

ESTABILIDAD DE ALMACENAMIENTO DE ENSILADOS BIOLÓGICOS A PARTIR DE RESIDUOS DE PESCADO INOCULADOS CON BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS

Holguín MS¹, Caicedo LA², Veloza LC³

Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA),
Universidad Nacional de Colombia.

RESUMEN

Se elaboraron cuatro muestras por triplicado de ensilados biológicos para alimentación animal a partir de residuos de pescado, utilizando melaza como fuente de carbohidratos para el crecimiento de cuatro cepas de bacterias ácido-lácticas (BAL) aisladas de los mismos, sometidos a un tiempo de incubación de 72 horas y temperatura de 35 °C (±2 °C) para acidificar el producto como método de conservación. A continuación los ensilados se almacenaron durante 180 días a temperatura ambiente para evaluar la estabilidad en anaquel, por medio de análisis químicos, composición química proximal, aminograma, recuentos microbiológicos y algunos de tipo organoléptico del producto terminado. Las cepas fueron eficientes en el proceso de fermentación, causando inhibición del crecimiento de microorganismos indeseables y aportando características organolépticas agradables. El ensilado elaborado con la cepa C₁₄ provocó el descenso del pH en menos de 72 horas de incubación. Ninguno de los productos sufrió deterioro evidente durante el almacenamiento; presentaron porcentajes aceptables de proteína, grasa, cenizas, carbohidratos y aminoácidos, que hacen del producto una fuente utilizable en formulaciones de alimentos para animales.

Palabras clave: alimentación animal, fermentación láctica, microorganismos patógenos.

STORAGE STABILITY OF BIOLOGICAL SILAGE FROM FISH REMAINS ADDED WITH LACTIC ACID BACTERIA CULTURE

ABSTRACT

Four biological silages samples for animal feeding were made from fish remains in triplicate, using molasses like source of carbohydrate for the growth of four lactic acid bacteria (LAB) strains isolated from those remains and incubated during 72 hours and temperature of 35°C (±2°C) to acidify the product as preservation method. Then, the silages were storage for 180 days at room temperature to asses the shelf stability by conducting chemical, proximal chemical composition, amine assessment, microbiological counting and some sensory evaluation in final product. Bacteria cultures were efficient in fermentation process causing inhibition growth of undesirable bacteria and giving pleasant sensory characteristics. The silage inoculated with culture C₁₄ made the pH decreased in less than 72 hours of incubation. Neither one of the products suffered clearly deterioration during storage and had

1 msholguinh@unal.edu.co

2 lacacedoc@unal.edu.co

3 lvelozag@unal.edu.co

acceptable percentages of protein, lipids, ashes, carbohydrates and amino acids; all these make this product as a feasible source to be use in feed animal recipes.

Key words: animal feeding, lactic fermentation, pathogenic microorganisms.

INTRODUCCIÓN

Los residuos orgánicos, definidos como las materias generadas en las actividades de producción y consumo que no alcanzan ningún valor económico en el contexto en que se producen, son una de las problemáticas ambientales de mayor relevancia debido a la falta de tecnología adecuada para su aprovechamiento y a la inexistencia de un mercado para los productos recuperados (1). La recuperación, reutilización o transformación de los residuos en insumos útiles para los sectores productivos son una opción para el mejoramiento de la problemática ambiental de cada sector. La problemática ambiental generada por las industrias alimentarias, en especial la pesquera, es la contaminación de cuerpos de agua con residuos orgánicos que ocasionan la generación de olores molestos y malas prácticas de eliminación de los residuos, factores que influyen negativamente en el ambiente porque requieren un alto costo de depuración (2). No obstante, los residuos orgánicos están formados por componentes de alto valor nutritivo (proteína, aceites, azúcares, vitaminas, etc.), generando gran interés a nivel mundial ya que permiten su incorporación a las cadenas de ciclos del nitrógeno y del carbono en la naturaleza, por lo que bien utilizados constituyen una fuente potencial de riqueza (3). Una manera de aprovechar dichos residuos es transformándolos en ensilado, el cual es un producto pastoso que sirve para la alimentación animal. El ensilado biológico de pescado se basa en la acidificación del medio favoreciendo la proteólisis de la materia prima; la producción de ácido se consigue mediante un proceso de fermentación controlada con bacterias ácido-lácticas

