



## 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

## PRODUCTION OF BIOLOGICAL SILAGE FROM FISH WASTE, THE SMOKED YELLOWFIN TUNA (*Thunnus albacares*) AND FILLET OF TILAPIA (*Oreochromis sp*), FOR FEEDING AQUACULTURE SPECIES

M. Spanopoulos-Hernandez<sup>1,2</sup>, J.T. Ponce-Palafox<sup>2\*</sup>, G. Barba-Quintero<sup>1</sup>, J.R. Ruelas-Inzunza<sup>1</sup>, M.R. Tiznado-Contreras<sup>1</sup>, C. Hernández-González<sup>3</sup> y K. Shirai<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Mazatlán. Corsario 1 # 203 Col. Urias Mazatlán Sinaloa, México. C.P. 82070.

<sup>2</sup>Centro de Innovación y Transferencia de Tecnología (CENIT). CBAP-Universidad Autónoma de Nayarit. Ciudad del Conocimiento Nayarita s/n. Tepic, Nayarit. C.P. 63173.

<sup>3</sup>CIAD A.C. Unidad Mazatlán.

<sup>4</sup>Laboratorio de Biopolímeros, Departamento de Biotecnología, CBS, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Avenida San Rafael Atlixco No. 186. Col. Vicentina, C.P. 09340 México.

Recibido 3 de Febrero 2010; Aceptado 6 de Julio 2010

### Resumen

El propósito de este trabajo fue producir ensilados y determinar los cambios en la composición química y microbiológica de desechos del ahumado de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*), fermentados con un inóculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa Shirota. Se emplearon procedimientos rústicos y materiales de fácil acceso para utilizarse como suplemento en alimentos acuícolas. Se determinó el porcentaje de melaza óptima para la fermentación, la composición proximal y la cuenta microbiológica de los ensilados. Los desechos se mezclaron con melaza de caña de azúcar como fuente de carbono y el inóculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa shirota. A los 6 días de fermentación ambos ensilados presentaron características físicas y químicas aceptables. Las proporciones de melaza que produjeron la acidificación más alta fueron 15 y 20 % en ambos ensilados y no hubo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Los coliformes totales, mohos, levaduras y *Salmonella sp* no estuvieron presentes porque son inhibidos por el proceso de ensilaje y este tienen características adecuadas para su utilización como suplemento en alimentos para organismos acuáticos.

**Palabras clave:** ensilados biológicos, ensilados de atún aleta amarilla, ensilado de tilapia, fermentación ácido-láctica.

### Abstract

The purpose of this study was to produce silage and determine changes in the chemical and microbiological wastes smoked yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and tilapia filleting residue (*Oreochromis sp*), fermented with a commercial inoculum strain *Lactobacillus casei* Shirota. Procedures were used rustic and easy access to materials to be used as fish feed supplement. We determined the optimal ratio of molasses for fermentation, and proximate and microbiological account silage. The waste is mixed with sugar cane molasses as carbon source and commercial inoculums *Lactobacillus casei* strain Shirota. At the end of six days of fermentation both silages had acceptable physical and chemical characteristics. The proportions of molasses produced the highest acidification were 15 and 20% in both silage and found no significant differences ( $p < 0.05$ ). Total coliforms, molds, yeasts and *Salmonella sp* were not present because they are inhibited by the ensiling process and that have characteristics suitable for use as a supplement in food for aquatic organisms.

**Keywords:** biological silage, silage yellow fin tuna, tilapia silage, lactic acid fermentation.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: [jesus.ponce@usa.net](mailto:jesus.ponce@usa.net)  
Fax: (52) (311)2118813

## 1 Introducción

El desarrollo de la industria pesquera a nivel industrial y artesanal genera una gran cantidad de residuos y pérdidas en el manejo, almacenamiento, distribución y comercialización, los cuales representan alrededor de 29 millones de toneladas de desechos a nivel mundial (FAO, 2009). En México se produjeron, para el 2008, más de 550,520 toneladas de desechos (CONAPESCA, 2008). Esto ocasiona el desperdicio de proteína de alta calidad y un aumento de la contaminación ambiental. Dentro de los aprovechamientos más sustentables de estos desechos se encuentra la producción de ensilados de pescado para la elaboración de alimentos para aves, ganado y peces (Green y col., 1988; Espe y col., 1989; Espe y col., 1992; Pérez, 1995; Ouellet y col., 1997; Gerón y col., 2007; Santana-Delgado y col., 2008).

Los ensilados biológicos se basan en la fermentación ácido-láctica y son un excelente producto proteínico de alto valor biológico que se ha empleado para la alimentación animal y se ha elaborado con especies de pescado de bajo valor comercial, desechos de peces marinos y del pescado de las industrias (Vidotti, 2003). En su elaboración se han empleado, como inóculo, distintas cepas de bacterias ácido-lácticas y melaza como fuente de carbohidratos por su alta composición de azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa (Bello y col., 1993; Fagbenro y col., 1994; Cira, y col., 2002; Plascencia-Jatomea y col., 2002; Nwanna, 2003).

La fermentación ácido-láctica puede recuperar algunos componentes de los desechos como proteína, quitina, minerales y lípidos (López-Cervantes y col., 2006). En Latinoamérica la biotecnología ha utilizado la cabeza de camarón para la recuperación de quitina (Bautista y col., 2001; Cira y col., 2002) y en la obtención de proteínas y lípidos, ya que existe un elevado contenido que han sido reportados en trabajos como el de Córdova y col., (1990) con los desechos de perlita (*Lepophidium profundorum*) y cataco (*Tachurus lathamii*); en residuos de filete de tilapia (León-Álamo, 2003; Vidotti, y col., 2003 y Toledo-Pérez, 2007) y en residuos de sardina (González y Marín 2005).

