dietas: una de referencia (sin inclusión de proteína hidrolizada concentrada) y cuatro dietas con inclusión de proteína hidrolizada para la sustitución o reemplazo del 25%, 50%, 75% y 100% de la harina de pescado, como se observa en la tabla 2. Posteriormente, se homogeneizó en una mezcladora Kitchen Aid con capacidad para 10 kg; se empacó en bolsas de polipropileno y se almacenó durante 24 horas a 10°C para equilibrar la humedad (Perea et al., 2018) (Figura 15).

En relación a lo anterior, las dietas preparadas para la fase de engorde a evaluar en tilapia fueron:

T1 = 100% harina de pescado

T2 = 75% harina de pescado + 25% proteína hidrolizada concentrada

T3 = 50% harina de pescado + 50% proteína hidrolizada concentrada

T4 = 25% harina de pescado + 75% proteína hidrolizada concentrada

T5 = 100% proteína hidrolizada concentrada

Tabla 2. Formulación de las dietas.

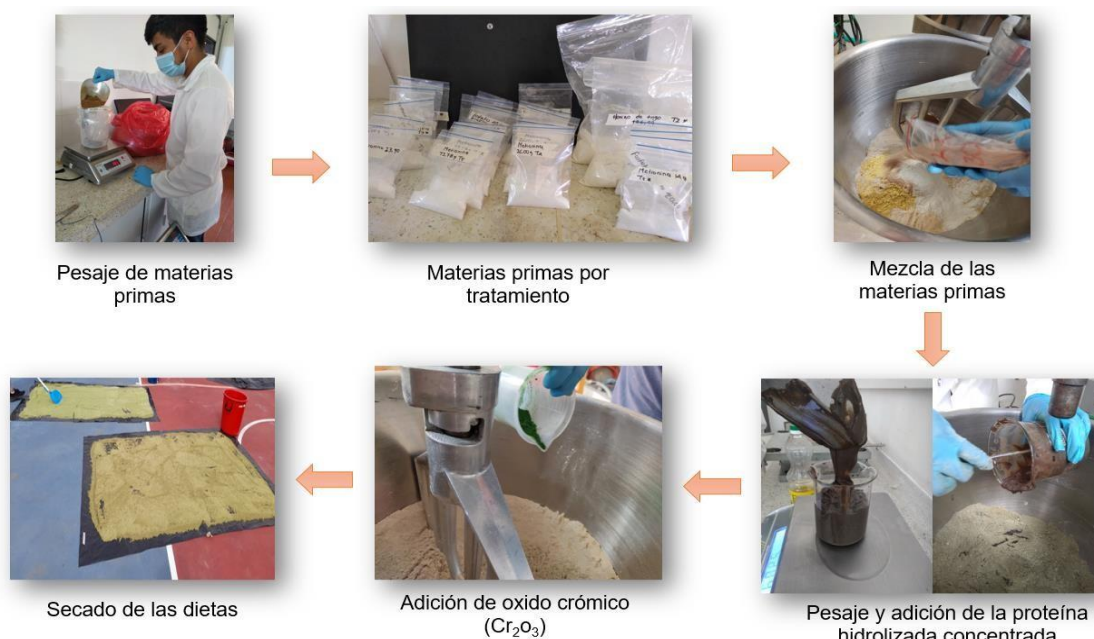
Materia prima	T1 (g/kg)	T2 (g/kg)	T3 (g/kg)	T4 (g/kg)	T5 (g/kg)
Harina de pescado	222	165	111	55	0
Harina trigo	1	1	1	1	0,4
Aceite vegetal	71	64,5	71	67,5	59,9
Fosfato Bicálcico	10,6	17,1	31,4	37,4	47,5
DL-metionina	1,3	1	1	1	1
Premix I	20	20	20	20	20
Triptófano	2,9	3,4	3,8	4,3	4,7
Salvado de maíz	45	71,9	119,8	180	274,8
Torta de soya	140	140	140	140	140
harina de maíz amarillo	140	100	15	10	0,5
Mogolla de trigo	227,8	200	166,8	114,2	33,4
Harina de yuca	66,3	124,9	177	172,6	163,1
Carbonato de calcio	22	6,3	1,2	2	2,7
Bentonita	10	10	10	10	10
PHC II	0	55	111	165	222
Sal	10	10	10	10	10
Cr2O3	10	10	10	10	10
TOTAL	999,9	1000,1	1000	1000	1000
Composición Química de la Dieta					
P.B.%	26,18	26,18	26,18	26,18	26,18
E.E.%	10,76	10,17	10,94	11,01	10,92
CHO	42,33	45,2	44,77	45,5	46
F.B.%	2,26	2,23	2,19	2,09	1,95
Cenizas	10,13	8,8	7,58	6,18	4,83
E.D./kcal/kg	3100,9	3100,9	3100,9	3100,9	3100,9
Ca %	1,9	1,9	1,9	1,91	2
P%	1	1,18	1,5	1,65	1,9

Metion. Min%	0,73	0,71	0,72	0,74	0,77
Lisin. Min%	1,7	1,79	1,78	1,97	2,19
Triptof. Min%	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Treon. Min%	0,64	0,79	0,96	1,1	1,27

I Premezcla de vitaminas, minerales y adictivos (Biomix SA©) (composición por kilogramo de producto): vitamina A (800.000 UI), vitamina D3 (300.000 UI), vitamina E (11,0 g), vitamina K (2,2 g), vitamina B12 (0,01 g), tiamina (0,6 g), riboflavina (3,6 g), piridoxina (5,6 g), biotina (0,08 g), ácido pantoténico (6,8 g), niacina (5,6 g), ácido fólico (1,0 g), vitamina C (25,0 g), cloruro de colina (70,0 g), yodo (0,3 g), selenio (0,05 g), hierro (6,0 g), cobre (1,2 g), zinc (16,0 g), manganeso (7,0 g), cobalto (0,1 g) y antioxidante (30,0 gramo).

II Proteína hidrolizada concentrada

Figura 16. Preparación de las dietas



Costo de elaboración de las dietas. Se realizaron los cálculos económicos para evaluar el efecto de la inclusión de una proteína concentrada de vísceras de trucha en los costos de alimentación de tilapia. Para ello, se determinó el costo de elaboración de la dieta mediante la ecuación 5 (Garcés *et al.*, 2015).

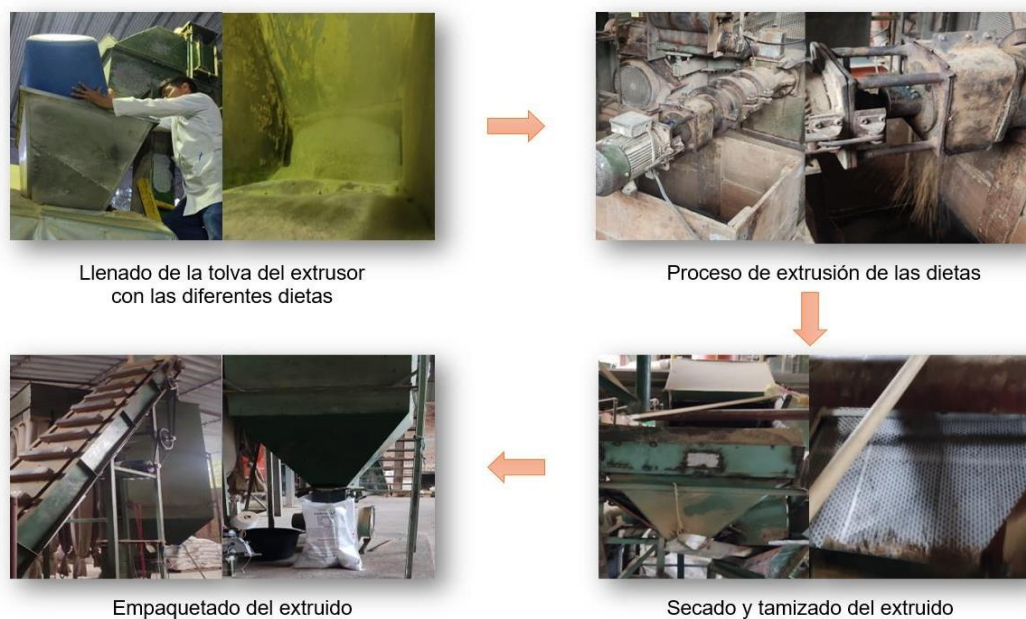
$$\text{Costo de la dieta} \left(\frac{\$}{kg} \right) = \text{Costos de materias primas} (\$) * \% \text{ de inclusión en el balance}$$

(Ec. 5)

2.5.2 Extrusión de las dietas.

Para evaluar el efecto de la inclusión de proteína hidrolizada concentrada en el proceso de extrusión de las dietas, obtenidas en la fase de formulación y mezclado, se llevaron a cabo en las instalaciones de Alimentos Concentrados del Sur, ubicadas en Garzón, Huila. Se utilizó un extrusor industrial de tornillo simple. Durante el proceso, se mantuvo una temperatura de 120°C y una velocidad del tornillo de 144 rpm. Una vez obtenidos los pellets, se sometieron a un proceso de secado a 50°C en un secador industrial con corriente de vapor hasta que alcanzaron un porcentaje de humedad del 7%. Posteriormente, los pellets pasaron por una zaranda vibratoria para retirar polvo y partículas pequeñas. Finalmente, se empacaron en sacos de polipropileno para su transporte y posterior evaluación de las características físicas y mecánicas de los pellets obtenidos (Figura 16).

Figura 17. Extrusión de las dietas para tilapia con la inclusión de proteína hidrolizada concentrada.

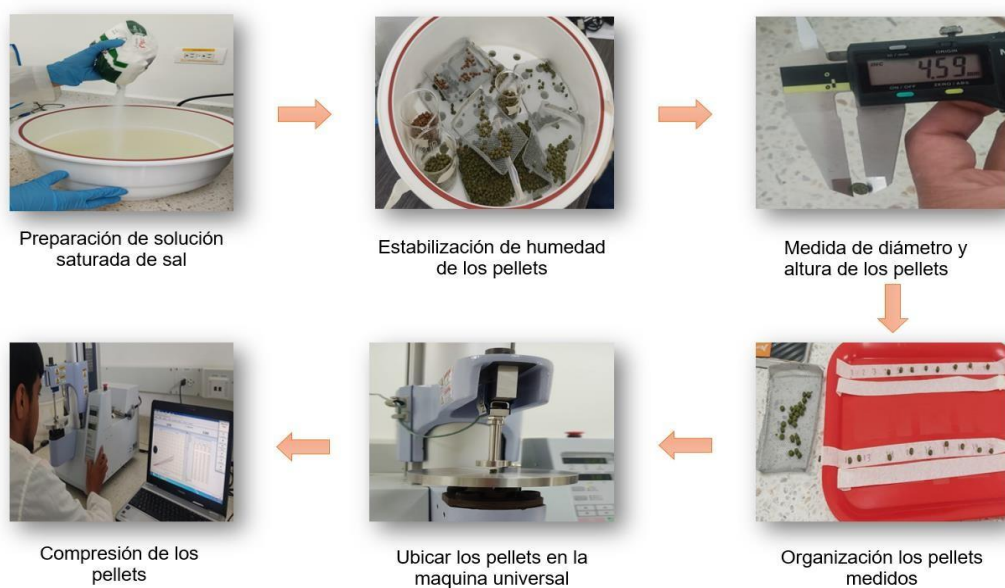


2.5.3 Evaluación de las características físico-mecánicas para determinar el efecto de la inclusión de proteína hidrolizada en el proceso de extrusión.