(BAL) sobre carbohidratos; así se obtiene un producto acidificado estable, con buenas cualidades nutritivas y antimicrobianas contra bacterias patógenas y putrefactivas (4). En la presente investigación se usaron cuatro cepas de BAL aisladas de residuos de pescado para utilizarlas como inóculo en la fermentación del ensilado, con el fin de estudiar el efecto sobre los residuos y la estabilidad en almacenamiento del producto terminado, por medio de recuentos microbiológicos, determinaciones de pH, acidez, bases nitrogenadas volátiles (BNV), composición proximal y aminograma.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Los insumos utilizados para la elaboración de los ensilados biológicos fueron:

Residuos de pescado: se elaboró una pasta de pescado utilizando residuos compuestos por vísceras, branquias y escamas de diversas especies: bagre (*Pseudoplatystoma fasciatum*), trucha (*Oncorhynchus mykiss*) y capaz (*Pimelodus groskopfii*), recolectadas en la Plaza de las Flores de la Central de Abastos de Bogotá, en proporciones similares de cada especie y partes orgánicas. Los residuos se sometieron a cocción durante 20 minutos a 72 °C (± 2 °C) para facilitar la digestión proteica y disminuir la carga microbiana propia de estos (5); una vez fríos se molieron hasta obtener una pasta semilíquida de color marrón.

Melaza de caña (subproducto de la elaboración del azúcar de caña): se utilizó 15% de melaza de 84,5 grados Brix (°Bx) como fuente de carbohidratos para los microorganismos fermentadores inoculados en el producto.

Cepas nativas: se utilizaron cuatro cepas nativas de pescado aisladas y codificadas en el laboratorio de microbiología del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) de la Universidad Nacional de Colombia, denominadas T₃, T₁₀, C₁₀, C₁₄, y una cepa comercial de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, como control positivo, denominada C+. Tanto las cepas nativas como la cepa comercial se activaron en dos etapas siguiendo el procedimiento propuesto por Berenz en 1994 (6, 7).

Ácido sórbico: se adicionó en una proporción de 0,25% para evitar el crecimiento de mohos y levaduras durante el almacenamiento y como antioxidante de la melaza.

MÉTODOS

Los ingredientes para la elaboración del ensilado se mezclaron a temperatura ambiente de 20 °C (± 2 °C) por 30 minutos en recipientes plásticos de 1,5 litros en la siguiente proporción: melaza 15 g, inóculo bacteriano 1 g, ácido sórbico 0,25 g y pasta de residuos de pescado en cantidad suficiente para completar 100 g; luego se procedió a generar condiciones anaeróbicas e incubación durante 72 horas a 35 °C (± 2 °C) para fomentar el crecimiento de BAL (8). Terminado el tiempo de incubación, las muestras se almacenaron, a temperatura ambiente (20 °C ± 2 °C) por 180 días. También se preparó un ensilado con una cepa conocida comercialmente de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, al que se denominó control positivo (C+), y otro al que no se le adicionó cepa bacteriana y se denominó control negativo (C-). Tanto las muestras como los controles se hicieron por triplicado.

Se practicaron análisis químicos de pH, acidez, bases volátiles nitrogenadas, composición química proximal de proteínas, humedad, cenizas, grasas, carbohidratos y aminograma (9), empleando los protocolos

del laboratorio de fisicoquímica del ICTA con base en las normas AOAC. Los análisis microbiológicos también se realizaron con los protocolos vigentes del ICTA como: coliformes totales y fecales (NMP), recuento en placa de mesófilos, estafilococo coagulasa positiva, mohos y levaduras, esporas de clostridium sulfito reductor, *Bacillus cereus*, determinación de *Salmonella* spp. y recuento de bacterias ácido-lácticas (10, 11). También se efectuaron algunos de tipo organoléptico como aroma, color y textura para observar el comportamiento de estos parámetros antes y después del proceso, con la participación de siete jueces entrenados en las características deseables del producto (12).

