RESIDUOS PISCÍCOLAS A ENSILAJE BIOLÓGICO: EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA

From Fish Waste to Biological Silage: Physico-Chemical Evaluation

¹Rodrigo Ortega-Toro, ²José Luis Hoyos Concha

Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias, Popayán, Colombia.

¹rodrigo.ortega@gmail.com ²jlhoyos@unicauca.edu.co

Recibido: 21/07/2015 • Aprobado: 15/09/2015

RESUMEN

Una alternativa para estabilizar los subproductos provenientes de piscifactorías es el ensilaje de los residuos y vísceras, los cuales servirán como base para la alimentación de otras especies. Este proceso es amigable con el medio ambiente, seguro, simple tecnológicamente y económico. El objetivo del presente trabajo fue evaluar parámetros fisicoquímicos de residuos de tilapia durante el proceso de fermentación ácido láctica. Se fermentaron matrices de residuos de tilapia roja (Oreochromis spp.) inoculadas con bacterias ácido lácticas (BAL) de yogur y Lactobacillus plantarum B2. Se usó un diseño factorial de 22 en el que los factores por evaluar fueron la matriz y el inóculo, cada uno con dos niveles. Se evaluaron, así mismo, parámetros fisicoquímicos como, pH, acidez titulable, consumo de azúcares totales y análisis proximal. Se encontró que el proceso fermentativo de ensilado inoculado con L. plantarum B2 presentó mejor comportamiento en cuanto a reducción de pH y producción de acidez titulable. En cuanto al ensilaje obtenido mediante la fermentación con yogur, presenta parámetros de calidad aceptables siendo este inóculo una alternativa viable para llevar a cabo el proceso de fermentación.

Palabras clave: ensilaje biológico, fermentación ácido láctica, residuos, tilapia.

ABSTRACT

An alternative to stabilize the by-products from fish farms is the silage of waste and viscera, which will serve as a basis for the supply of other species. This process is friendly with the environment, safe, economic and simple technologically. The objective of the present work was to evaluate physicochemical parameters of tilapia residues during the process of acid lactic fermentation. Waste samples of red tilapia (Oreochromis spp.) inoculated with lactic acid bacteria (BAL) of yogurt and Lactobacillus plantarum B2 were fermented. It was used a factorial design of 22 in which the factors for evaluating were the samples and the inoculum, each with two levels. We evaluated, likewise, physicochemical parameters such as pH, titrable acidity, consumption of total sugars and proximate analysis. It was found that the fermentative process of silage inoculated with L. plantarum B2 showed a better

behavior in regard to pH reduction and titratable acidity production. In regard to the silage obtained through the fermentation with yogurt, it presents parameters of acceptable quality, being this inoculum a viable alternative to carry out the fermentation process.

Keywords: acid lactic fermentation, biological silage, tilapia, waste.

\bullet

I. Introducción

El ensilaje de pescado se define como un producto semilíquido, pastoso, producido a partir de los residuos de la industria pesquera, carbohidratos como fuente energética y fermentado anaeróbicamente mediante la adición de BAL [1].

El constante desarrollo de la industria pesquera genera gran cantidad de residuos que son considerados materias de buena calidad proteica y se descartan anualmente generando gran contaminación. En Colombia, la acuicultura tiene gran auge, contribuyendo a la productividad del país. Por otro lado, se ha incrementado la preocupación por el medio ambiente y el óptimo aprovechamiento de los recursos, promoviendo la utilización integral de residuos, dándoles uso idóneo y disminuyendo en gran medida la contaminación [2].

Una alternativa para estabilizar los subproductos provenientes de piscifactorías, es el ensilaje de los residuos y vísceras, que servirán como base para la alimentación de otras especies. Este proceso es amigable con el medio ambiente, seguro, simple tecnológicamente y económico [2, 3].

El ensilado ha sido estudiado extensamente para incrementar la productividad de algunas industrias [4]. Entre sus aplicaciones está el abono orgánico [5], la producción de condimentos y químicos, alimentación de cerdos, aves y peces, cuyes mejorados [6] y camarón blanco [7], cuyo resultado es la disminución tanto de la contaminación como de los costos totales de producción [8].