Las variables de respuesta consideradas para el análisis físico-mecánico fueron la compresión, durabilidad, flotabilidad e índice de absorción de agua. Estas variables se midieron una vez se obtuvieron los pellets extruidos (Berman, 2007).

Prueba de compresión. Se llevó a cabo el procedimiento descrito en la norma ASAE S368.4 (ASAE 2006). Para ello, se realizaron 20 mediciones para cada tratamiento, utilizando un equipo universal de prueba para materiales de la marca Shimadzu EZL de Japón. Antes de realizar la prueba, se colocó cada tratamiento en un desecador con una solución saturada de sal para mantener la misma humedad. Además, se recopiló información sobre el color, apariencia y medidas de los diámetros (mayor, menor e intermedio) de las muestras. Esta última medida se tomó con una precisión del 10% de la dimensión correspondiente. Posteriormente, se colocó la muestra en la máquina de prueba, alineando el centro de la herramienta con la muestra de ensayo, y se inició la compresión del material (Figura 17).

Figura 18. Prueba de compresión de los pellets.



Prueba de durabilidad. La durabilidad se analizó utilizando el durabilímetro NHP 100 HOLMEN. Los pellets extruidos (100 g) se introdujeron en una cámara donde se sometieron a una corriente de aire que hizo golpear los pellets contra un filtro durante 120 segundos, y se cuantificaron las partículas que no se desmoronaron. El resultado se expresó como el índice de durabilidad del pellet (%) (Figura 18), y se determina mediante la ecuación 6 (Guo et al., 2021).

$$IDP = \left(\frac{P_i}{P_f} \right) * 100 \quad (\text{Ec. 6})$$

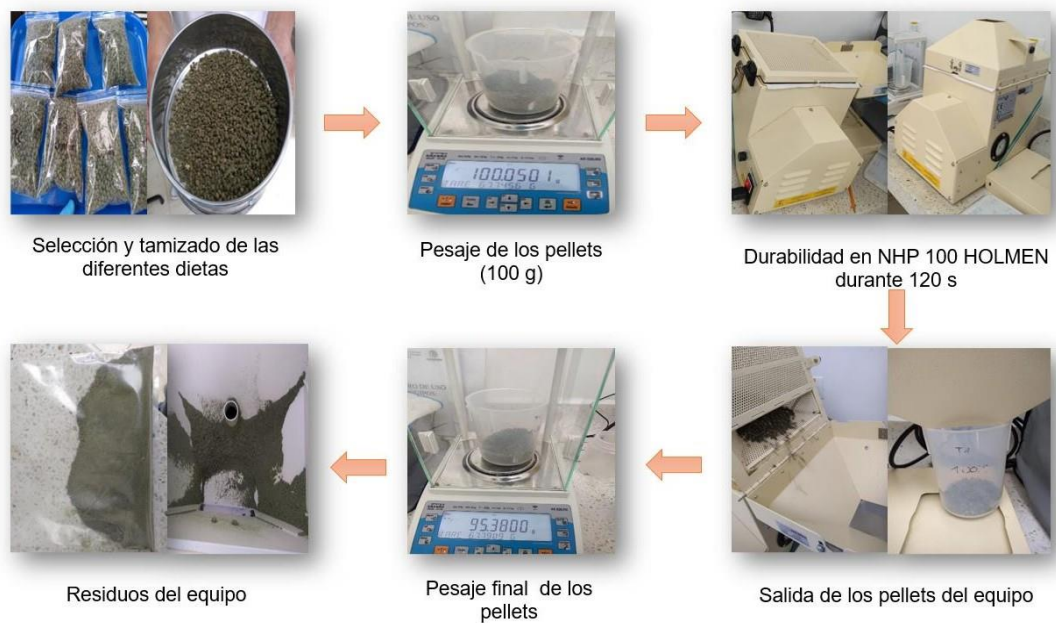
Donde:

IDP= Índice de durabilidad del pellet

Pi =Peso inicial

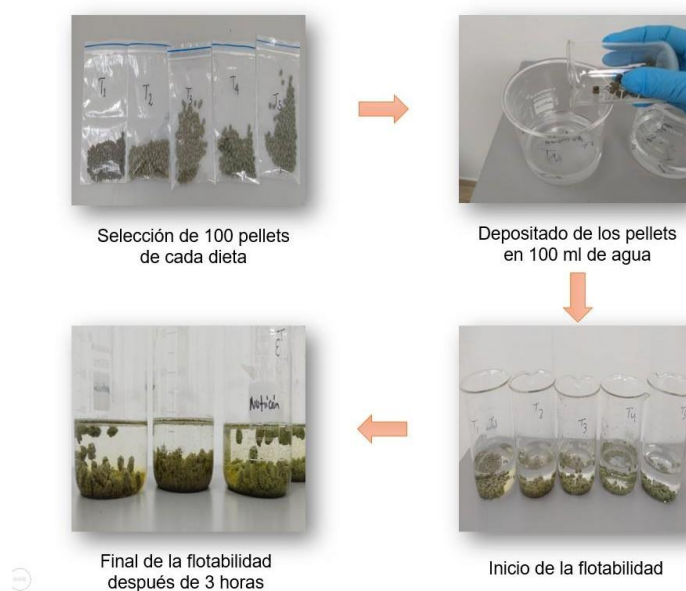
Pf =Peso final

Figura 19. Medición de la durabilidad de los pellets.



Prueba de flotabilidad. En un vaso de precipitado de 500 ml se vertieron 200 ml de agua a una temperatura de 26°C. Posteriormente, se tomaron 100 pellets del mismo tamaño y longitud, los cuales se depositaron en el agua durante un periodo de 3 horas. Al final del periodo de tiempo, se cuantificaron los pellets que se mantuvieron en la superficie y se determinó el porcentaje de flotabilidad (Arroyo, 2008) (Figura 19).

Figura 20. Flotabilidad de los pellets.



Índice de absorción de agua (IAA). Se tomó una muestra de 8 g de alimento en pellets y se depositó en un vaso de precipitado con 500 ml de agua a 25°C, se agitó a 70 rpm durante 30 minutos, posteriormente se filtró y se registró el peso de la muestra con humedad (Pantoja et al., 2011) (Figura 20). El IAA se calculó mediante la ecuación 7.

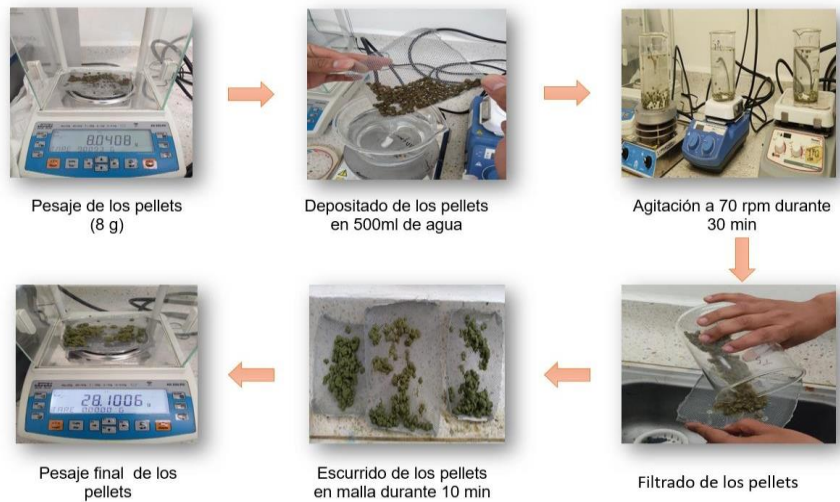
$$IAA = \left(\frac{M_h}{M_s} \right) * 10 \quad (\text{Ec. 7})$$

Donde:

Mh= Peso de la muestra húmeda

Ms= Peso de la muestra seca

Figura 21. Medición de la absorción de agua de los pellets



2.5.4 Diseño experimental y análisis estadístico de la inclusión de proteína hidrolizada concentrada en la extrusión de dietas para tilapia.

Para evaluar el efecto de la inclusión de la proteína hidrolizada concentrada en el proceso de extrusión de dietas para peces, se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual se evaluaron 5 tratamientos: una dieta control sin inclusión de proteína hidrolizada concentrada y cuatro dietas con inclusión de proteína hidrolizada para la sustitución o reemplazo del 25, 50, 75 y 100% de la harina de pescado. Para cada una de las dietas se realizaron tres réplicas.

Cada una de las variables a determinar: compresión, durabilidad, flotabilidad e índice de absorción de agua, se analizó mediante la aplicación de un análisis de varianza ($P <$

0,05). Se utilizó el Test de Tukey para la comparación de medias, y un valor de ($\alpha < 0,05$) se consideró como diferencia significativa. Para determinar cuál o cuáles de los tratamientos evaluados son mejores que los demás, se utilizó el programa SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se describen los resultados y la discusión de la caracterización química, microbiológica y nutricional del hidrolizado entero y de la proteína hidrolizada concentrada obtenidos a partir de vísceras de trucha. Además, se presenta la evaluación del efecto de la inclusión de la proteína hidrolizada concentrada mediante separación mecánica en el proceso de extrusión de dietas, como una alternativa de alimentación para Tilapia. También se incluye la caracterización físico-mecánica de las dietas extruidas.

3.1 Caracterización química, microbiológica y nutricionalmente la proteína hidrolizada de vísceras de trucha.

Con el propósito de alcanzar este objetivo, se procedió a la caracterización exhaustiva de la proteína hidrolizada. Esto incluyó la monitorización diaria del proceso de hidrólisis de las vísceras de trucha, en el que se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

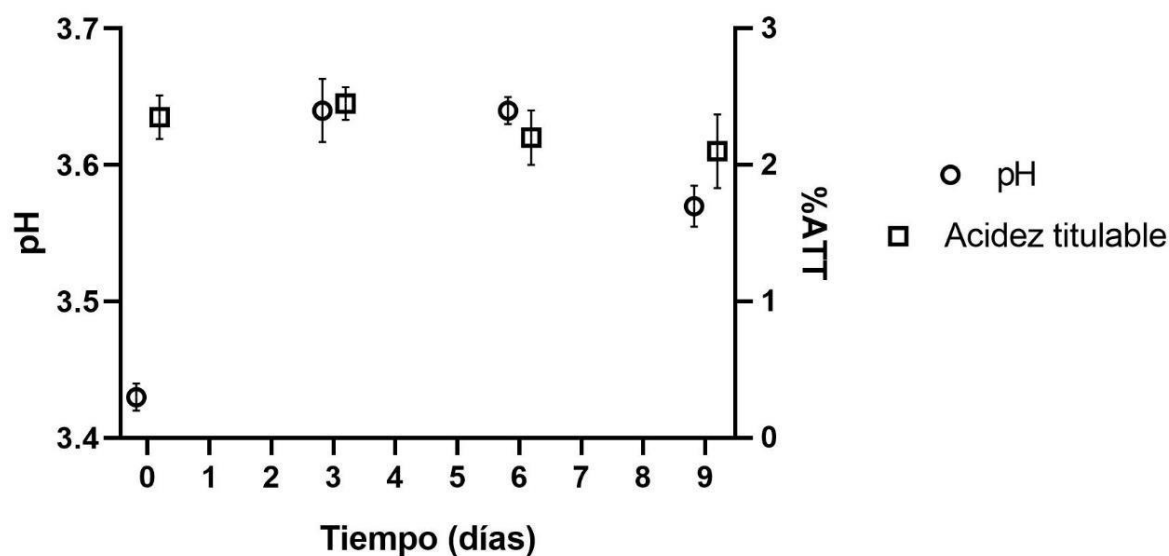
3.1.1 pH y acidez titulable.