Una vez terminado el tiempo de incubación de 72 horas, las muestras se almacenaron en un anaquel y los análisis se realizaron a los 30, 60, 90 y 180 días, con el objeto de evaluar la estabilidad del producto.

Los datos tomados durante el tiempo de almacenamiento por cada variable se trataron en el programa SPSS versión 10, para realizar un análisis de varianza (Anova) e identificar diferencias significativas en el comportamiento de las variables y entre tratamientos cepa-fermentación; en los casos en que se encontraron diferencias estadísticas para algunos de los factores o por efecto de la interacción de dos de estos, se procedió a realizar una prueba de comparación múltiple de promedios de Scheffé entre las interacciones, con un nivel de confianza del 95% ($p \leq 0,05$)

RESULTADOS

Los análisis tuvieron como fin observar y evaluar la estabilidad del ensilado en anaquel durante un período de 180 días a temperatura ambiente y atmósfera anaerobia en el empaque cuyos resultados por cada factor se detallan a continuación:

Comportamiento del pH. El pH de las muestras de ensilado y del control positivo

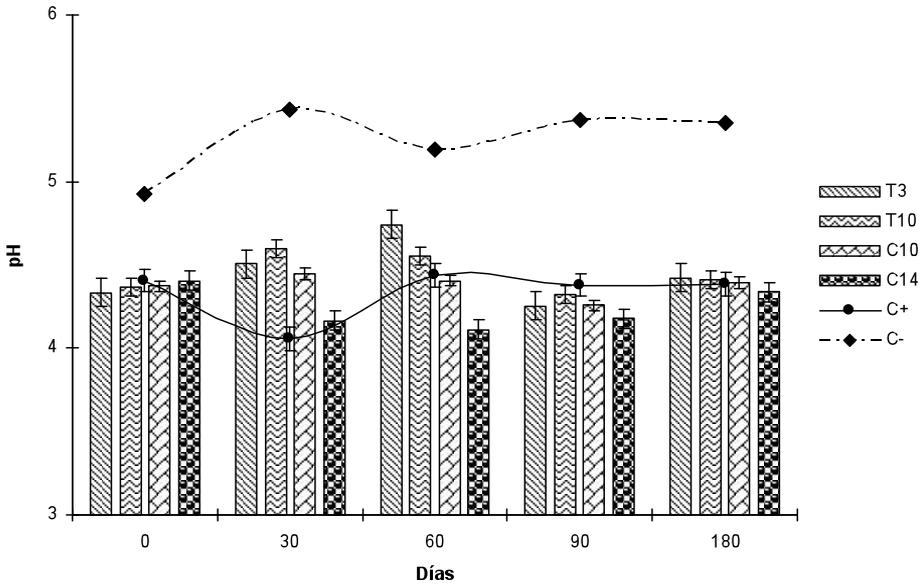


Figura 1. Comportamiento del pH de los ensilados durante 180 días de almacenamiento correspondiente a cada cepa inoculada.

(C+), después de 72 horas de incubación, estuvo entre 4,33 para el producto con la cepa T₃ y 4,41 para el producto con la cepa C₁₄ y el mismo valor para el control positivo (C+). Después de 180 días de almacenamiento, este factor presentó valores entre 4,34 para

el ensilado con cepa C₁₄ y 4,42 para el ensilado con la cepa T₃. El control negativo presentó los valores más altos de pH: inició con 4,93 y terminó con 5,35. En la figura 1 se muestra el comportamiento de los valores de pH a través del tiempo de almacenamiento.