La fermentación ácido-láctica es un proceso barato que estabiliza y mantiene la calidad nutricional del ensilado (Córdova y col., 1990; Fagbenro y Bello-Olusoji, 1997) como el elaborado

con el género *Lactobacillus*, que bio-conserva los productos. La actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos (láctico, acético y fórmico) y del pH es complementaria.

Algunas cepas de bacterias ácido-lácticas son capaces de degradar las aminas biogénicas empleando las amino-oxidasas, lo que reduce la concentración de ellas (Dapkevicius, y col., 2000) reduciendo el crecimiento de hongos, bacterias patógenas y responsables de la putrefacción, así la acidez de la fermentación permite la estabilidad de aminoácidos, como isoleucina, treonina, cistina, metionina y lisina manteniendo valores similares a los de la harina de pescado (Batista, 1999; Viddotti y col., 2003), por lo que, estos ensilados pueden utilizarse como suplemento en dietas con base en harina de pescado como aporte de proteína para la nutrición acuícola.

Es necesario, sin embargo, mencionar que el tiempo de almacenamiento del ensilado puede afectar negativamente su preservación, en sabor, color, textura y valor nutricional ya que se acelera la oxidación de lípidos por la luz solar (Kompang, 1981; FAO, 2003), además, las proteínas en contacto con lípidos oxidados forman complejos que pueden destruir algunos aminoácidos como el triptófano y formar compuestos con la lisina y metionina que los hacen indisponibles (Ferraz de Arruda, 2004) por ello deben utilizarse de inmediato.

Los ensilados biológicos tienen valores de pH superiores a 4.1 lo que representa ventajas en la alimentación animal pues no requieren neutralizarse antes de la elaboración de dietas. (Viana, 1993; Cira y col. 2002; Ferraz de Arruda, 2004; Nwanna y col. 2004; Toledo- Pérez, 2007) como sucede con los ensilados químicos que alcanzan valores de pH alrededor de 3.

El propósito de este trabajo fue producir ensilados y determinar los cambios en la composición química y microbiológica de desechos del ahumado del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*), fermentados con un inóculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa Shirota para su posible utilización como suplemento en alimentos acuícolas.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Obtención de desechos

Los desechos del atún aleta amarilla *Thunnus albacares* y de tilapia *Oreochromis sp* se obtuvieron de una planta de ahumado de atún en el puerto de Mazatlán (filetun) y de las actividades de fileteado de tilapia que realiza la sociedad cooperativa de producción Pesquera de Siqueros en la presa los Horcones del Tecomate de Siqueros del municipio de Mazatlán.

Los ejemplares que entraron a procesamiento, se pesaron previamente separándose vísceras (VP), cabeza (CP), espinazo (E), piel (P) y carne negra en los atunes (CN) y pesándolas posteriormente. En tilapia se pesaron vísceras y agallas (VA), cabeza y espinazo o carcasa (C). Los desechos de ambos se procesaron en el Taller de Alimentos del Instituto Tecnológico de Mazatlán.

#### 2.1.1. Procesamiento de la materia prima y elaboración de los ensilados

Los desechos para elaborar los ensilados en atún tuvieron la composición en peso, de 44.93 % cabeza, 16.24 % del espinazo, 13.98 de vísceras y 24.90 % de “carne oscura”; mientras que en tilapia la composición en peso, fue de 43.5 % para cabeza, espinazo y piel o carcasa (C) y de 19.5 % para las vísceras, estos desechos se cortaron en trozos adecuados para su molido, con una cortadora Pratic-1 NS 0296-20 Mapisa® (Mapisa, México) hasta obtener una pasta.

Para la elaboración del ensilado se adicionó melaza a los desechos de pescado, en diferentes proporciones y se mezcló con un molino-mezclador Cripto Peerless LTD® (Peerless, R.U), se adicionó un inóculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa Shirota, Yakult® (Yakult, México) utilizando 3 % en una relación volumen/peso que contenía aproximadamente  $100 \times 10^6$  UFC/ml (de acuerdo al productor), se agregó sorbato de potasio al 0.2 % (peso/peso) como conservador de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM 121-SSA1-1994) y se mezcló nuevamente. Se colocó la mezcla en porciones de 60 g dentro de frascos de vidrio con 500 g de capacidad cerrándose y colocándose en una incubadora (CAISA ®) (Alley, México) a temperatura de  $30 \pm 1$  °C por 96 horas (Fig. 1).

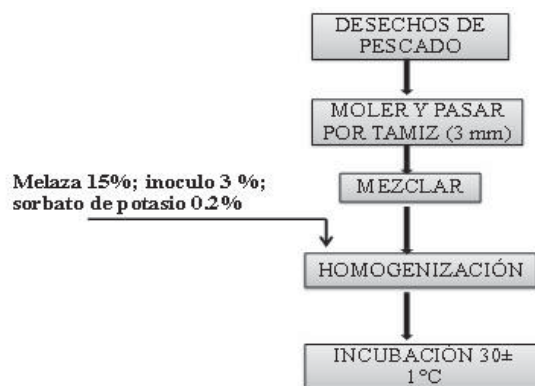


Fig. 1 Flujo del proceso para la elaboración de ensilados biológicos de los desechos del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*).

#### 2.1.2. Fuente de carbono

Se empleó melaza de la región obtenida de la forrajera FORRAJES DEL PUERTO en Mazatlán, determinándose el contenido de humedad y cenizas de acuerdo a la AOAC (1990), 950.46 y 938.08: para el contenido de agua y de cenizas respectivamente y los carbohidratos solubles totales se evaluaron de acuerdo a Dubois (1956).