Durante el monitoreo del pH, se observaron valores inferiores a 3,7, como se muestra en la Figura 26. Estos valores se debieron a la adición de ácido fórmico a las vísceras de trucha, el cual activa las enzimas endógenas (proteasas y lipasas) responsables de la ruptura de las cadenas peptídicas (Botero, 2012). Se notó un aumento en el pH desde el día 0 hasta el día 3, seguido de una variación hasta el día 9. Estos resultados son consistentes con los reportados por Perea et al. (2017), quienes obtuvieron pH menores a 3,1 en subproductos de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Este pH bajo contribuye a reducir la contaminación microbiana y la descomposición de los hidrolizados.

En relación a la acidez titulable, se obtuvieron resultados inferiores a 3, como se

observa en la Figura 21. A lo largo de los días, no se observó una variación significativa en estos valores, lo que indicaría una hidrólisis adecuada durante el proceso. Comparativamente, los datos concuerdan con los resultados reportados por Perea *et al.* (2022), quienes encontraron valores inferiores a 3,2 en hidrolizados de vísceras de trucha enteras. Además, se asemejan a los hallazgos de Bringas *et al.* (2018), quienes registraron valores de 2,43 en ensilaje fermentado de subproductos de tilapia. Este pH por debajo de 4,0 es suficiente para generar la acidez necesaria y prevenir el crecimiento de microorganismos indeseables que podrían afectar la calidad de los hidrolizados (Hoyos et al., 2018).

Figura 22. pH y acidez titulable en el hidrolizado.



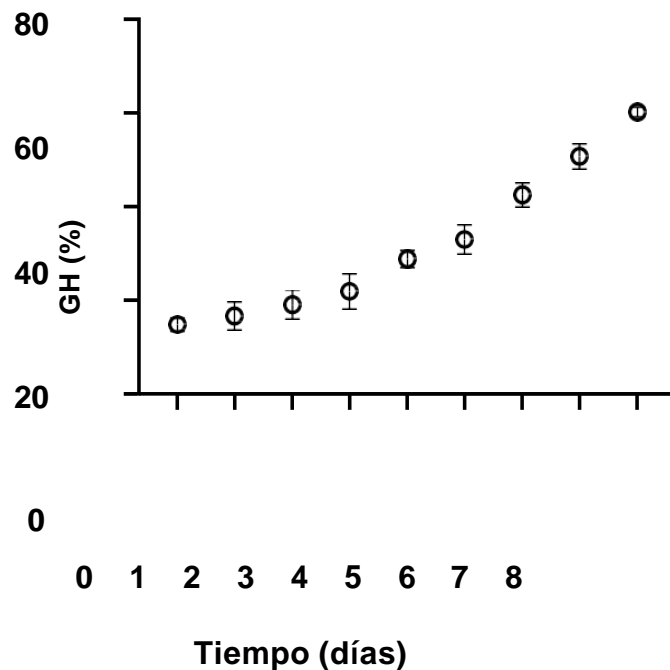
3.1.2 Grado de hidrólisis.

El grado de hidrólisis fue un parámetro clave durante el seguimiento, ya que determina las condiciones finales del proceso. Este parámetro establece el porcentaje de enlaces peptídicos hidrolizados en relación con la proteína original durante la reacción

enzimática. Su valor está influenciado por factores como la cantidad de sustrato, enzimas endógenas y pH (Lezama *et al.*, 2019). Como se muestra en la Figura 22, se observa un aumento a lo largo de los días. En el día 7, se alcanza un grado de hidrólisis del 50,62%, que es el requerido para continuar con el proceso de separación mecánica.

De acuerdo con Hoyos *et al.* (2018), a medida que se prolonga el tiempo de hidrólisis, se produce una mayor fragmentación de las proteínas. Esto conlleva a que las proteínas se vuelvan más solubles en el medio y presenten menos moléculas de grasa asociadas, gracias a la acción de la hidrólisis enzimática endógena. Se encontraron similitudes con los resultados reportados por Hoyos *et al.* (2018), quienes obtuvieron valores de 50 - 60% en el día 7 de hidrólisis para vísceras de trucha.

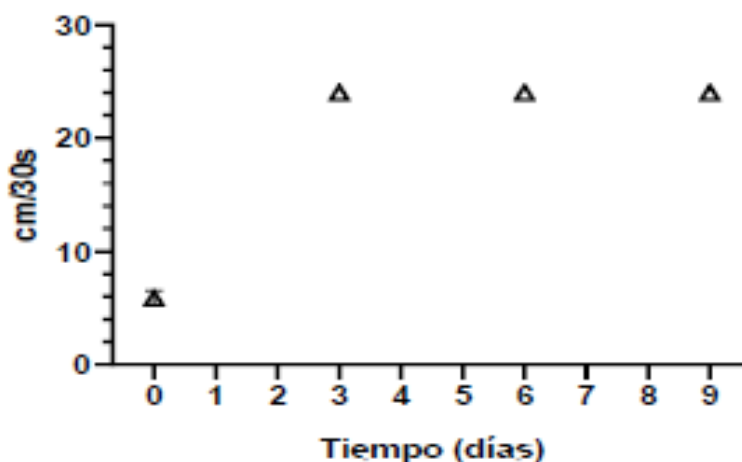
Figura 23. Porcentaje del grado de hidrólisis con respecto al tiempo



3.1.3 Consistencia.

En cuanto a la consistencia, se puede observar en la Figura 23 que en el día 0 se registra un valor de 5,85 cm/30s. Esto se debe a la estructura inicial de las vísceras al inicio del proceso de hidrólisis. En el día 3, el recorrido del hidrolizado en el consistómetro aumentó, llegando a 24 cm/30s, lo que indica una transición de consistencia desde semisólida hacia líquida. Este valor se mantuvo constante durante el resto del período de seguimiento. El cambio en la consistencia se originó debido al elevado grado de licuefacción observado en el hidrolizado de vísceras de trucha enteras, lo cual fue promovido por la acción de las enzimas proteolíticas presentes en las mismas (Spanopoulos *et al.*, 2010). Los resultados encontrados están en línea con los datos reportados por Perea *et al.* (2022), quienes obtuvieron un valor de 30 cm/30s en el hidrolizado de vísceras de trucha.

Figura 24. Consistencia del hidrolizado en relación con el tiempo.



3.1.4 Perfil microbiológico.

En el perfil microbiológico del hidrolizado de vísceras de trucha, no se registró recuento alguno de mesófilos, mohos, levaduras ni coliformes totales. Esto confirma lo que ha sido reportado por Hoyos *et al.* (2018), quienes señalan que al lograr una acidez suficiente, tal como se observa en este estudio, se previene la proliferación de microorganismos indeseables. Es importante destacar que los hidrolizados químicos muestran un mejor comportamiento debido a la adición de ácido fórmico, lo que conduce a condiciones microbiológicas desfavorables a pH inferiores a 4,5 (Ramasubburayan *et al.*, 2013).

3.1.5 Nitrógeno básico volátil total (NBVT).

Es un parámetro ampliamente utilizado para evaluar el grado de frescura del pescado y sus derivados. Niveles elevados de este parámetro son indicativos de un crecimiento bacteriano y de la descomposición de aminoácidos, lo que puede resultar en la producción de amoníaco y en una disminución en la calidad de la proteína (Raeesi *et al.*, 2021). En los resultados obtenidos de la prueba de determinación de NBVT realizada al inicio y al final de la hidrólisis en el hidrolizado de vísceras de trucha, no se detectó la presencia de nitrógeno básico volátil total ni deterioro. Esto posiblemente se deba a la adición de ácido fórmico a las vísceras de trucha, lo cual ocasiona la disminución del pH y, como resultado, la proliferación de microorganismos se ve inhibida (Perea *et al.*, 2021).

3.2 Caracterización nutricional del hidrolizado entero de vísceras de trucha.

A continuación, en la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos del análisis proximal del hidrolizado completo de vísceras de trucha al finalizar el proceso de hidrólisis (GH 50-55%).

Tabla 3. Análisis proximal del hidrolizado entero con grado de hidrólisis de 50-55%.

Grado de hidrólisis	HVT ¹ 50-55%
Materia seca (%)	27,7 ± 0,42
Proteína (%)	42,74 ± 0,80
Extracto etéreo (%)	46,22 ± 1,13
Cenizas (%)	5,86 ± 0,41
Energía Bruta (Kcal/Kg)	4533,4±227,3
Fibra (%)	0,01 ± 0
Extracto no nitrogenado (ENN)	6,04 ± 1,31

¹ Hidrolizado de vísceras de trucha, *Valores expresados en base seca.

En relación a los resultados del análisis proximal obtenidos del hidrolizado completo de vísceras de trucha, con un grado de hidrólisis de 50-55%; se observa que el extracto etéreo es el nutriente con el mayor porcentaje de la materia seca. Esto se debe principalmente a la presencia de grasa que rodea las vísceras y los órganos internos, compuesta por ácidos grasos saturados (palmítico y oleico) y poliinsaturados (linoleico y linolénico), siendo los poliinsaturados, y en particular el linolénico, los que presentan el contenido más elevado (Hoyos et al., 2018).

A continuación, la proteína es el siguiente componente con mayor proporción. Su contenido suele reflejar la calidad de la materia prima, siendo una biomolécula que tiene un impacto significativo en los costos de producción de alimentos para peces (Chalamaiah et al., 2012). Los hidrolizados enteros representan una excelente fuente de proteína, ya que al final del proceso de hidrólisis se obtiene una mezcla de proteínas hidrolizadas y péptidos de diversas tamaños y características (Abdelhedi & Nasri, 2019).

En un estudio realizado por Bardales et al. (2018), se reportaron valores inferiores de proteína (22,05%) y extracto etéreo (18,91%) en hidrolizado de vísceras de trucha.