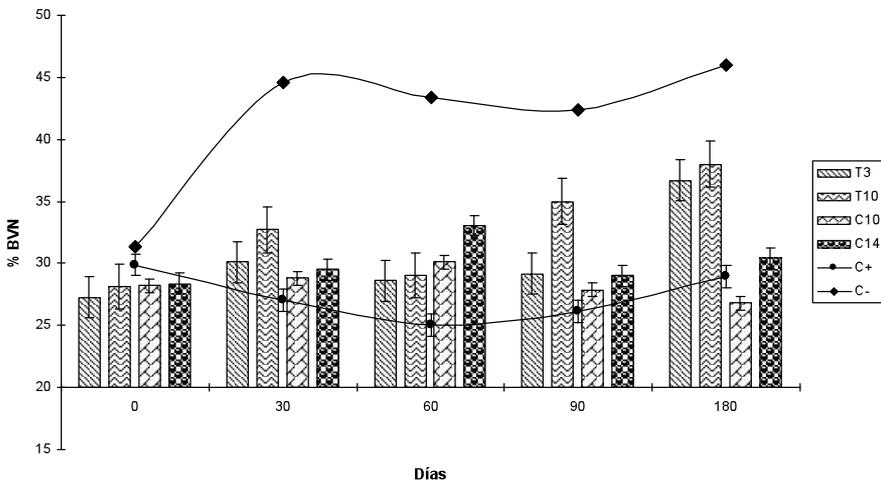


Figura 2. Comportamiento de la acidez expresada como porcentaje de ácido láctico de los ensilados durante 180 días de almacenamiento correspondiente a cada cepa inoculada.

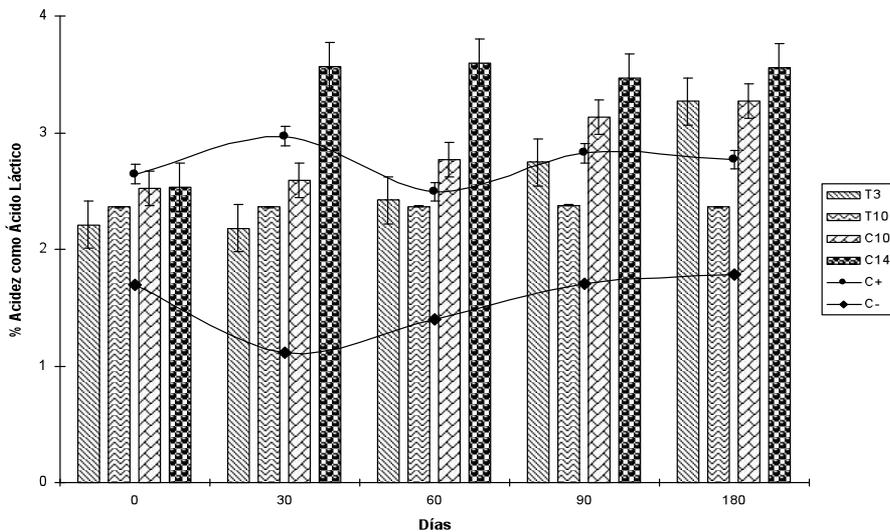


Figura 3. Comportamiento del porcentaje de las BNV de los ensilados durante los 180 días de almacenamiento correspondiente a cada cepa inoculada.

Comportamiento de la acidez. En la figura 2 se presenta la variación de la acidez expresada como ácido láctico durante el proceso. Al comienzo del almacenamiento el porcentaje de acidez estuvo entre 2,21 para el ensilado con la cepa T₃ hasta 2,64 para el control positivo (C+), mientras que el porcentaje para el control negativo (C-) fue de 1,70. Al final de los 180 días el porcentaje de acidez más bajo fue para el producto

con la cepa T₁₀ (2,36), mientras que el valor más alto fue para el producto con la cepa C₁₄ (3,56). El control positivo tuvo una variación en el porcentaje de acidez, el cual inició con 2,64 y terminó con 2,77; sucedió algo parecido con los valores para el control negativo (C-) que cambió de 1,70 a 1,79%.

Comportamiento de las BNV. En la figura 3 se presentan los valores de este parámetro para cada uno de los productos y las

Tabla 1. Composición química proximal en porcentaje de los ensilados después de 180 días de almacenamiento.