### 2.2 Desarrollo experimental

Para evaluar el efecto de la proporción de melaza de caña de azúcar, se utilizó un diseño experimental completamente al azar con triplicados, para los desechos del atún aleta amarilla *Thunnus albacares* y de tilapia *Oreochromis sp*, en ambos casos se empleó una proporción de melaza al 12, 15, 20 y 25 % (peso/peso) con un porcentaje fijo de inóculo comercial (3 % v/p) y se incubaron por 96 horas a  $30 \pm 1$  °C.

### 2.3 Análisis de las muestras

#### 2.3.1. Evaluación fisicoquímica

Para la determinación de pH y acidez total titulable (ATT) se siguió la metodología propuesta por Areche y col. (1993) y se evaluó la materia prima y la mezcla de las cero horas y después cada 24 horas llevándose a cabo la cuantificación

con un potenciómetro Mettler Toledo seven-multi S20® (Suiza). La titulación se hizo con hidróxido de sodio 0.1N y la ATT se consideró como ácido láctico, el cálculo de acidez se presentó en porcentaje.

### 2.3.2 Evaluación del ensilado

La evaluación física del ensilado se realizó de acuerdo a Bertullo (1989) considerando las condiciones de olor, color y consistencia y únicamente participaron cuatro personas en la evaluación.

### 2.3.3. Evaluación proximal

El análisis se realizó en los desechos y en el ensilado con 15 % de melaza a las 96 horas de haberlo iniciado. Los contenidos de humedad y ceniza se hicieron de acuerdo a la AOAC (1990). El nitrógeno se determinó por el método Kjeldahl para proteína cruda ( $N \times 6.25$ ), los lípidos crudos se determinaron por extracción de solventes empleando éter de petróleo; la fibra cruda se determinó por digestión ácida de acuerdo a la FAO (1993) y finalmente los carbohidratos se obtuvieron por diferencia. Los cálculos se hicieron en base húmeda y todas las determinaciones se hicieron por triplicado.

### 2.3.4. Evaluación microbiológica

La evaluación microbiológica a los ensilados se realizaron a las 96 horas de ensilar y específicamente, los análisis incluyeron la determinación de la cuenta de bacterias aerobias, hongos y levaduras, coliformes y salmonella. Para la determinación de la cuenta total de bacterias aerobias, se siguió el procedimiento descrito en la Norma Oficial Mexicana (NOM-092-SSA1-1994). La determinación de coliformes totales se hizo de acuerdo al método descrito en la Norma Oficial Mexicana (NOM-113-SSA1-1994). Para determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, la presencia o ausencia de *Salmonella sp* fue de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-114-SSA1-1994) y la cuenta de mohos y levaduras se hizo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-111-SSA1-1994). Para la preparación de reactivos y diluciones empleados en las

técnicas de análisis microbiológico se empleó la Norma Oficial Mexicana (NOM-110-SSA1-1994). Posteriormente se compararon los resultados con los valores establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA1-1994.

## 2.4 Análisis estadístico

A los datos obtenidos de la evaluación de pH y porcentaje de ácido láctico durante el proceso de ensilado para las diferentes proporciones de melaza se les aplicó la prueba de identidad de varianzas y de distribución normal y un análisis de varianzas de clasificación simple (ANOVA) y se empleó una prueba no paramétrica de Kruskal-wallis (Zar, 1999).

## 3 Resultados y discusión

### 3.1.1 Constitución de la melaza

El contenido de agua de la melaza fue de  $257.3 \pm 4.65$  g/kg, el de cenizas de  $82.0 \pm 0.32$  g/kg y los carbohidratos solubles totales fueron de 579 g/kg (base húmeda).

### 3.1.2 Efecto de la melaza en la fermentación de los subproductos de pescado

En las figs. 2 y 3 se presenta el efecto del porcentaje de melaza para la fermentación; se presenta en la figura 2 que la acidificación más alta en atún se obtuvo a las 96 horas en todos los niveles de melaza con 3.03 y 2.93 % de ATT para el 15 y 20 % de melaza respectivamente y la menor cantidad de ATT fue de 2.61 % con el 12 % de melaza. El pH a las 96 horas disminuyó de 6.60 a 4.51, 4.55, 4.53 y 4.58 con melaza al 12, 15, 20 y 25 % respectivamente, sin embargo, la acidez más baja se obtuvo en la proporción de melaza de 12 %.

En el ensilado de Tilapia también se obtuvo la acidificación más alta a las 96 horas y esta fue de 1.10, 2.10, 2.12 y 2.16 % de ATT en el ensilado con la proporción de melaza de 12%, 15 %, 20 % y 25 % respectivamente. El valor inicial de pH fue de 6.94 y disminuyó hasta 4.53 a las 96 horas en las inclusiones de melaza de 20 y 25 % y de 4.63 y 5.00 en los niveles de 15 y 12 % respectivamente. Para los valores de pH y para el porcentaje de

acidez entre las cuatro proporciones de melaza no se encontraron diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

La cantidad mínima de melaza empleada en este trabajo fue del 12 %, sin embargo en una de las muestras con la proporción de melaza del 12 % se presentaron signos de putrefacción a las 48 horas y únicamente alcanzó 1.25 % de ATT mientras que en ese mismo tiempo los otros porcentajes de melaza tuvieron valores de acidez superiores al 2.0 %. Las cantidades de melaza empleadas para obtener un ensilado son variables. Raa (1982) establece que se requiere mínimo 10 % de melaza y otros trabajos han reportado el empleo de 15 % de melaza (Bello, 1994, Nwana, 2003; Vidotti, 2003; González y Marín, 2005 y Toledo-Pérez, 2007).