En términos de cenizas, se registró un valor de 5,86%, que representa la fracción inorgánica de los hidrolizados de vísceras de trucha. Está compuesta por minerales como calcio y fósforo, esenciales para el desarrollo y crecimiento de los animales, ya que intervienen en la formación de proteínas, lípidos y en la activación de enzimas (Salazar *et al.*, 2019). En otro estudio de hidrólisis enzimática de vísceras de trucha realizado por Zapata et al. (2019), se encontró un valor inferior de cenizas, 3,17%.

El contenido de fibra se mantuvo por debajo del 1%, dado que el hidrolizado es de origen animal y carece de carbohidratos estructurales en comparación con las materias primas vegetales (López & Salas, 2021).

La determinación de la energía bruta arrojó un valor de 4533,4 kcal/kg en el hidrolizado completo de vísceras de trucha. Este aporte energético elevado está vinculado a los macronutrientes presentes en el hidrolizado (grasa, proteína y carbohidratos) (Carbajal, 2020). Niveles altos de energía en las dietas pueden llevar a un menor consumo de alimento y, por ende, de los nutrientes esenciales para el desarrollo adecuado de los animales. Por otro lado, valores bajos de energía en la dieta pueden impulsar al animal a utilizar la proteína para satisfacer sus necesidades energéticas, lo que puede afectar la síntesis de músculo y tejidos (Chu-Koo *et al.*, 2016). En un estudio llevado a cabo por López & Masías (2021), se encontraron resultados superiores en energía bruta y fibra, con valores de 5520 kcal/kg y 0,35% respectivamente, en hidrolizado de vísceras de trucha.

Es importante mencionar que, en contraste con los datos reportados por otros autores, el alto porcentaje de extracto etéreo encontrado en este estudio puede representar una limitación para su inclusión en las dietas. Por lo tanto, se requerirá su reducción para posibilitar su uso. Además, factores como el tiempo de hidrólisis y la calidad de la

materia prima pueden influir en los resultados de la caracterización nutricional del hidrolizado.

3.3 Proteína hidrolizada concentrada por separación mecánica.

Debido a los elevados contenidos de extracto etéreo reportados en la tabla 2, se llevó a cabo un proceso de separación mecánica con el objetivo de concentrar la proteína y reducir la fracción lipídica de los hidrolizados enteros. Para lograr esto, se emplearon dos equipos de separación mecánica: un separador centrífugo y una centrífuga.

3.3.1 Obtención de proteína hidrolizada concentrada.

En la Tabla 3 se muestran los resultados en cuanto al proceso de obtención de la proteína hidrolizada concentrada.

Tabla 4. Valores del proceso de separación mecánica.

Equipo	Peso muestra(g)	Revoluciones por minuto (RPM)	Tiempo (min)	Aceite (g)	Solidode interés (proteína (g))	Residuos (g)	Rendimiento total (%)
Separador centrífugo	2000	5010	22,57	201,5	1532,6	86,04	6,4
Centrífuga	1532,6	4500	10	13,32	128,78	1354,41	Centrífuga

Con respecto a la separación mecánica para obtener la proteína hidrolizada concentrada, se logró un rendimiento del 6.4% en todo el proceso. Este resultado se obtuvo gracias al preacondicionamiento inicial del hidrolizado mediante un baño maría a 50°C durante 15 minutos, lo que contribuyó a una mejor separación. Este preacondicionamiento generó un aumento en la energía térmica, lo que a su vez superó las fuerzas viscosas con la energía cinética, reduciendo así la viscosidad (Talens et al., 2017). Este proceso optimizó el rendimiento en el separador centrífugo, resultando en

una fase más densa con un contenido de lípidos del 15% en base seca. Dado este contexto, se hizo necesario utilizar una centrífuga para separar sólidos y líquidos con diferentes densidades mediante fuerza giratoria. Esto permitió disminuir la cantidad de lípidos y concentrar la proteína hidrolizada, preparándola para su inclusión en las dietas.

3.3.2 Caracterización de la proteína hidrolizada concentrada.

A continuación, se presentan los resultados de la caracterización de la proteína hidrolizada concentrada. En comparación con los resultados anteriores del análisis proximal del hidrolizado entero con un grado de hidrólisis del 50-55%, reportados en la tabla 2, se observa que la proteína hidrolizada concentrada exhibió propiedades mejoradas, como se muestra en la tabla 5, en términos de contenido de proteína y grasa.

Tabla 5. Caracterización de la proteína hidrolizada concentrada

Proteína hidrolizada concentrada (GH I 50-55%)	
Materia seca inicial (%)	8,53 ± 0,56
Proteína bruta (%)	67,66 ± 0,84
Extracto etéreo (%)	7,21 ± 0,25
Proteína soluble en KOH (%)	96,02 ± 1,07
Nitrógeno total volátil	No detectado
Digestibilidad in vitro (%)	90,71 ± 0,56

I Grado de hidrólisis. *Valores expresados en base seca.

Gracias a los procesos de separación, se logró alcanzar un contenido de proteína con un valor de 67,66%. Del mismo modo, se redujo la cantidad de extracto etéreo, obteniendo un valor de 7,21%, lo cual resulta ideal para su inclusión en dietas. Este estudio evidencia que la separación mecánica fue un factor clave para maximizar el aprovechamiento del hidrolizado de vísceras de trucha, generando un producto con un

alto valor nutricional en términos de proteína. Esto lo hace apto para sustituir la harina de pescado, ya que su composición nutricional es similar en cuanto a proteína y extracto etéreo, con valores de 63,20% y 6,81%, según lo indicado por Hoyos *et al.*, (2018).

En relación a la proteína soluble, se obtuvo un resultado del 96,02%, lo cual es un valor elevado. Esto se debe principalmente al hecho de que a medida que aumenta el grado de hidrólisis enzimática, disminuye el tamaño molecular de los péptidos en los hidrolizados, aumentando así su solubilidad (Vásquez *et al.*, 2022). Al comparar estos resultados con otras investigaciones, se observa concordancia con lo reportado por Vásquez *et al.*, (2022), donde los hidrolizados de vísceras de trucha arcoíris con un grado de hidrólisis superior al 15% presentan una buena solubilidad (>64%). Además, la solubilidad encontrada en la proteína hidrolizada concentrada está dentro del rango reportado para los hidrolizados de proteína de pescado, que oscila entre el 43,50% y el 99,30% (Halim *et al.*, 2016).

En relación a la digestibilidad *in vitro* de la proteína hidrolizada concentrada, se obtuvo un valor de 90,71%, lo cual indica una alta absorción y un mayor aprovechamiento nutricional de la proteína en las tilapias. Estos resultados son similares a los reportados por Hoyos *et al.*, (2018), quienes expresaron un porcentaje de digestibilidad *in vitro* con pepsina en la harina proteica de subproductos de trucha arcoíris de 91,24%.

También se encontraron datos comparables a los reportados por Vásquez *et al.*, (2020), quienes obtuvieron un valor de digestibilidad *in vitro* del 92% en el hidrolizado de vísceras de rodaballo. Por lo tanto, se observan diferencias en términos de la digestibilidad de la proteína hidrolizada concentrada en comparación con la harina de pescado convencional, que tiene una digestibilidad del 80,17% (Hoyos *et al.*, 2018).

3.4 Efecto de la inclusión de la proteína hidrolizada de vísceras de trucha concentrada por separación mecánica en la extrusión de dietas para tilapia.

Para llevar a cabo este objetivo, se procedió a formular las dietas destinadas a la alimentación de tilapias en la fase de engorde. Estas dietas fueron diseñadas con distintos niveles de inclusión de la proteína hidrolizada concentrada de vísceras de trucha. A continuación, se llevó a cabo el proceso de extrusión con el propósito de evaluar cómo este proceso afecta las propiedades físico-mecánicas de los pellets resultantes.

3.4.1 Costo de la elaboración de las dietas.

Para calcular el costo por kilogramo de las cinco dietas, se consideró el valor comercial de todas las materias primas utilizadas, así como el costo de la obtención de la proteína hidrolizada concentrada de vísceras de trucha que se empleó en la formulación. Los detalles de estos costos se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Costos de las dietas con inclusión de proteína hidrolizada concentrada.

Materia prima	T1 \$/kg	T2 \$/kg	T3 \$/kg	T4 \$/kg	T5 \$/kg
Total \$/kg	3163	2950	2779	2587	2406

En la Tabla 6 se observa que los costos por kilogramo disminuyen a medida que aumenta el porcentaje de inclusión de proteína hidrolizada concentrada. En particular, la dieta T5 presenta una reducción de hasta un 24% en comparación con la dieta control (T1). Le siguen las dietas T4, T3 y T2 con ahorros de 18,22%, 12,15% y 6,74%, respectivamente. Esta tendencia se debe en gran medida al elevado costo de la harina

de pescado, que influye de manera significativa en el valor comercial de las dietas. En consecuencia, la inclusión de proteína hidrolizada concentrada se presenta como una alternativa atractiva debido a su menor costo de obtención.

3.4.2 Proceso de extrusión de las dietas para tilapia.

En la extrusión de las distintas dietas para tilapia, se consideró inicialmente que los pellets tuvieran una humedad homogénea, que fue mantenida por debajo del 7%, de acuerdo a los datos presentados por Gaddum (2015). En dicho estudio, se informa que la humedad inicial de las harinas utilizadas en las dietas antes de la extrusión era de 3,86%.

La velocidad del tornillo, la temperatura y el tamaño del dado (144 rpm, 125°C, 4 mm) fueron variables críticas en el proceso, ya que fueron ajustadas para evitar el atasco de la mezcla en el extrusor y garantizar la formación adecuada de los pellets. Los resultados obtenidos se asemejaron a los reportados por Rodríguez et al., (2014), quienes emplearon un dado de salida circular de 3 mm, una temperatura en el rango de 120 a 150°C, manteniendo constantes las zonas de calentamiento, y una velocidad constante de tornillo de 100 rpm.

La cantidad de grasa en la formulación de las dietas desempeñó un papel crucial en el proceso de extrusión. Un contenido de grasa superior al 7% puede reducir la fricción generada por el tornillo, lo que provoca un deslizamiento de la mezcla a lo largo del barril del extrusor. Este fenómeno puede disminuir la expansión de los pellets, afectando aspectos como su flotabilidad y dureza, ya que los pellets tienden a volverse más quebradizos en estas condiciones (Fellows, 2017; Riaz & Rokey, 2012).

Posteriormente, se procedió a realizar un proceso de secado en un secador industrial con corriente de vapor a una temperatura de 50°C, con el objetivo de reducir la humedad de los pellets a un nivel inferior al 7%. Los resultados coinciden con los datos

presentados por Gaddum (2015), quien menciona que los valores de humedad de salida de los pellets deben mantenerse por debajo del 4%, lo cual contribuye a prevenir el crecimiento de hongos y bacterias durante el almacenamiento.

3.4.3 Evaluación de las características físico-mecánicas para determinar el efecto de la inclusión de proteína hidrolizada en el proceso de extrusión.

Se evaluaron las características físico-mecánicas de los pellets extruidos con diferentes porcentajes de inclusión de la proteína hidrolizada concentrada de vísceras de trucha arcoíris, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 7.