	Proximal en base humedad					Proximal en base seca (m. s.)				
	Humedad	Proteína	Grasa	Cenizas	Carbohidratos	Extracto seco	Proteína	Grasa	Cenizas	Carbohidratos
C10	57,11	12,81	12,00	5,94	5,65	41,89	34,57	32,61	14,95	17,83
T3	59,88	14,35	14,22	5,34	5,95	41,12	35,01	34,66	14,54	15,66
C14	57,47	15,47	15,46	6,89	4,72	42,53	36,35	36,33	16,35	10,93
T10	54,87	13,31	13,53	7,29	6,59	43,13	33,97	31,90	16,89	17,68
C +	57,58	13,22	14,73	6,33	6,37	41,60	33,01	35,74	15,28	16,14
Residuos	68,10	12,43	15,21	4,53	0,23	31,70	38,88	48,37	13,55	0,73

Nota: no se realizó el análisis proximal al control negativo por encontrarse en descomposición.

cepas empleadas. Al inicio de la evaluación en anaquel, el porcentaje de BNV estuvo entre 27,93 para el ensilado con la cepa C₁₀ hasta 30,90 para el producto inoculado con T₁₀, mientras que el valor para el control positivo (C+) fue de 30,67 y el valor más alto de este factor fue para el control negativo (C-) de 43,33%. Al final de los 180 días el porcentaje de BNV más bajo fue para el producto con la cepa C₁₀, mientras que el valor más alto fue para el producto con la cepa T₁₀. El control positivo disminuyó el porcentaje inicial de 30,67 a 28,90 y el control negativo pasó de 43,33 a 46,00%.

Composición química proximal de los ensilados. En la tabla 1 se aprecia que no se encontraron diferencias numéricas en el contenido de humedad, proteínas, grasas,

minerales y carbohidratos entre los ensilados de pescado, con valores muy cercanos entre sí.

Aminograma. Según los datos registrados en el aminograma de la tabla 2, el contenido de aminoácidos de la proteína de los ensilados estudiados es bajo; sin embargo, se encuentran algunos valores sobresalientes de estos componentes en los diferentes ensilados: aspártico (3,87%), histidina (3,11%) y prolina (6,08%) en el ensilado T₁₀; glutámico (2,39%), treonina (2,78%) y alanina (2,67%) en el T₃; y metionina (3,62%) en el C₁₄. Igualmente se encontró que los valores inferiores al 1% en todos los ensilados fueron para los aminoácidos glicina, cisteína e isoleucina.

Tabla 2. Composición de la proteína de los ensilados expresados como aminoácidos (g) por cada 100 g de m. s. (a. a. g/100 g m. s.) después de 180 días de almacenamiento correspondiente a cada cepa inoculada.

	Pasta	T10	C10	T3	C14	C +
Aspártico	3,19	3,87	2,44	2,41	2,41	2,10
Glutámico	2,38	2,24	1,67	2,39	1,57	1,92
Serina	1,70	1,6	1,19	1,70	1,12	1,37
Glicina	0,05	0,10	0,06	0,07	0,05	0,06
Histidina	2,35	3,11	1,82	2,07	1,70	1,95
Arginina	0,84	1,25	0,71	0,99	0,56	0,92
Treonina	2,00	1,13	1,71	2,78	1,38	1,73
Alanina	1,66	2,22	1,62	2,67	1,45	1,43
Prolina	4,77	6,08	3,32	4,60	3,39	4,06
Tirosina	1,62	0,41	0,98	1,08	0,97	1,23
Valina	1,46	2,14	0,9	2,12	0,99	0,87
Metionina	4,44	3,47	2,87	3,11	3,62	3,43
Cisteína	0,54	0,95	0,31	0,86	0,31	0,49
Isoleucina	0,12	0,04	0,05	0,08	0,03	0,09
Leucina	1,45	1,39	1,29	1,49	1,05	1,32
Fenilalanina	0,91	1,01	0,77	1,16	0,96	0,70
Lisina	0,88	0,93	0,62	1,27	0,67	0,80

Nota: no se realizó el aminograma para el control negativo por encontrarse en descomposición.