Mientras que las bacterias de la descomposición emplean a los aminoácidos como fuente de energía, producto de la hidrólisis de las proteínas de los desechos del pescado las bacterias ácido-lácticas, utilizan como fuente de energía los azúcares como son la glucosa, fructosa y ribosa facilitando su crecimiento rápido y presentándose de inmediato la fermentación que produce un am-

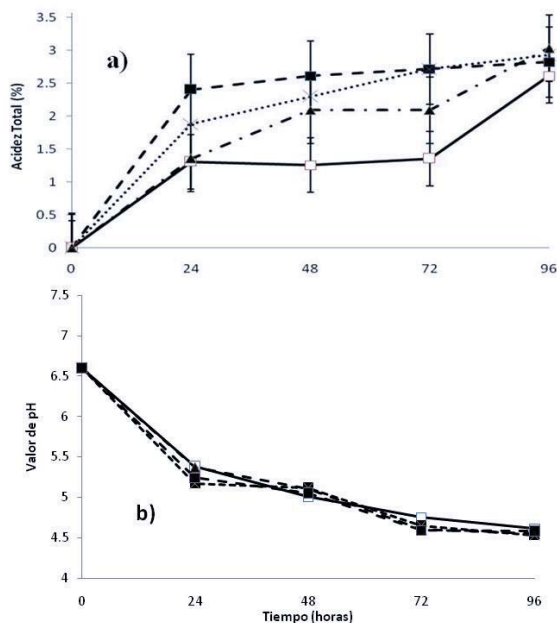


Fig. 2. Efecto del porcentaje de melaza en la fermentación de desechos de atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) con inoculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa shirota ( $100 \times 10^6$ ) a) evolución del % de ácido láctico; b) evolución del pH. Simbolos: □ Melaza 12 %, ▲ Melaza 15 %; × Melaza 20 %; ■ Melaza 25 %.

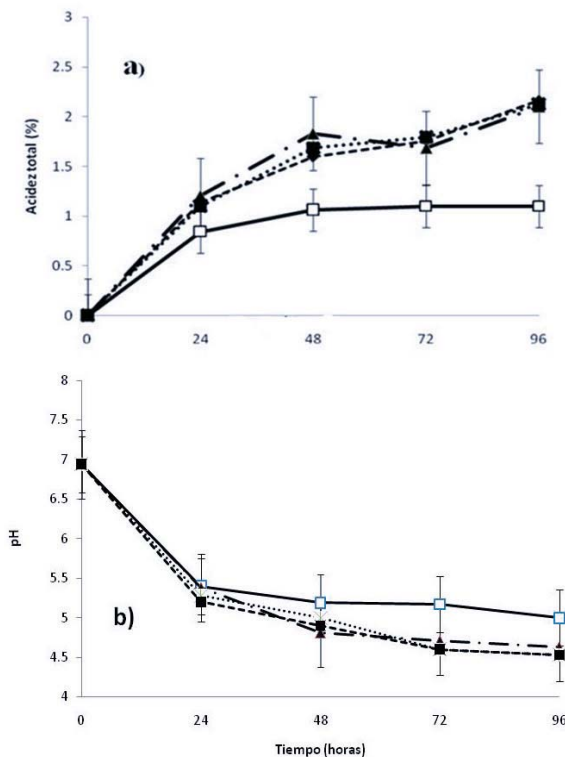


Fig. 3. Efecto del porcentaje de melaza en la fermentación de desechos del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*) con inoculo comercial de *Lactobacillus casei* cepa shirota ( $100 \times 10^6$ ) a) evolución del % de ácido láctico; b) evolución del pH. Simbolos: □ Melaza 12 %, ▲ Melaza 15 %; × Melaza 20 %; ■ Melaza 25 %.

biente anaeróbico que convierte a esta en la población predominante, con la consecuente disminución de pH que indica una buena fermentación y el incremento de acidez que se genera por la formación de ácidos, del cual el ácido láctico es muy abundante (Stefanie, 2001).

Se ha reportado por Llanes y col. (2007) y Toledo-Pérez y col. (2007) el empleo de bacterias del yogurt para ensilar desechos de pescado que permiten obtener un ensilado estable que alcanza alrededor de 4.5 de pH. También González y Marín (2006) utilizan bacterias del yogurt para ensilar pescado y reportan un porcentaje de acidez de 3.5 a 4.0 el cual es mayor que el obtenido en este trabajo.

El valor del inóculo de 3 % v/p ( $30 \times 10^6$  ufc/ml) empleado en este trabajo, se estableció de acuerdo a lo reportado por diferentes autores que reportan concentraciones que van de  $10^6$  a  $50 \times 10^6$

Tabla 1. Evaluación física de la calidad de los ensilados propuesta por Bertullo (1989), de acuerdo a sus características.

ATRIBUTO	BUENO	REGULAR	INACEPTABLE
Olor	Ácido suave	Picante penetrante	Pútrido rechazable
Color	Amarronado grisáceo claro	ó Amarronado o grisáceo claro-oscuro	Gris oscuro negruzco
Consistencia	Líquido	Líquido pastoso ó licuado	Pastoso

Tabla 2. Evaluación sensorial de la calidad de los ensilados biológicos elaborados con desechos del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y de desechos del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp.*).

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

ufc/ml en una relación v/p, para ensilar desechos pesqueros y acuícolas (Vidotti, 2002; Díaz, 2004; Toledo Pérez y col. 2007; Llanes, 2007).

Batista (1987) encontró para un ensilado de subproductos de pescado valores de pH de 4.39 que es un indicador del grado de calidad del ensilado. Sin embargo, algunos trabajos reportan ensilados con valores de pH de 4.18 a 4.90 (Cira y col., 2002; Plascencia-Jatomea y col., 2002; Vidotti y col., 2002; León Álamo, 2003; González y col., 2005; Ramírez-Ramírez y col. 2008), obteniendo buena calidad y en este intervalo se encuentra el pH registrado en este trabajo.