Tabla 7. Resultados de las propiedades físicas y mecánicas de los pellets extruidos

Tratamientos	Flotabilidad (%)	Índice de absorción de agua (g de agua absorbida/g b.s)	Durabilidad (%)	Compresión (N)
T1	6±0,03 ^b	2,77±0,27 ^{ab}	95,55±0,28 ^a	8,62±2,84 ^b
T2	1±0,00 ^b	2,86±0,10 ^a	74,71±0,66 ^d	28,83±9,66 ^a b
T3	7±0,05 ^{ab}	2,31±0,05 ^c	92,78±0,15 ^b	36,59±14,80 a
T4	15±0,04 ^a	2,39±0,08 ^{bc}	94,19±0,43 ^a b	38,87±7,22 ^a
T5	1±0,01 ^b	2,17±0,13 ^c	88,76±2,02 ^c	34,63±2,97 ^a

T1: 0% PHC; T2: 75% HP 25% PHC; T3: 50% HP 50% PHC; T4: 25% HP 75% PHC; T5: 100 PHC. Los valores con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ($\alpha < 0,05$)

El análisis de varianza ANOVA (anexo A, B, C y D) muestra diferencias significativas ($Pr > F$) entre los tratamientos en las pruebas de flotabilidad, índice de absorción de agua, durabilidad y dureza.

Flotabilidad. De acuerdo a la información proporcionada por la prueba de Tukey (Anexo A), la cual agrupó los tratamientos en dos subconjuntos con diferencias significativas entre ellos, tal como se observa en la tabla 7. En este estudio, se observaron valores bajos de flotabilidad, con porcentajes del 6%, 1%, 7%, 15% y 1% para los tratamientos T1, T2, T3, T4 y T5 respectivamente. La flotabilidad constituye un parámetro físico de gran relevancia en la alimentación de la Tilapia roja. Un pellet flotante se caracteriza por su expansión y menor densidad en comparación con un pellet que se hunde (Kanmani et al., 2018). Es posible que estos porcentajes se hayan visto afectados por la inclusión de diversas materias primas en la formulación de las dietas, como señala Della Valle *et al.*, (1997) citado por Kamarudin *et al.*, (2018).

Durante el proceso de extrusión, tanto la proteína como el almidón contenidos en las dietas experimentan procesos de coagulación y gelatinización respectivamente, dependiendo de la intensidad del tratamiento térmico aplicado. Sin embargo, en este estudio, el extrusor representó una limitante debido a su carácter industrial y su gran tamaño. Debido a la escasa cantidad de muestra, no fue posible realizar los ajustes necesarios para lograr que los alimentos flotaran. Por lo general, se requiere una cantidad más significativa de dietas para facilitar estos ajustes en el equipo extrusor. Ahmad et al., (2019) sostienen que a medida que disminuyen la temperatura, presión y tiempo de procesamiento, las transformaciones en las macromoléculas son menores, lo que resulta en una menor expansión de los pellets y una mayor velocidad de hundimiento. Además, la adición de proteína hidrolizada concentrada (PHC) puede reducir la formación de estructuras porosas y, por ende, la expansión de los pellets, lo que se traduce en una menor flotabilidad. Carmona et al., (2022) informaron que el 60% de los pellets flotaron durante más de 40 minutos en alimentos para peces elaborados con residuos agroindustriales mejorados con *Spirulina* spp.

Índice de absorción de agua (IAA). El Índice de Absorción de Agua (IAA) está vinculado a la cantidad de agua absorbida por los gránulos de almidón durante el proceso de extrusión, y puede estar influenciado por el grado de gelatinización del

almidón mismo (Rodríguez et al., 2014; Bisharat et al., 2013). En relación a la tabla 7, se realizó un análisis de varianza ANOVA (Anexo B) para evaluar la prueba de absorción de agua. Gracias al Test de Tukey (Anexo B), se observaron datos estadísticamente similares entre los tratamientos T3, T4 y T5, los cuales presentan niveles de inclusión de proteína hidrolizada concentrada del 50%, 75% y 100%, respectivamente. De manera similar, los tratamientos T1 y T2, con inclusión del 0% y 25% de proteína hidrolizada concentrada, mostraron valores semejantes.

Esto demuestra que en las dietas con mayores niveles de inclusión de proteína hidrolizada concentrada, el valor del Índice de Absorción de Agua fue más bajo en comparación con las dietas con menor inclusión. Resultados similares se encontraron en un estudio de Rodríguez *et al.*, (2014), en el cual se elaboraron dietas con reemplazo de harina de pescado por harina de frijol, con niveles de inclusión de (15%, 30%, 45%), y se obtuvieron valores de IAA (1,99, 2,23, 2,00), donde a medida que aumentaba el porcentaje de inclusión de harina de frijol, el IAA disminuía. Es importante tener en cuenta que estas comparaciones se hacen considerando formulaciones diferentes.

Durabilidad. La prueba de durabilidad nos permitió evaluar la calidad de los pellets, ya que durante su transporte son propensos a desintegrarse en operaciones como la carga de material en silos o camiones, el flujo gravitacional al salir de los silos y la transferencia en bandas transportadoras. Esto podría ocasionar roturas y generar partículas pequeñas y polvo. Además, es crucial que los pellets tengan una buena durabilidad para evitar que se desintegren o disuelvan rápidamente en el agua antes de que los peces los consuman (Oveisi *et al.*, 2013; Jaelani *et al.*, 2016).

Los resultados obtenidos a través de la prueba de Tukey (Anexo C) se presentan en la tabla 7, donde se observan las diferencias significativas entre los tratamientos. Se encontraron similitudes entre T4, T1 y T3, ya que estos mostraron los mayores porcentajes de durabilidad, con valores superiores al 92%. Sin embargo, el valor más

bajo se obtuvo en el T2, con un porcentaje de 74,71%. Es importante destacar que los resultados de esta prueba son favorables, ya que los pellets con porcentajes de durabilidad superiores al 90%, y al menos un 80%, demuestran buena calidad y resistencia a la manipulación, según Foenay & Koni (2021). Es relevante mencionar que el porcentaje de inclusión de proteína hidrolizada concentrada en las dietas también influyó en los resultados obtenidos. Se encontraron resultados similares a los reportados por Sorensen (2012), quien presentó valores de durabilidad en alimentos para peces entre 92,62% y 75,64% en su estudio.

Compresión (N). Con base en los datos obtenidos del Test de Tukey (Anexo D), que dividió los tratamientos en dos subconjuntos distintos, se encontraron diferencias significativas entre ellos. Los tratamientos que incorporaron sustitución parcial o completa de la harina de pescado presentaron valores más elevados en comparación con el tratamiento control, que contenía 100% de harina de pescado. Esto se debe a que la adición de la PHC conlleva a una menor formación de poros, resultando en pellets más densos y de mayor dureza. Durante el proceso de extrusión, se generan cambios en las estructuras de los alimentos, incluyendo la ruptura de cadenas de aminoácidos y la interacción con otros nutrientes. Esto aumenta el contenido de péptidos y aminoácidos en el producto extruido, contribuyendo a la formación de una red intermolecular a través de enlaces iónicos y de hidrógeno. Por lo tanto, la PHC puede actuar como plastificante y aglutinante durante la extrusión de alimentos para peces (Ahmad *et al.*, 2019; Samuelsen y Oterhals, 2016; Samuelsen *et al.*, 2013).

Un estudio llevado a cabo por Sumardiono & Siqhny (2019) utilizó un agente aglutinante compuesto por 10% de tapioca gelatinizada en alimentos para peces elaborados a partir de residuos de soja y camarones, logrando valores de dureza de 32,06 N. De manera similar, Ahmad *et al.*, (2019) reportaron valores medidos que variaron entre 136,2 y 244,5 N al utilizar concentrado de proteína de pescado para

examinar su influencia en la viscosidad aparente y en las propiedades físicas del concentrado de proteína de soya sometido a tratamiento termomecánico.

3.4.4 Comparación físico-mecánica entre el tratamiento 4 y alimento comercial.

Se seleccionó el tratamiento más óptimo según el diseño experimental de la tabla 8, en este caso la dieta con un 75% de inclusión de proteína hidrolizada concentrada. Esta dieta demostró un mejor desempeño en términos de las propiedades físico-mecánicas evaluadas. Posteriormente, este tratamiento se comparó con un alimento comercial destinado para la alimentación de tilapias en fase de engorde, específicamente el alimento llamado "Tilapia 24" de la empresa Agrinal Colombia S.A. En los análisis de varianza (ANOVA) realizados (Anexo E, F, G, H), se observaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 8. Resultados de las pruebas físico-mecánicas del T4 vs comercial

Pruebas	T4	Comercial
Flotabilidad (%)	15 ^b	100 ^a
Índice de absorción de agua	2,39 ^b	2,92 ^a
Durabilidad (%)	94,19 ^a	93,51 ^a
Compresión (N)	38,87 ^a	22,116 ^b

T4: 25% HP 75% PHC. Los valores con letras diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes ($\alpha < 0,05$)

Se evidenció que en la prueba de flotabilidad, los dos tratamientos presentaron diferencias significativas. Los pellets del alimento comercial flotaron durante las tres horas en el agua, es decir, un 100% de flotabilidad. En contraste, para la dieta con un 75% de inclusión de proteína hidrolizada, solo flotó en un 15%. Esta baja flotabilidad

en el tratamiento puede ocasionar la desintegración del pellet en el agua, lo que conlleva a un desperdicio de alimento y una ineficiencia en la producción (Ortega, 2018).

En relación al índice de absorción de agua, se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Estas diferencias pueden deberse a variaciones en el grado de gelatinización del almidón, influenciado por las condiciones de proceso y las materias primas utilizadas en las dietas. En la prueba de durabilidad, no se observaron diferencias entre los tratamientos, ya que ambos obtuvieron porcentajes altos de durabilidad, considerados como pellets de alta calidad, superiores al 80% según Foenay & Koni (2021).

En cuanto a la prueba de compresión, se encontraron diferencias significativas. La dieta con un 75% de inclusión de proteína hidrolizada presentó un valor de 38,87, mientras que el alimento comercial registró 22,11. Esta diferencia está relacionada con la adición de la proteína hidrolizada concentrada, la cual genera aglutinamiento y, por ende, mayor dureza en los pellets. Esto requiere una mayor fuerza para comprimir los pellets en comparación con el alimento comercial, que presenta una menor dureza.

Es importante destacar que ambas dietas fueron elaboradas en un extrusor industrial. Muchas investigaciones carecen de acceso a equipos de extrusión industrial, lo que puede afectar su relevancia directa para los fabricantes de piensos en la industria acuícola (Turchini et al., 2019).

4. CONCLUSIONES

El proceso de separación mecánica resulta fundamental en la obtención de proteína hidrolizada concentrada, ya que permite concentrar la proteína hasta un 67,66% y reducir el contenido de extracto etéreo hasta un 7,21% en comparación con el hidrolizado original. Esto facilita su inclusión en las dietas de manera efectiva.

La proteína hidrolizada concentrada obtenida demuestra un alto valor nutricional en términos de proteína y grasa. Además, exhibe una digestibilidad in vitro del 90,71% y una solubilidad proteica del 96,02%, características cruciales que la convierten en una materia prima de alta calidad.