Análisis microbiológico. Al iniciar la fase de almacenamiento, cada una de las muestras presentó una carga no detectable de microorganismos indeseables; así, el recuento de *Bacillus cereus* y de *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva) fue menor de 100 UFC/g en todos los ensilados, el de coliformes fecales menor de 3 y el de esporas de *Clostridium* spp. (sulfito reductor) menor de 10; tampoco se evidenció presencia de *Salmonella* spp. en ninguno de los productos almacenados.

Con relación a la concentración de BAL, se mantuvo desde la hora cero y a lo largo del proceso de almacenamiento, lo que dio evidencia de la viabilidad de dicha población bacteriana.

Evaluación organoléptica. En la tabla 3 se registran los valores del análisis de los jueces entrenados en los factores de color, aroma y consistencia de un ensilado. Los análisis mostraron que los ensilados mantuvieron el aroma agradable, consistencia blanda y un color ámbar oscuro, tanto para el producto con diferentes cepas como para el control positivo (C+). El control negativo (C-) a los 30 días presentó un fuerte olor alcohólico y a los 180 días el aroma fue putrefacto; por otra parte, la consistencia era líquida y se registró un color amarillo muy diferente al de los ensilados inoculados con BAL, muy probablemente por la hidrólisis proteica; mientras que los ensilados inoculados mantuvieron una consistencia blanda hasta el final del almacenamiento.

Tabla 3. Análisis sensorial del producto después de 180 días de almacenamiento.

	Color	Aroma	Consistencia
Residuos	2	2	1
C10	1	1	2
C14	1	1	2
T10	1	1	2
T3	1	1	2
C+	1	1	2
C-	3	4	3

Parámetros de análisis sensorial de la tabla 3:

Color	Aroma	Consistencia
1: ámbar oscuro	1: agradable: pescado y melaza	1: pastosa
2: ámbar claro	2: ligeramente alcohólico	2: blanda
3: amarillento	3: desagradable	3: semilíquida
	4: putrefacto	

DISCUSIÓN

Diferentes autores han reportado el uso de 15% de melaza para la elaboración de ensilados de pescado (5, 6, 7); sin embargo, se realizaron ensayos preliminares para confirmar esta recomendación, utilizando cuatro concentraciones de melaza (5, 10, 15 y 20%) y un inóculo bacteriano de 1% con una cepa de marca comercial conocida (Hansen®), incubados por 72 horas, a 35 °C (± 2 °C), parámetros recomendados por la casa comercial. Los resultados de acidez con adición del 15 y el 20% de melaza no fueron relevantes porque el pH fue más bajo con 15% de melaza, por lo cual se empleó este último valor.

De acuerdo con los datos reportados en las figuras 1, 2 y 3, las cepas seleccionadas brindaron estabilidad al producto por lo menos en 180 días de almacenamiento pues se evidencia que los valores de pH se mantienen a través del tiempo; así mismo, los porcentajes de acidez, expresados como ácido láctico, mostraron una fermentación paulatina del producto; la cepa T₁₀ mantiene un porcentaje de acidez similar durante todo el tiempo de almacenamiento y es la más baja en comparación con los otros productos; la cepa C₁₄ aportó la mayor acidificación al término de la evaluación de 180 días, mientras que la cepa de control positivo presentó el menor porcentaje de acidez en el ensilado durante el mismo período. Como las BNV son indicadores de alteración del pescado (6) e indican la velocidad de hidrólisis de las proteínas y en gran medida la calidad del producto, el análisis mostró que no se presentaron cambios significativos en los valores de la proteína durante el tiempo de almacenamiento, debido a que el proceso de fermentación le dio estabilidad al producto, efecto que se confirmó ya que el ensilado sin inóculo aumentó en un 50% el porcentaje de BVN. La concentración final