Los ensilados biológicos tienen algunas ventajas como es la reducción del proceso a la mitad del tiempo alcanzado en los ensilados con ácidos y un valor de pH que no requiere de neutralización para emplearse en la ración a elaborar (Bello y col., 1993; Viana, 1993). Además no requieren refrigeración para su conservación, pudiéndose conservar en óptimas condiciones para su uso por períodos mayores de un año, incluso a temperatura ambiente alta (Barral y col., 1989; Raa y Gildberg, 1982). El empleo de yogurt comercial como inóculo de bacterias tiene la ventaja de incorporar microorganismos de más fácil obtención, utilización y manejo lo que permite contar con un procesamiento al alcance de las pequeñas comunidades pesqueras que en México y países de América Latina.

### 3.2 Caracterización física de los ensilados

En la Tabla 2, se presentan las características físicas del ensilado al cabo de seis días de fermentación, donde se observa que el color de los ensilados de los subproductos de tilapia son más claros (grisáceo) que los ensilados de atún, que son más oscuros (marrón) por el color natural del musculo en cada especie, teniendo en cuenta las proporciones de melaza. El olor indicó en ambos ensilados que son similares y agradables, sin ningún indicio de proceso de descomposición lo cual coincide con los resultados de Vidotti y col. (2002) que encontró que los ensilados originan productos con características diferentes, atendiendo a la especie utilizada. Otro indicador es la consistencia, la cual es pastosa en el ensilado de atún porque a pesar de que se observó presencia de líquido exudado, la cantidad no era suficiente para darles una consistencia pastosa-líquida, lo que si sucedió en el ensilado de tilapia, que tuvo mayor contenido de vísceras, liberando agua de los tejidos y repercutiendo en la licuefacción del mismo, por la hidrólisis de las proteínas del pescado, desarrollando un proceso enzimático independiente de la producción de ácidos (Bello, 1994; Toledo Pérez y col., 2007).

### 3.3 Composición química proximal

En la Tabla 3 se presentan los resultados del análisis proximal de la materia prima y de los ensilados del atún y tilapia. Se encontró que la

Tabla 3. Composición proximal (base húmeda) de la materia prima y ensilado de los desechos del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y del fileteado de la tilapia (*Oreochromis sp*).

COMPONENTES	Atún ( <i>Thunnus albacares</i> )	Tilapia ( <i>Oreochromis sp</i> )	Ensilado de atún <sup>1</sup> ( <i>Thunnus albacares</i> )	Ensilado de Tilapia <sup>1</sup> ( <i>Oreochromis sp</i> )
Humedad (%)	53.54 ± 1.62	67.54 ± 0.76	51.12 ± 0.76	66.77 ± 0.45
Proteína cruda (%)	15.45 ± 0.52	10.27 ± 0.13	14.92 ± 0.49	8.92 ± 0.76
Lípidos crudos (%)	13.16 ± 1.08	13.75 ± 0.18	6.97 ± 0.43	5.33 ± 0.17
Fibra cruda (%)	0.91 ± 0.22	0.36 ± 0.04	0.65 ± 0.11	0.14 ± 0.01
Cenizas (%)	9.11 ± 0.27	3.26 ± 0.67	10.32 ± 0.06	3.34 ± 0.13
ELN <sup>2</sup>	7.83	4.82	16.01	15.5
Total	100	100	99.99	100
pH	5.38	6.94	4.53 – 4.61	4.53 – 5.00
Acido láctico (%)	ND <sup>3</sup>	ND <sup>3</sup>	2.61 – 3.03	1.10 – 2.16

<sup>1</sup>Ensilado elaborado con 15% de melaza (peso/peso) y 3% de un producto comercial (v/p) después de 96 horas de fermentación.

<sup>2</sup> Extracto libre de Nitrógeno = 100-(% proteína cruda + % fibra cruda + % lípidos crudos + % cenizas).

<sup>3</sup>El término ND se refiere a que no se determinó la acidez en el tiempo cero.

humedad fue ligeramente menor en los ensilados, lo mismo que en proteínas. La proteína en el ensilado de tilapia es aparentemente menor por el mayor contenido de humedad; la cantidad de lípidos crudos fue mayor en tilapia que en el atún y no se observaron diferencias en los contenidos de fibra y cenizas entre el material crudo y el ensilado para ambas especies. El contenido de humedad del ensilado de atún y tilapia preparado en este estudio ( $51.12 \pm 0.76$  y  $66.77 \pm 0.77\%$  respectivamente), donde el ensilado de tilapia, fue considerablemente menor al reportado por Fagbenro y Jauncey (1993) quienes obtuvieron valores de humedad de alrededor del 70% y superior al reportado por León-Álamo (2003) quien obtuvo 50.62 % de humedad. El contenido de proteína cruda en base húmeda (BH) fue menor en los ensilados que en la materia prima ( $14.92 \pm 0.49$  y  $8.92 \pm 0.76$  para atún y tilapia respectivamente). Los lípidos tuvieron mayor contenido en el ensilado de atún que en tilapia (6.97 y 5.33, respectivamente) y fueron menores en los ensilados por el efecto de dilución al preparar la mezcla y posiblemente por las actividades lipolíticas de los microorganismos que durante la etapa de la fermentación pueden crecer y consecuentemente liberar sus lipasas (Faid y col., 1997).