Al incrementar la proporción de proteína hidrolizada concentrada de vísceras de trucha en las dietas de Tilapia roja en fase de engorde, se logra una reducción significativa en los costos, llegando incluso hasta un 24%. En consecuencia, la inclusión de proteína hidrolizada concentrada en las dietas resulta en una opción de menor costo en comparación con la dieta control.

La proteína hidrolizada concentrada obtenida a través del proceso de separación mecánica se perfila como un sustituto viable, ya sea parcial o total, de la harina de pescado. Esta sustitución influye en las propiedades físico-mecánicas de los pellets extruidos, logrando características aceptables en general. Aunque es importante resaltar que la flotabilidad podría mejorarse mediante la variación de los niveles de humedad en las dietas y los ajustes de las variables del proceso de extrusión, como la temperatura y la velocidad del tornillo.

5. RECOMENDACIONES

Para mejorar la comprensión y el alcance del estudio, se sugiere ampliar la investigación realizando una serie de ensayos más exhaustivos durante la etapa de extrusión de los pellets. Estos ensayos podrían involucrar la variación de diferentes variables y condiciones en este proceso, tales como la humedad inicial de las dietas, distintos rangos de temperatura dentro del extrusor, variaciones en la velocidad del tornillo y modificaciones en el proceso de secado final de los pellets. Estos factores tienen un impacto significativo en las propiedades físico-mecánicas finales de los pellets resultantes.

Además, se recomienda llevar a cabo pruebas adicionales en los pellets ya elaborados para evaluar parámetros de calidad adicionales. Estos podrían incluir la determinación de la densidad específica de los pellets, su estabilidad en agua, el índice de absorción y la porosidad. Estos resultados brindarán información valiosa para abordar y mejorar la baja flotabilidad que se identificó en este estudio.

Otra medida importante sería llevar a cabo un análisis proximal en los pellets obtenidos después del proceso de extrusión. Este análisis permitiría evaluar la calidad nutricional de los pellets tras el proceso, asegurando que no haya una pérdida significativa del valor nutricional. Esta evaluación adicional garantizará que los pellets mantengan su calidad y valor nutricional a lo largo del proceso de extrusión.

BIBLIOGRAFIA

ABDELHEDI, O., & NASRI, M. Basic and recent advances in marine antihypertensive peptides: Production, structure-activity relationship and bioavailability. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 543-55. 2019.

AFRIANTO, E. EVI LIVIAWATY, JUNIANTO, IIS ROSTINI, SUBIYANTO. Physicochemical Characteristics Fish Protein Concentrate from *Cyprinus carpio*. IJAST. 169 -173. 2020 [en línea] [Citado el 6 de septiembre del 2022] Disponible en: <http://sersc.org/journals/index.php/IJAST/article/view/8847>

AGUDELO, C., ORTEGA, R. & HOYOS, J. Determinación de parámetros cinéticos de dos inóculos lácticos: *Lactobacillus plantarum* A6 y bacterias ácido lácticas de yogurt. *Biotecnología en el Sector agropecuario y agroindustrial*, vol 8 (2), 10 - 14. 2010.

AHMAD, R., OTERHALS, Å., XUE, Y., SKODVIN, T., & SAMUELSEN, T. A. Impact of fish protein concentrate on apparent viscosity and physical properties of soy protein concentrate subjected to thermomechanical treatment. *Journal of Food Engineering* 259, 34-43. 2019.

ALZATE, J. C., & AGRONEGOCIOS, M. en I. prospectiva de la piscicultura en Colombia., Medellin, (Tesis de maestría) *Universidad Pontificia Bolivariana*. Escuelade Ingenierías. 2018 [en línea]. [Citado el 20 mayo del 2022]. Disponible en: <https://repository.upb.edu.co/handle/20.500.11912/4574>

ARROYO, M. Aprovechamiento de la harina de *Plecostomus spp.* Como ingrediente en alimento para el crecimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*). (Tesis de maestría). Jiquilpan, Mechoacán, México. 134 p. 2008 [en línea]. [Citado el 20 mayo del 2021]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/12228/1/ARROYO%20DAMI%C3%81N%20MIRIAM%20-%20B051661.pdf> 20 - 08 - 2019

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis. 15 ed. Virginia (USA) Association of Official Analytical Chemists. 1298 p. 1990-2006

BARDALES, J.A.S; CAMPOS, C.A.B; SEGURA, J.L.C. Evaluación de niveles de ensilado fijado y seco de vísceras de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) en el crecimiento y engorde de cuyes (*Cavia porcellus*). En Anales científicos. Universidad Nacional Agraria La Molina. p. 443-448. 2018.

BERMAN, A. Optimización del proceso de extrusión para la elaboración de pellets para alimentación de tilapia (*Oreochromis niloticus*) en Zamorano. (Tesis de pregrado). Zamorano, Honduras. 35 p. 2007 [en línea] [Citado el 17 de mayo de 2021] Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/567/1/T2366.pdf> 28 - 08 – 2019.

BISHARAT, G. I., OIKONOMOPOULOU, V. P., PANAGIOTOU, N. M., KROKIDA, M. K., & MAROULIS, Z. B. Effect of extrusion conditions on the structural properties of corn extrudates enriched with dehydrated vegetables. *Food research international*, 53(1), 1-14. 2013.

BOTERO, C. “Aprovechamiento nutritivo de núcleos ensilados de vísceras de pollo en híbridos de cachama *Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomun*”, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, Palmira Colombia, (Tesis de maestría), 2012. [en línea] [Citado el 20 de junio de 2022] Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/20130>.

BRINGAS, A, L., ZAMORANO, O, A., ROJO, R, J. B., LIZETT, G, F, M., PÉREZ, V, M., LUIS CÁRDENAS, L, J., & NAVARRO, G. Evaluation of a Fermented Silage from Tilapia By-Products and Its Utilization As a Feed Ingredient for Catfish. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*, 10(2), 85–94. 2018.

CALDERÓN, M. Análisis del proceso productivo de tilapia (*Oreochromis sp.*) en la estación experimental Monterrico del centro de estudios mar y acuicultura (CEMA). 2018 [en línea] [Citado el 20 de julio de 2021], disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/9957/>

CARBAJAL, Ángeles, et al. Proceso de Atención Nutricional: Elementos para su implementación y uso por los profesionales de la Nutrición y la Dietética. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, vol. 24, no 2, p. 172-186. 2020.

CARMONA, J., MONTOYA, J. & CASTAÑO, G. Digestibilidad aparente de cuatro concentrados empleados durante el levante *Oreochromis sp.* Invest Unisarc. Vol 10 (2), 15–21. 2012.

CARMONA, R., M., RENDÓN-CASTRILLÓN, L., OCAMPO-LÓPEZ, C., & SÁNCHEZ-OSORNO, D. Fish Food Production Using Agro-Industrial Waste Enhanced with *Spirulina sp.* *Sustainability*, 14(10), 6059. 2022.

CASTELLÓ GÓMEZ, M. L., PÉREZ ESTEVE, E., BARRERA PUIGDOLLERS, M.C., BETORET VALLS, N., & ANDRÉS GRAU, A. M. Centrifugación industrial. [en línea] 2021. [citado el 21 de junio de 2021] Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/167683>

CENTRO DE INFORMACIÓN TECNOLÓGICA Y APOYO A LA GESTIÓN DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL (CIGEPI). TRUCHA Y TILAPIA, aprovechamiento de subproductos. 2018 [en línea]. [Citado el 20 de junio de 2021]. Disponible en: https://www.sic.gov.co/sites/default/files/files/Propiedad%20Industrial/Boletines_Tecnologicos/Trucha_tilapia_boletin.pdf

CHALAMAIAH, M., DINESH KUMAR, B., HEMALATHA, R., & JYOTHIRMAYI, T. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020– 3038. 2012.

CHU-KOO, F. W., CAMARGO, W. N., ALVÁN-AGUILAR, M. A., TRUSHENSKI, J., & KOHLER, C. C. Coefficients of energy and nutrient apparent digestibility of three raw and cooked alternative plant ingredients for *Colossoma macropomum* and *Piaractus brachypomus* (serrasalminidae). *Folia Amazónica*, 25(1), 83. 2016.

CINC (Costner Industries Nevada Corporation) (1999). Liquid-Liquid Centrifugal Separator V-02 [Equipo] <http://www.cincind.com/index.php/v02/v02-manuals>

COMISIÓN EUROPEA - REGLAMENTO (CE) N° 1022/2008 DE LA COMISIÓN de 17 de octubre de 2008 por el que se modifica el Reglamento (CE) N° 2074/2005 en lo que

respecta a los valores límite de nitrógeno básico volátil total (NBVT). Recuperado de <https://www.boe.es/doue/2008/277/L00018-00020.pdf> 19-08-2019

CUATIN INGUILAN, M. Evaluación de la impregnación al vacío de una proteasa en un alimento extruido para tilapia roja (*Oreochromis sp*) en fase de alevinaje. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 129 páginas + anexos. 2020 [en línea] [Citado el 9 de agosto del 2022] Disponible en: <http://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/80398/1061719053.2020.pdf?sequence=2&isAllowed=y>

DAUDA, A. B., AJADI, A., TOLA-FABUNMI, A. S., & AKINWOLE, A. O. Waste production in aquaculture: Sources, components and managements in different culture systems. *Aquaculture and Fisheries*, 4(3), 81-88. 2019.

DE CRUZ, C. R., et al. Effects of extruder die temperature on the physical properties of extruded fish pellets containing taro and broken rice starch. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 199, p. 137-145 2015.

DELLA VALLE, G., VERGNES, B., COLONNA, P., & PATRIA, A. Relations between rheological properties of molten starches and their expansion behaviour in extrusion. *Journal of Food Engineering*, 31(3), 277-295. 1997

Evans, C. E.; Kort, R. N.; Saensukjaroenphon, M.; Wecker, H. K.; Paulk, C. B.; and Stark, C. R. "The Effects of Filter Type and Warm-Up Time on Pellet Durability Index Using the Holmen NHP100 Portable Pellet Tester," *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*: Vol. 5: Iss. 8. 2019.

Fellows, P.J. 17 - Extrusion cooking. Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Food Processing Technology (Fourth Edition), Woodhead Publishing, Pages 753-780, 2017

FERIZ, DANIEL & CALVACHE, MARLEN & ANANCONA, HERNAN. Generación de abonos orgánicos a base de residuos de fincas truchícolas en el municipio de Silvia, Cauca, Colombia. *ConCiencia*. Vol 8. 46-63. 2018.

FOENAY, T. A. Y., & KONI, T. N. I. Study on the Physical Quality of Complete Rabbit Feed Pellets Using Different Forage Protein Sources. *Jurnal Sain Peternakan*

Indonesia, 16(4), 322-327. 2021.