de estos compuestos nitrogenados hallados en los ensilados evaluados no es relevante; si se tiene en cuenta que el valor medio de aceptación de las BNV para el pescado fresco para consumo humano es inferior a 20 mg N/100 g, cuando la cifra llega a 30 mg N /100 g se considera aceptable, y solo cuando la cifra llega a 40 mg N/100 g la mayoría de las autoridades consideran que el pescado no es apto para el consumo (8); los resultados obtenidos en estas determinaciones arrojan un incremento progresivo del nitrógeno no proteico con el transcurso del tiempo y se observa cierta relación entre el pH y las BNV ya que, a medida que el pH disminuye, se favorece la actividad proteolítica de ciertas enzimas que actúan sobre las proteínas del pescado. Por otra parte, la actividad autolítica aumenta el contenido de aminas, aminoácidos y péptidos, sustancias solubles, que afectan la capacidad amortiguadora del producto e incrementan nuevamente el pH, por lo que las bacterias ácido-lácticas se ven forzadas a producir más ácido (12, 13).

Debido a que la elaboración de un ensilado requiere solamente de cambios físicos que no influyen en el aumento o disminución de los componentes, no se encontraron diferencias en el contenido de humedad, proteínas, grasas, minerales y carbohidratos entre los productos, con valores muy cercanos entre sí.

Por otra parte, en el análisis, la diferencia de composición química proximal (% m. s.), entre los residuos de pescado y los productos terminados mostrados en la tabla 1, pudo darse por la adición de carbohidratos en los tratamientos con cepa seleccionada, dando como resultado la disminución del contenido porcentual de los demás componentes de los ensilados; por lo tanto, se puede decir que los componentes están más diluidos en los productos finales, como se nota en la pasta que tiene el valor más bajo

de carbohidratos (0,73% m. s.), ya que no se le adicionó melaza.

El nivel de proteína en base seca en los ensilados de pescado puede variar entre 45% y 70% de acuerdo con el reporte de Berenz (7); sin embargo, el contenido de proteína en los productos estudiados (33,01–38,88% en base seca) es importante si se tiene en cuenta que los residuos empleados como materia prima en este estudio estuvieron compuestos principalmente por branquias y escamas que tienen un menor contenido de proteína que el de las vísceras y pescados enteros empleados en el estudio de la referencia.

De igual forma, el contenido de humedad en los ensilados fue elevado, por lo que los valores de proteína son menores que cuando los mismos se comparan con la harina de pescado referenciada.

El contenido de grasa de los ensilados osciló entre 12 y 15,5% en base húmeda; mientras que algunos trabajos han reportado 5,3% en ensilado elaborado con residuos de sardinas (6, 11); esto hace pensar que el valor registrado en este estudio es alto. Así mismo, este es un factor importante desde el punto de vista energético y de nutrición para los animales, por lo cual se debe tener en cuenta al formular las dietas para estos, puesto que niveles excesivos de grasa pueden dar lugar al desarrollo de aromas de pescado indeseables en la carne de cerdo y pollo, pero no es un problema para alimentar otro tipo de animales, por ejemplo peces.

El contenido de aminoácidos de la proteína de los ensilados estudiados es bajo, y es consecuente con el reportado en trabajos anteriores para este tipo de producto (6, 7); también es inferior con relación a la proteína de la harina de pescado que tiene una alta proporción de aminoácidos esenciales en una forma altamente digerible, particularmente metionina, cisteína, lisina, treonina y triptófano (9).

Los microorganismos presentes en los ensilados no presentaron diferencias ni por efecto del tiempo de almacenamiento ni por efecto de los inóculos bacterianos así como de las propiedades organolépticas. Se encontró que todos los productos conservaron bajos contenidos de microorganismos indeseables y un alto contenido de BAL. Aunque el ensilado no tratado con microorganismos (C-) también redujo el contenido de microorganismos indeseables de 225 ufc/g a 3 ufc/g al término del almacenamiento, porque siempre se mantuvo en condiciones de anaerobiosis, el producto fue inaceptable organolépticamente y se deterioró antes de finalizar los seis meses de anaquel. Todo lo anterior muestra la importancia de la fermentación láctica en la conservación física, química y de propiedades organolépticas del ensilado.