Los valores de proteína cruda del ensilado de atún reportados en este trabajo son menores que

lo reportado por FAO (2003) para ensilado de residuos (69.9 %), sin embargo el reporte es en base seca, lo mismo para lípidos y cenizas que reporta valores de 12.2 y 10.5 % respectivamente, siendo mayor el contenido de lípidos y muy semejantes el de cenizas al obtenido en este trabajo. Las diferencias en contenido de proteína y lípidos pueden deberse a la especie y el estado de madurez del pez. León-Álamo (2003) reporta para tilapia 26.12 y 15.16 % de proteína cruda y lípidos, respectivamente (en base seca) que son valores ligeramente mayores a los obtenidos en este trabajo, mientras que Ferraz de Arruda (2004) reporta 12.85 % de proteína cruda, 3.89 % para lípidos y 4.17 % para cenizas cuyos valores son semejantes a los obtenidos en este trabajo. El contenido de lípidos en los diferentes estudios publicados sobre ensilados y cualquier otro proceso que emplee recursos pesqueros, siempre estará sujeto a una importante variación, de factores (Huss, 1998). Con relación a los valores de fibra, en tilapia existe menor contenido por lo que su harina puede ser altamente digestible (Nwana, 2003). En los ensilados el extracto libre de nitrógeno presentó un valor superior a la materia prima lo que se presenta por agregar melaza a los desechos de pescado para el proceso de fermentación (Vidotti y col., 2002; Ramírez-Ramírez y col., 2008).

Tabla 4. Resultados de los análisis microbiológicos en los ensilados biológicos de los desechos del atún aleta amarilla (*Tunnus albacares*) y del fileteado de tilapia (*Oreochromis sp*).

MUESTRAS	AEROBIAS MESOFILAS (UFC/g)	COLIFORMES TOTALES (UFC/g)	MOHOS Y LEVADURAS (UFC/g)	SALMONELLA SP
Ensilado de atún	$122 \times 10^6$	Ausente	Ausente	Ausente
Ensilado de tilapia	$530 \times 10^6$	Ausente	Ausente	Ausente

### 3.4 Examen microbiológico

Los valores microbiológicos de los ensilados a las 96 horas se presentan en la Tabla 4 y el ensilado de atún presenta valores de  $122 \times 10^6$  UFC/g, de bacterias mesófilas aerobias incubadas  $48 \pm 2$  horas y el ensilado de tilapia de  $530 \times 10^6$  UFC/g. En la determinación de coliformes totales en placa para ambos ensilados hubo ausencia quedando dentro del límite máximo establecido por la Norma Oficial Mexicana (NOM-027-SSA1) (400 UFC/g), de igual forma el ensilado de atún y de tilapia a las 96 horas, tuvo ausencia de mohos y levaduras lo mismo que para *Salmonella sp*, poniendo de manifiesto que los microorganismos patógenos son inhibidos por el proceso de ensilaje.

Es importante señalar que México no cuenta con normas que establezcan valores máximos permitidos de microorganismos en desechos de origen acuático por lo que se empleó como referencia la Norma Oficial Mexicana (NOM-027-SSA1-1993) de bienes y servicios para productos de la pesca, pescados frescos-refrigerados y congelados, sin embargo, Bello (1994) y Huss (1997) consideran aceptables valores por debajo de  $5 \times 10^5$  UFC/g de coliformes y la ausencia de *Salmonella* en productos para la alimentación animal por lo que estos resultados permiten considerar a los ensilados de desechos de atún y tilapia aceptables como materia prima para emplearse como suplemento en dietas de animales acuáticos.

Se considera que la disminución en el valor de pH y la alta acidez favorece el desarrollo de los microorganismos ácido-lácticos en los ensilados lo que se puede constatar por la disminución general de los coliformes y la ausencia de *Salmonella* al final del tiempo de fermentación; la incorporación de sorbato de potasio es necesaria previniendo la contaminación del producto fermentado por levaduras que asimilan el ácido láctico (Lindgren y Pleje, 1983).

Al comparar nuestros resultados con otros trabajos podemos considerar que la composición

del mismo está directamente relacionada con su origen y que su bajo porcentaje de proteína y lípidos se explica, por tratarse de desechos. Sin embargo su empleo en la alimentación acuícola se considera como un sustituto parcial de la harina de pescado reduciendo costos en las dietas. El ensilado aporta una proteína parcialmente hidrolizada que podría mejorar la digestibilidad de las dietas que es uno de los factores más importantes que influyen positivamente en el crecimiento de los animales, como ya se ha reportado (Fagbenro and Jauncey, 1995; Nawanna, 2003).

## Conclusiones

El contenido de proteína y lípidos de los ensilados de desechos de atún y tilapia tienen un perfil nutricional adecuado para especies herbívoras y omnívoras principalmente y pueden utilizarse como suplemento parcial de la harina de pescado en dietas prácticas para organismos acuáticos en general. Las condiciones microbiológicas de los ensilados indican que la fermentación de estos desechos es inocua y puedan emplearse como insumos en dietas para alimentación animal.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa procesadora de atún -filetun- y a la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera de Siqueros, en la presa los Horcones del Tecomate de Siqueros, Sinaloa por aportar la materia prima para este trabajo, a Jorge Quiñones Gándara y Misael Guadalupe Hernández Padilla estudiantes del Instituto Tecnológico de Mazatlán y al mismo Instituto Tecnológico de Mazatlán por el apoyo financiero y logístico para desarrollar el trabajo.