GADDUM, J, P. Desarrollo tecnológico de alimentos extruidos para peces en etapa inicial (Tesis de maestría) 2015 [en línea] [Citado el 12 de junio del 2022] Disponible en: <https://repositorioinstitucional.uabc.mx/bitstream/20.500.12930/871/1/ENS082644.pdf>

GARCÉS, Y., PEREA, C., VALENCIA, N., HOYOS, J. and GÓMEZ, J. Nutritional effect of the chemical silage of fish by-products in broiler (*Gallus domesticus*) feeding. *Cuban Journal of Agricultural Science*, vol 49(4), 503-508. 2015.

GAVIRIA, Y. S.; CAMAÑO, J. A.; ZAPATA, J. E. Propiedades físicas de alimento para tilapia roja (*Oreochromis sp.*) elaborado con ensilado químico y secado en microondas. *Información tecnológica*, vol. 31, no 6, p. 105-116. 2020.

GONZALVO, S. Métodos para la determinación de la digestibilidad *in vitro* de alimentos para animales monogástricos. *Revista computarizada de producción porcina*, vol 8 (2), 7 - 8. 2001.

Guo, J., Davis, R., Starkey, C., & Davis, D. A. 2021. Efficacy of various coated materials to prevent nutrient leaching for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* commercial diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(1), 195-203.

HALIM, N. R. A.; YUSOF, H. M.; SARBON, N. M. Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, vol. 51, p. 24-33. 2016.

HE, S., FRANCO, C., & ZHANG, W. Functions, applications and production of protein hydrolysates from fish processing co-products (FPCP). *Food Research International*, Vol 50 (1), 289-297. 2013 [En línea]. [Citado el 15 de junio de 2021] Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.28-08-219>

HERNÁNDEZ A.B. Valor nutricional de subproductos de origen marino en alimentos para juveniles de jurel *Seriola rivoliana* (Valenciennes, 1833. (Tesis de Doctorado) 2018 [en línea] [Citado el 12 de septiembre del 2022] Disponible en: https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/1481/1/benitez_a%20TESIS.pdf

HOYOS, C. J., VILLADA, C. H., FERNÁNDEZ, Q. A., & ORTEGA, T. R. Uso de subproductos de trucha (*Oncorhynchus mykiss*) para la elaboración de un alimento extrusionado para peces. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 21.2022.

HOYOS, J. L., CASTILLO, H. S. V., QUINTERO, A. F., & MÉNDEZ, J. R. B. Chemical Characterization of Hydrolyzed Protein Meal Obtained from Trout (*Oncorhynchus Mykiss*) By-Products Silage. *Indian Journal of Science and Technology*, vol 11(16). 2018

HOYOS, J. L., VILLADA, H. S., FERNÁNDEZ, A., & ORTEGA-TORO, R. Parámetros de calidad y metodologías para determinar las propiedades físicas de alimentos extruidos para peces. *Información tecnológica*, vol 28(5), 101-114. 2017.

JAELANI, A., S. DHARMAWATI, DAN WACAHYONO. Pengaruh tumpukan dan lama masasimpan pakan pelet terhadap kualitas fisik. *Ziraaah* 41 (2), 261-268. 2016

JAMDAR, S., RAJALAKSHMI, V., PEDNEKAR, M., JUAN, F., YARDI, V. & SHARMA, A. Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food Chemistry*. Vol 121 (1),178-184. 2010.

KAMARUDIN, M. S., DE CRUZ, C. R., SAAD, C. R., ROMANO, N., & RAMEZANI-FARD, E. Effects of extruder die head temperature and pre-gelatinized taro and

broken rice flour level on physical properties of floating fish pellets. *Animal Feed Science and Technology*, 236, 122-130. 2018.

KANMANI, N., ROMANO, N., EBRAHIMI, M., AMIN, S. N., KAMARUDIN, M. S., KARAMI, A., & KUMAR, V. Improvement of feed pellet characteristics by dietary pre-gelatinized starch and their subsequent effects on growth and physiology in tilapia. *Food Chemistry*, 239, 1037-1046. 2018

LEZAMA, G, RUTH.; CHEL, G, LUIS.; ACEVEDO F, J, J.; BETANCUR, A, D. Efecto cicatrizante de fracciones peptídicas derivadas de la hidrólisis enzimática de proteínas de *Phaseolus lunatus*. *Nutr. Hosp.* vol.36, n.1, pp.159-166. 2019.

LIU, K., FROST, J., WELKER, T. L., & BARROWS, F. T. Comparison of new and conventional processing methods for their effects on physical properties of fish feed. *Animal Feed Science and Technology*, 273, 114818. 2021.

LLANES, J., BÓRQUEZ, A., ALCAINO, J. & TOLEDO, J. Composición fisicoquímica y digestibilidad de los ensilajes de residuos pesqueros en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. Vol 45 (4), 417 - 422. 2011.

LÓPEZ-MACÍAS, J.N; SALAS-BENAVIDES, J. Efecto de harina de hidrolizado de vísceras en el crecimiento de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). *Revista MVZ Córdoba*, vol. 26, no 1, p. e1989-e1989. 2021.

LY, J. Predicción de la digestibilidad ileal del en alimentos tropicales no convencionales para cerdos. *Revista computadorizada de producción porcina*. Vol 15 (4), 329-333. 2008.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL (MADR) ACUICULTURA EN COLOMBIA, Cadena de la Acuicultura. 2021 [en línea]. [Citado el 15 de mayo de 2021]. Disponible en:<https://sioc.minagricultura.gov.co/Acuicultura/Documentos/2021-0331%20Cifras%20Sectoriales.pdf>

MONTERO-BARRANTES, M. Hidrolizados proteicos a partir de subproductos de la industria pesquera: obtención y funcionalidad. *Agronomía Mesoamericana*. Vol 32(2), 681-699. 2021.

NOLSØE, H., IMER, S., & HULTIN, H. Study of how phase separation by filtration instead of centrifugation affects protein yield and gel quality during an alkaline solubilisation process - Different surimi-processing methods. *International Journal of Food Science and Technology*, Vol 42 (2), 139-147. 2007 [en línea]. [Citado el 20 mayo del 2021]. Disponible en <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01162.x>

NORMA TECNICA COLOMBIANA (NTC). Instituto Colombiano de Normalización. Microbiología. Guía general para el recuento de mohos y levaduras. Técnica de recuento de colonias 25°C NTC 4132. Bogotá D.C. El instituto. 1-7 1997

NORMA TECNICA COLOMBIANA (NTC). Instituto Colombiano de Normalización. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes. Técnica del número más probable. NTC 4516.1ra ed. Bogotá D.C. El instituto. 1-8. 1998

NORMA TECNICA COLOMBIANA (NTC). Instituto Colombiano de Normalización. Determinación del contenido de proteína total y soluble. NTC 4860. Bogotá D.C. El instituto. 1-7. 2000

NORMA TECNICA COLOMBIANA (NTC). Instituto Colombiano de Normalización. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de bacterias mesofílicas de ácido láctico. Técnica de recuento de colonias a 30°C. NTC 4519.1ra ed. Bogotá D.C. El instituto. 1-7. 2009

NORMA TECNICA COLOMBIANA (NTC). Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 3644-2 Industrias alimentarias, pollo beneficiado. Bogotá: Icontec. 1998

OLLERO DE CASTRO, P. Fundamento de las operaciones de separación de transferencia de masa Escuela Técnica Superior de Ingeniería Sevilla 2020

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO). El estado Mundial de la pesca y la acuicultura, hacia la transformación azul. 2022. [en línea]. [Citado el 18 de julio del 2022]. Disponible en:

<https://www.fao.org/3/cc0461en/online/sofia/2022/world-fisheries-aquaculture-production.html>

ORTEGA, S. S. Evaluación del efecto de aceites esenciales en alimentos balanceados para la producción de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*). (Tesis de pregrado) 2018 [en línea] [Citado el 12 de junio del 2022] Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/6015dabc-713e-4e03-aa9e-5415a964cf17/content>

OVEISI, EHSAN; LAU, ANTHONY; SOKHANSANJ, SHAHAB; LIM, C J.; BI, XIAOTAO; LARSSON, SYLVIA H.; MELIN, STAFFAN: Breakage behavior of wood pellets due to free fall. En: *Powder Technology* 235 p. 493–499. 2013.

PANTOJA, J. O., SÁNCHEZ, S. M. Y HOYOS, J. L. Obtención de un alimento extruido para tilapia roja (*Oreochromis spp*) utilizando ensilaje biológico de pescado. *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, Vol 9 (2), 178 - 189. 2011.

PEREA, C. Evaluación nutricional de ensilajes de residuos de Trucha Arcoíris *Oncorhynchus mykiss* en la alimentación de Tilapia Roja *Oreochromis spp*. 2016. [en línea] [Citado el 17 de mayo del 2021]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/58936>. 2016

PEREA, C., GARCÉS, Y. J., MUÑOZ, L. S., HOYOS, J. L., & GOMEZ, J. A.

Valoración económica del uso de ensilaje de residuos piscícolas en la alimentación de *Oreochromis spp*. *Biología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, vol16(1), 43. 2018

PEREA, C., HOYOS, J., GARCÉS, Y. J., & MUÑOZ, L. S. Evaluación de procesos para obtener ensilaje de residuos piscícolas para alimentación animal. *Ciencia en desarrollo*. Vol 8 (2), 47-58. 2017.

PEREA, R, C., GARCÉS, C, Y. J., MORALES, B, Y. J., JIMENEZ, C, M. A., HOYOS C, J. L., & VIVAS, Q, N. J. Digestibilidad de hidrolizados enzimáticos de vísceras de origen animal en *Piaractus brachypomus*, Cuvier 1818. *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 20(1), 54-68. 2022.

RAEESI, R., SHABANPOUR, B., & POURASHOURI, P. Quality Evaluation of Produced Silage and Extracted Oil from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Wastes Using Acidic and Fermentation Methods. *Waste and Biomass Valorization*, 12(9), 4931-4942. 2021.

RAMASUBBURAYAN, R., IYAPPARAJ, P., SUBHASHINI, K. J., CHANDRAN, M. N., PALAVESAM, A., & IMMANUEL, G. Characterization and nutritional quality of formic acid silage developed from marine fishery waste and their potential utilization as feed stuff for common carp *Cyprinus carpio* fingerlings. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2013.

RIAZ, M. N., ROKEY, G. J. Extrusion problems solved: Food, pet food and feed. IN: Food Science, Technology and Nutrition: number 226. Woodhead Publishing. Philadelphia. 2012.

RODRÍGUEZ, M, J., RAMÍREZ, W, B., VIVAR, V, M. A., SOLÍS, S, A., GÓMEZ, A, C. A., CASTRO, R, J. & DELGADO, L, E. Efecto de la concentración de harina de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), contenido de humedad y temperatura de extrusión sobre las propiedades funcionales de alimentos acuícolas. *Revista mexicana de ingeniería química*, 13(3), 649-663. 2014.

ROMERO GUIA, M. 2018. Proceso de extrusión y peletización de alimentos, (Tesis de pregrado). Universidad nacional agraria la Molina, facultad de industria alimentaria. 2018 [en línea] [Citado el 20 de junio de 2021], Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3134/romero-guia-michael.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

SAHU, B. B., DAS, K. C., BARIK, N. K., PAIKARAY, A., AGNIBESH, A., MOHAPATRA, S., & JAYASANKAR, P. Development of Fish Hydrolysate (Bind- Add+) incorporated extruded pellets and its performance in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) feeding trial. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 4(1), 237002. 2017.