Durante el almacenamiento, el ensilado sin inóculo (C-) presentó en corto tiempo aromas alcohólicos, y este factor puede restar palatabilidad al producto final suministrado a los animales; así mismo, el olor desagradable en esta muestra se incrementó a través del tiempo y a los seis meses resultó putrefacto. De la misma manera, se observó una acelerada licuefacción mientras que el resto de ensilados mantuvieron el aroma agradable, y aunque se produjo licuefacción debida a la hidrólisis proteica, la consistencia fue blanda hasta el final del almacenamiento.

CONCLUSIONES

Las cepas de bacterias ácido-lácticas ensayadas para el desarrollo de ensilados a base de residuos de pescado presentaron un buen comportamiento en el proceso de almacenamiento, dado por el aumento de la acidez expresada como ácido láctico, producida de la fermentación, y por los conteos microbianos que se mantuvieron constantes; esto muestra la viabilidad en el producto y

el beneficio en el mismo. La fermentación llevada a cabo por las bacterias lácticas fue el factor inhibitorio del crecimiento de microorganismos indeseables, evidenciado en la ausencia de los mismos en los conteos hechos durante el tiempo de almacenamiento y por la calidad organoléptica que presentó el producto durante el almacenamiento. Los ensilados producidos a partir de residuos de pescado presentaron porcentajes aceptables de proteínas, grasas, cenizas, carbohidratos y aminoácidos, que hacen de este producto una fuente proteica y energética factible de utilizar en alimentación animal.

REFERENCIAS

1. Szttern D, Pravia MA. Manual para la elaboración de compost. Bases conceptuales y procedimientos. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud; 1999.
2. Álvarez M, Ardila H, Mosquera D. El impacto ambiental de la pequeña y mediana empresa en los recursos hídricos de Colombia. En: Agua Latinoamérica 2001; septiembre-octubre:26.
3. Arvanitoyannisa I. Fish waste management: Treatment methods and potential uses of treated waste. Waste Management for the Food Industries 2008; 861-937.
4. Mohaibes M, Tanski H. Aerobic thermophilic treatment of farm slurry and food wastes. Bioresource Technology 2004; 95(3):245-54.
5. Ellouz Y, Bayoudh A, Kammoun S, Ghaesallah N, Nasri M. Production of protease by *Bacillus subtilis* grown on sardinelle heads and viscera flour. Bioresource Technology 2001; 49-51.
6. Enes M, Robert M, Rombouts F, Houben J, Wymenga W. Biogenic amine formation and degradation by potential fish silage starter microorganisms. International Journal of Food Microbiology 2000; 107-14.
7. Berenz Z. Utilización del ensilado de residuos de pescado en pollos. En: Memorias de un taller regional organizado por el Instituto de Investigaciones Porcinas (IIP) y FAO. La Habana, Cuba; 1994; (2):11.
8. Vásquez J, Docasal F, Prieto M, González M, Murado M. Growth and metabolic features of lactic acid bacteria in media with hydrolysed fish viscera. An approach to bio-silage of fishing by-product. Bioresource Technology 2008; 6246-57.
9. Vidotti R, Viegas E, Carneiro D. Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. Animal Feed & Science Technology 2003; 105:199-204.
10. Shiro I, Takeshi A, Sayaka W, Erika I, Yuna K, Haruo S. Isolation of halotolerant *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from intestinal tract of coastal fish. International Journal of Food Microbiology 2008; 121:116-21.
11. Zahar M, Benkerroum N, Guerouali A, Laraki Y, El-Yakoubi K. Effect of temperature, anaerobiosis, stirring and salt addition on natural fermentation silage of sardine wastes in sugarcane molasses. Bioresource Technology 2002; 171-6.
12. Santana H, Ávila E, Sotelo A. Preparation of silage from Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets. Animal Feed & Science Technology 2008; 141:129-40.
13. Cira L, Huerta S, Hall G, Shirai K. Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. Process Biochemistry 2002; 1359-66.