## Referencias

- AOAC. (1990). *Methods of Analysis*, (15<sup>th</sup> Ed.) Association of official analytical chemists, Washington, D.C.
- Areche, Z. B., Berenz, Z., León, G. (1993). *Curso internacional tecnología de procesamiento de productos pesqueros*. Editorial JICA. Instituto tecnológico pesquero del Perú. Lima, Perú. Pp. 27.
- Barral, A., Castañon, C., Bergamaschi, N., Roth, R. (1989). Ensilados ácidos de pescado. *La Industria Cárnica* 17, 43-47.
- Batista, I. (1987). Fish silage: preparation and uses En: *Nutrition in marine aquaculture*. Lisbon-20-30 October 1986. Mediterranean regional aquaculture project. C/O Instop-2025 Salammbó, Tunisie TD/87/02 GCP/REM/049/ITA. (Amamaria Bruno Medrap, ed.), 227-248.
- Batista, I. (1999). Recovery of proteins from fish waste products by alkaline extraction Eur. *Food Research Technology* 210(2), 84-89.
- Bautista, J., Jover M., Gutiérrez, J. F., Corpas, R., Cremades, O., Fontiveros, E., Iglesias, F., Vega, J. (2001). Preparation of crayfish chitin by in situ lactic acid production. *Process Biochemistry* 37, 229-234.
- Bello, R., Cardillo, E., Martínez, R. (1993). Estudio del efecto de la adición de frutas tropicales *Ananás comosus* y lechosa *Carica papaya* en la elaboración del ensilado biológico de pescado. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 43(3), 221-227.
- Bello, R. (1994). Experiencias con el ensilado de pescado en Venezuela. Tratamiento y utilización de los residuos de origen animal, pesquero y alimentario en la alimentación animal. *Memorias del Taller Regional organizado por el Instituto de Investigaciones Porcinas y la FAO*; Habana, Cuba: 1-13.
- Bertullo, E. (1989). Desarrollo del ensilado de pescado en América latina. En: *2ª Consulta de expertos sobre tecnología de productos pesqueros en América Latina*, RLAC/2, Montevideo.
- Cira, L. A., Huerta S., Hall, G. M., Shirai, K. (2002). Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. *Process Biochemistry* 37, 1359-1366.
- Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. (2008). *Anuario estadístico de Acuicultura y Pesca*. Comisión nacional de acuicultura y pesca. Edición 2008. Mazatlán, Sinaloa México. 213 pp.
- Córdova, E., Mármol, C., Miranda, L., Navarrete, J.A., Reyes, G. (1990). *Ensilado biológico de pescado*. Curso regional sobre tecnología de productos pesqueros FAO/programa de cooperación gubernamental Caracas, Venezuela.
- Dapkevicius, M.L., Nout, M.J., Rombouts, F.M., Houben, J.H., Wymenga, W. (2000). Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. *International Journal of Food Microbiology* 57, 107-114.
- Díaz-Ríos, H. L. (2004). Efecto de la suplementación con ensilaje de residuos de una planta procesadora de tilapia (*Oreochromis niloticus*) sobre el consumo voluntario y la digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas y leguminosas tropicales. Tesis para obtener el grado de Maestría en industria pecuaria del recinto de Mayagüez, Puerto Rico, Puerto Rico.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28(3), 350-356.
- Espe, M., Raa, J., Njaa, L.R. (1989). Nutritional value of stored fish silage as a protein source for young rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 49, 259-270.
- Espe, M., Haaland, H., Njaa, L.R. (1992). Substitution of fish silage protein and a free amino acid mixture for fish meal protein in a chicken diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 58, 315-319.
- Fagbenro, O., Jauncey, K. (1993). Chemical and nutritional quality of raw, cooked and salted fish silages. *Food Chemistry* 48, 331-335.

- Fagbenro, O.A., Jauncey, K. (1995). Growth and protein utilization by juvenile catfish (*Clarias gariepinus*) fed dry diets containing co-dried lactic acid-fermented fish silage and protein feedstuffs. *Bioresource Technology* 51, 29-35
- Fagbenro, O., Jauncey, K., Haylor, G. (1994). Nutritive value of diet. Containhg dried lactic acid fermented fish silage and soybean meal for juvenile *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*. *Aquatic Living Resource* 7, 79-85.
- Fabgenro, O. A., Bello-Olusoji, O. A. (1997). Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage. *Food Chemistry* 60(4), 489- 493.
- Faid, M., Zouiten, A., Elmarrakchi, A., Achkari-Begdouri, A. (1997). Biotransformation of fish waste into a stable feed ingredient. *Food Chemistry* 60(1), 13-18.
- FAO. (1993). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos*. Programa cooperativo gubernamental FAO-Italia, proyecto Aquila II documento de campo no 7. Roma Italia, 83 pp.
- FAO. (2003). Animal feed resources information system. <http://www.fao.org>.
- FAO. (2009). *Estado mundial de la pesca y la acuicultura. SOFIA 2008*. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma, Italia. Pp. 198.
- Ferraz de Arruda, L. (2004). Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da tilapia do nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subproductos. Tesis de maestría en Ciencias del área de ciencia y Tecnología de alimentos. Escuela superior de agricultura Luiz de Queiroz, Universidad de Sao Paulo.
- Gerón, L.J., Zeoula, L.M.,Vidotti, R.M., Matsushita, M., Kazama, R., Caldas-Neto, S.F., Fereli, F. (2007). Chemical characterization, dry matter and crude protein ruminal degradability and in vitro intestinal digestion of acid and fermented silage from tilapia filleting residue. *Animal Feed Science and Technology* 136, 226-239.
- González, D., Marín, M. (2005). Obtención de ensilados biológicos a partir de los desechos del procesamiento de sardinas. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias de LUZ* 15(6), 560-567.
- Green, S., Wiseman, J., Cole, D.J.A. (1988). Examination of stability, and its effect on the nutritive value, of fish silage in diets for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology* 21, 43-56.
- Hernández, P. E., Rodríguez, J. M., Cintas, L. M., Moreira W. L., Sobrino, O. J., Fernández M. E., Sanz, B. (1993). Utilización de bacterias lácticas en el control de microorganismos patógenos de los alimentos. *Microbiología* 9, 37-48.
- Huss, H. (1998). *El pescado fresco: Su calidad y cambio en su calidad*. FAO. Fisheries Technical. Rome. Italia. Paper No. 348. Pp. 202.
- Kompiang, I. P. (1981), Fish silage: its prospect and future in Indonesia. *Indonesia Agricultura Research and Development Journal* 3, 9-12
- León, F.J. (2003). Consumo voluntario y digestibilidad de nutrientes de heno de gramíneas tropicales nativas y ensilaje de sorgo y el efecto de la suplementación con residuos fermentados de pescadería. MS Tesis. Universidad de Puerto Rico. RUM. 63pp
- Lindgren, S., Pleje M. (1983). Silage fermentation of fish or fish waste products with lactic acid bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34, 1057-1067.
- López-Cervantes, J., Sánchez-Machado, D. I., Rosas-Rodríguez, J. A. (2006). Analysis of free amino acid in fermented shrimp waste by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1105, 106-110.
- Llanes-Iglesias, J., Toledo-Pérez, J., Fernández-Valdez, I., Lazo de la Vega, J. V. (2007). Estudio del ensilado biológico de pescado como inóculo de bacterias lácticas en la conservación de desechos pesqueros. *Revista de Veterinaria* 8(9), 1-6.