SALAZAR, A, G., GONZÁLEZ M, J. F., RODRÍGUEZ A, D. A., VILLANUEVA S, M.A., LANDINES, M. Á., RODRÍGUEZ P, J. A., NIETO, V, M. T., ESPEJO G, C., ESPEJO V, M., REDONDO M, E. F., ROSADO P, R., MURILLO G, O., GONZÁLEZ A, R., & AMP; FRANCO R, H. H. Fundamentos de Acuicultura Continental tercera edición (p. 243). 2019 [en línea] [Citado el 19 de septiembre del 2022] Disponible en: <https://www.aunap.gov.co/2021/11/17/libro-fundamentos-de-acuicultura-continental-tercera-edicion/>

SAMUELSEN T.A, Å. Oterhals Water-soluble protein level in fishmeal affects extrusion behaviour, phase transitions and physical quality of feed *Aquacult. Nutr.*, 22, pp. 120-133. 2016.

SAMUELSEN T.A, S.A. Mjøs, Å. Oterhals Impact of variability in fishmeal physicochemical properties on the extrusion process, starch gelatinization and pellet durability and hardness *Anim. Feed Sci. Technol.*, 179, pp. 77-84. 2013.

SAMUELSEN, T. A., HAUSTVEIT, G., & KOUSOULAKI, K. The use of tunicate (*Ciona intestinalis*) as a sustainable protein source in fish feed—Effects on the extrusion process, physical pellet quality and microstructure. *Animal Feed Science and Technology*, 284, 115193. 2022.

SHOKRIAN, A., MOBLI, H., AKBARNIA, A., JAFARI, A., MOUSAZADE, H., & ZHU, B. A study on the three-phase separator machine (tricanter) for olive oil extraction. *Journal of Theoretical and Applied Mechanics (Bulgaria)*. Vol 49(3), 233-240. 2019.

SOARES, M., Jr, S., ASSUMPÇ, F., MELO, C., MOURA, A. De, VICTORIA, M., & Grossmann, E. *LWT - Food Science and Technology* Physical quality of snacks and technological properties of pre-gelatinized flours formulated with cassava starch and dehydrated cassava bagasse as a function of extrusion variables. 62, 1112–1119. 2015.

SOCIEDAD AMERICANA DE INGENIEROS AGRONOMOS (ASAE) S368.4. Compression test of food materials of convex shape. American society of agricultural and biological engenners (ASABE). 9pp. 2006.

SØRENSEN, M. Una revisión de los efectos de la composición de los ingredientes y las condiciones de procesamiento en las cualidades físicas de los alimentos extruidos para peces de alta energía medidos por los métodos prevalecientes. *Nutrición acuícola*, 2012, vol. 18, no 3, p. 233-248.

SPANOPOULOS, H, M. PONCE PALAFOX, J. BARBA QUINTERO, G. RUELAS INZUNZA, J. TIZNADO CONTRERAS, M. HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, C, S, K. Producción de ensilados biológicos a partir de desechos de pescado, del ahumado de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*), para la alimentación de especies acuícolas. *Revista mexicana de ingeniería química*, 9(2), 167-178. 2010.

SUMARDIONO, S., & SIQHNY, Z. D. Production of fish feed from soy residue and shrimp waste using tapioca as binding agent. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1295, No. 1, p. 012041). IOP Publishing. 2019

TALENS OLIAG, Pau; CORTÉS LÓPEZ, Victoria; FUENTES LÓPEZ, Ana. Efecto de la temperatura en el comportamiento reológico de un alimento fluido. 2017.

TORRES, D. & HURTADO, N. Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Orinoquia, Vol 16 (1), 63. 2012.

TURCHINI, G. M., TRUSHENSKI, J. T., & GLENCROSS, B. D. Thoughts for the future of aquaculture nutrition: realigning perspectives to reflect contemporary issues related to judicious use of marine resources in aquafeeds. *North American Journal of Aquaculture*, 81(1), 13-39. 2019.

VALDÉS LÓPEZ, N. I. Factibilidad técnica-económica para evaluar la implementación de un separador centrífugo en el área de filtración de planta cervecera ccu temuco. 2019.

VÁSQUEZ, P; SEPÚLVEDA, C T.; ZAPATA, J E. Functional properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera protein hydrolysates. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 39, p. 102268. 2022

VÁSQUEZ, T, W. Principios de Nutrición Aplicada al Cultivo de Peces. Villavicencio: Universidad de los Llanos, 2004 [en línea] [Citado el 30 de julio del 2021] Disponible en: <https://isbn.cloud/9789589728932/principios-de-nutricion-aplicada-al-cultivo-de-peces/>

VÁZQUEZ, J. A., RODRÍGUEZ-AMADO, I., SOTELO, C. G., SANZ, N., PÉREZ-MARTÍN, R. I., & VALCÁRCEL, J. Production, characterization, and bioactivity of fish protein hydrolysates from aquaculture turbot (*Scophthalmus maximus*) wastes. *Biomolecules*, vol 10(2), 310. 2020.

VELA, G.M.I. Desarrollo de un proceso orientado a la mejora del perfil nutricional y digestibilidad de harina de lentejas (Tesis Doctoral) Universitat Politècnica de València. 2020 [en línea]. [Citado el 12 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/138481>

YASHNI, G., ALGHEETHI, A., Physical Properties of Fish Feed Containing Household Waste as an Alternative Substitute in Newly Developed Soft-Dry Fish Feed for Red Tilapia, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.191>, Materials Today: Proceedings, 4–7. 2020.

ZAPATA, J. E., MOYA, M., & FIGUEROA, O. A. Hidrólisis Enzimática de la Proteína de Visceras de Trucha Arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*): Efecto del tipo de Enzima, Temperatura, pH y Velocidad de Agitación. *Información tecnológica*, vol 30(6), 63- 72. 2019.

ZAPATA, J. I. H., & CASTAÑEDA, C. A. G. Hidrolizados de pescado–producción, beneficios y nuevos avances en la industria. -Una revisión. *Acta Agronómica*, vol 66(3), 311-322. 201

ANEXOS

Anexo A. Análisis de varianza y Test de Tukey para flotabilidad

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	424.6666667	106.1666667	9.89	0.0017
Error	10	107.3333333	10.7333333		
Total, corregido	14	532.0000000			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	FLO Media
0.798246	54.60294	3.276177	6.000000

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	10
Error de cuadrado medio	10.73333
Valor crítico del rango estudentizado	4.65425
Diferencia significativa mínima	8.8035

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.				
Tukey Agrupamiento		Media	N	TRAT
	A	15.333	3	T4
	A			
B	A	7.000	3	T3
B				
B		6.000	3	T1
B				
B		1.000	3	T2
B				
B		0.667	3	T5

Anexo B. Análisis de varianza y Test de Tukey para Índice de absorción de agua(IAA).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	1.09137333	0.27284333	13.04	0.0006
Error	10	0.20920000	0.02092000		
Total, corregido	14	1.30057333			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	IAA Media
0.839148	5.782415	0.144637	2.501333

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	10
Error de cuadrado medio	0.02092
Valor crítico del rango estudentizado	4.65425
Diferencia significativa mínima	0.3887

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.				
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT	
	A	3	T2	
	A			
B	2.7767	3	T1	
B				
B	2.3933	3	T4	
	C			
	C	3	T3	
	C			
	C	3	T5	

Anexo C. Análisis de varianza y Test de Tukey para la prueba de durabilidad

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	865.0939067	216.2734767	223.96	<.0001
Error	10	9.6566667	0.9656667		
Total, corregido	14	874.7505733			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	DUR Media
0.988961	1.101679	0.982683	89.19867

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	10
Error de cuadrado medio	0.965667
Valor crítico del rango estudentizado	4.65425
Diferencia significativa mínima	2.6406

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.				
Tukey Agrupamiento		Media	N	TRAT
	A	95.5567	3	T1
	A			
B	A	94.1867	3	T4
B				
B		92.7833	3	T3
	C	88.7600	3	T5
	D	74.7067	3	T2

Anexo D. Análisis de varianza y Test de Tukey para la prueba compresión.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	1802.542760	450.635690	5.81	0.0111
Error	10	776.080333	77.608033		
Total, corregido	14	2578.623093			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	COM Media
0.699033	29.85341	8.809542	29.50933

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	10
Error de cuadrado medio	77.60803
Valor crítico del rango estudentizado	4.65425
Diferencia significativa mínima	23.672

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.				
Tukey Agrupamiento		Media	N	TRAT
	A	38.870	3	T4
	A			
	A	36.593	3	T3
	A			
	A	34.630	3	T5
	A			
B	A	28.833	3	T2
B				
B		8.620	3	T1

Anexo E. Análisis de varianza y Test de Tukey para flotabilidad del tratamiento adicional.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	10752.66667	10752.66667	1316.65	<.0001
Error	4	32.66667	8.16667		
Total, corregido	5	10785.33333			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	FLO Media
0.996971	4.955615	2.857738	57.66667

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	4
Error de cuadrado medio	8.166667
Valor crítico del rango estudentizado	3.92648
Diferencia significativa mínima	6.4784

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	100.000	3	COM
B	15.333	3	T4

Anexo F. Análisis de varianza y Test de Tukey para índice de absorción de agua(IAA) del tratamiento adicional.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	0.42666667	0.42666667	41.09	0.0030
Error	4	0.04153333	0.01038333		
Total, corregido	5	0.46820000			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	IAA Media
0.911291	3.830776	0.101899	2.660000

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	4
Error de cuadrado medio	0.010383
Valor crítico del rango estudentizado	3.92648
Diferencia significativa mínima	0.231

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	2.92667	3	COM
B	2.39333	3	T4

Anexo G. Análisis de varianza y Test de Tukey para durabilidad del tratamiento adicional.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	0.68681667	0.68681667	4.00	0.1160
Error	4	0.68626667	0.17156667		
Total, corregido	5	1.37308333			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	DUR Media
0.500200	0.441357	0.414206	93.84833

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	4
Error de cuadrado medio	0.17156 7
Valor crítico del rango estudentizado	3.92648
Diferencia significativa mínima	0.939

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	94.1867	3	T4
A			
A	93.5100	3	COM

Anexo H. Análisis de varianza y Test de Tukey para compresión del tratamiento adicional.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	421.0112667	421.0112667	8.44	0.0439
Error	4	199.6160667	49.9040167		
Total, corregido	5	620.6273333			

Resumen del modelo

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	COM Media
0.678364	23.16663	7.064278	30.49333

Test de Tukey

Alpha	0.05
Grados de error de libertad	4
Error de cuadrado medio	49.90402
Valor crítico del rango estudentizado	3.92648
Diferencia significativa mínima	16.014

Medias con la misma letra son significativamente diferentes.			
Tukey Agrupamiento	Media	N	TRAT
A	38.870	3	T4
B	22.117	3	COM