- Norma Oficial Mexicana NOM-027-SSA1-1994.- Bienes y servicios. Productos de la pesca. Pescados frescos-refrigerados y congelados. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial. México. 14 de marzo de 1994.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994.- Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial. México. 12 de diciembre de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994.- Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario Oficial. México. 16 de octubre de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994.- Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Hongos y Levaduras en alimentos. Diario Oficial. México. 13 de septiembre de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA2-1994.- Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes método para la cuenta de micro-organismos coliformes totales en placa. Diario Oficial. México. 25 de agosto de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994.- Bienes y Servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos. Diario Oficial. México. 22 de septiembre de 1995.
- Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994.- Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial. México. 23 de febrero de 1996.
- Nwanna, L.C. (2003). Nutritional Value and Digestibility of Fermented Shrimp Head Waste Meal by African Catfish *Clarias gariepinus*. *Pakistan Journal of Nutrition* 2(6), 339-345.
- Nwanna, L. C., Balogun, A.M., Ajenifuja, Y.F. and Enujiugha, V. N. (2004). Replacement of fish meal with chemically preserved shrimp head in the diets of African catfish, *Clarias gariepinus*. *Food, Agriculture and Environment* 2(1), 79-83.
- Ouellet, D.R., Seoane, J.R., Veira, D.M. and Proulx, J.G. (1997). Effects of supplementation with fish meal or fish protein hydrolysate on growth, nutrient digestibility and rumen fermentation of growing cattle fed grass silage. *Animal Feed Science and Technology* 68, 307-326.
- Parin, M. and Zugarramurdi, A. (1994). *Tratamiento y utilización de desechos de origen animal y otros desperdicios en la ganadería*. FAO. La Habana, Cuba, del 5 al 8 de Septiembre. Disponible en línea: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/APH134/cap4.htm>.
- Pérez, R. (1995). Fish silages for feeding livestock. *World Animal Review* 82, 34-42.
- Plascencia-Jatomea, M., Olvera-Novoa, M. A., Arredondo-Figueroa, J. L., Hall, G. M. and Shirai, K. (2002). Feasibility of fishmeal replacement by shrimp head silage protein hydrolysate in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 753-759.
- Ray J. and Gildberg, A. (1982). Fish silage: A review. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 16, 383-419.
- Ramírez-Ramírez, J.C., Huerta, S., Arias, L. Prado, A. y Shirai, K. (2008). Utilization of fisheries by-catch and processing wastes for lactic acid fermented silage and evaluation of degree of protein hydrolysis and in vitro digestibility. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 7(3), 1-10.
- Rustad, T. (2003). Utilization of marine by-products Electron. *Journal of the Environmental Agricultural Food Chemistry* 2(4), 458-463.
- Samaniego, F., Luz, M., Sosa del Castillo, M. (2000). *Lactobacillus spp. Importantes promotores de la actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora*. Editorial universitaria del ministerio de educación superior de la República de Cuba. Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos. Centro de estudios biotecnológicos. Facultad de agronomía. Pp. 21.

- Santana-Delgado, H., Avila, E. and Sotelo, A. (2008). Preparation of silage from Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets. *Animal Feed Science and Technology* 141, 129-140.
- Stefanie, J.W.H., Elferink, O., Driehuis, F., Gottschal, J. C. y Spoelstra, S. F. (2001). *Estudio 2.0 en uso del Ensilaje en el Trópico Privilegiando Opciones para Pequeños Campesinos*. Estudio FAO producción y protección vegetal 161 Memorias de la Conferencia Electrónica de la FAO sobre el Ensilaje en los Trópicos Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación Roma Italia.
- Toledo-Pérez, J. y Llanes-Iglesias, J. (2007). Estudio comparativo de los desechos de pescado ensilados por vías bioquímica y biológica. *Revista de Veterinaria* 8(9), 1-7.
- Viana, M.T., Nova, C. and Solana-Sansores, A. (1993). Acid fish silage. Effect of preheating and addition of phosphoric and citric acid on the biochemical quality. *Ciencias del Mar* 19(4), 415-433.
- Vidotti, R. M., Carneiro, D. and Macedo-Viegas, E. (2002). Acid and fermented silage characterization and determination of apparent digestibility coefficient of crude protein for pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 33(1), 57-62.
- Vidotti, R. M., Carneiro, D., Macedo-Viegas, E. and Carneiro, D. J. (2003). Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. *Animal Feed Science and Technology* 105, 199-204.
- Zar, H. J. (1999). *Biostatistical Analysis*. USA, Prentice Hall: 718 pp.