A pesar de las ventajas de utilización del ensilaje, aún no se ha definido un patrón composicional [5]. Sin embargo, muchos investigadores han utilizado residuos y vísceras de pescado como componentes principales para la fermentación [8], inoculando con BAL de diversas especies, entre las que se encuentran el *Lactobacillus plantarum B2* y las BAL de yogur [9] por su disponibilidad y efectividad en la fermentación.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de matrices de ensilaje durante 18 días de fermentación a temperatura ambiente inoculado con BAL de yogur y *L. Plantarum B2*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Materiales

La Asociación de Piscicultores de Mindalá (Asopim), la Asociación de Productores Indígenas del Cauca (Asproinca) y la Asociación de Piscicultores de la Salvajina del municipio de Morales-Cauca (Apismo), ubicados en la represa La Salvajina (Cauca), fueron los entes encargados de suministrar los residuos y vísceras de tilapia roja. Por su parte, el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad del Cauca proporcionó la cepa de Lactobacillus plantarum B2 y las BAL del yogur fueron aisladas de un yogur comercial. Como fuente de carbono se usó harina de yuca (Manihot esculenta Crantz) variedad HMC-1, adquirida en la empresa Deriyuca Ltda. ubicada en el municipio de Mondomo (Cauca); como anti fúngico se utilizó benzoato de sodio [10] adquirido de Sigma Aldrich, y como antioxidantes se dispuso de extracto de cebolla [11] proporcionados por las plantas piloto de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca.



B. Métodos

- 1) Activación de las cepas: las cepas fueron activadas en un medio alternativo estandarizado, e incubando a 35 ºC por 48 h [12] en una incubadora E&Q serie IDEN-6V.
- 2) Eviscerado y fileteado: las tilapias rojas se cosecharon en la represa La Salvajina, se congelaron y transportaron hasta la Planta Piloto de Cárnicos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad del Cauca donde se evisceraron y filetearon y, posteriormente, se homogenizaron en un molino industrial Javar serie 06 con un disco de 4,5 mm. Las vísceras fueron homogenizadas usando el mismo método.
- 3) Preparación del ensilado: el material crudo se mezcló usando un 15,4% de vísceras y 84,6% de residuos, proporciones establecidas de acuerdo con las condiciones composicionales de la tilapia roja en estado natural, como se determinó en estudios preliminares. A todos los tratamientos se les mezcló con 15% de harina de yuca como fuente de carbono, 0,25% de benzoato de sodio como fungicida y 0,1% de extracto de cebolla como antioxidante. Los tratamientos se pusieron en reactores con capacidad de 500g dejando un espacio de cabeza del 60%; los reactores tenían un orificio de 0,5 mm de diámetro para que los gases producidos pudieran salir. En la Tabla 1 se muestran las fracciones másicas de cada formulación. Los tratamientos se almacenaron baio condiciones ambientales para su monitorización.

TABLA I
FRACCIONES MÁSICAS DE LAS FORMULACIONES ESTUDIADAS

FORMULACIÓN	VY	VP	RY	RP
Xviseras	0,798	0,798	0,123	0,123
Xresiduos			0,675	0,675
Xharina	0,120	0,120	0,120	0,120
Xinóculo	0,080	0,080	0,080	0,080
Xbenzoato de sodio	0,002	0,002	0,002	0,002
Xextracto cebolla	0,001	0,001	0,001	0,001
	1,000	1,000	1,000	1,000

- 4) Medición de parámetros fisicoquímicos: para medir el pH, se realizó una dilución 10-1 en agua destilada y se centrifugó por 10 min a 5000 rpm [13] usando una centrífuga Indulab 7849; el sobrenadante se usó para realizar la lectura de pH [11] usando un pH metro marca Oakton serie 324546. Del sobrenadante resultante de esta determinación, se tomaron 10 mL; fueron titulados con NaOH 0,1 N normalizado hasta llegar a un pH final de 8,2 [4]. Para llevar a cabo la titulación, se usó una bureta clase A marca Blaubrand y un pH metro marca Oakton serie 324546. Se determinó azúcares totales por el método de Antrona, cada 72 h. Se realizaron las pruebas de humedad (AOAC 934,01) [14], cenizas (AOAC 942,05) [15], extracto etéreo (AOAC 920,39) [16], nitrógeno (AOAC 976,05) [17], fibra bruta (AOAC 962,09) [18] y extracto no nitrogenado a los 0, 6, 12 y 18 días de fermentación. Todas las pruebas se realizaron por triplicado en los Laboratorios de Química y Biotecnología de la Universidad del Cauca.
- 5) Análisis estadístico: se empleó un arreglo factorial de 22, en el que los factores fueron la matriz de fermentación (una matriz compuesta por vísceras y una combinación de vísceras y residuos conservando las proporciones del animal vivo); y el inóculo (yogur y *L. plantarum B2*) se evaluó por triplicado con un α de 0,05. Los tratamientos estudiados fueron VY (vísceras inoculados con yogur), VP (vísceras inoculados con *L. plantarum*), RY (residuos + vísceras inoculados con yogur) y RP (residuos + vísceras inoculados con *L plantarum*). Se tomaron mediciones de los parámetros fisicoquímicos durante 18 días de fermentación.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Activación de las cepas

En estudios previos [19], se comprobó que tanto la cepa de yogur como la de *L. plantarum* tuvieron un desarrollo satisfactorio. La cepa de yogur alcanzó un crecimiento de bacterias lácticas de 7,22 g/L, un consumo de azúcares totales al final de las



48 h de fermentación del 58,5% y una generación de ácido láctico de 10,08 g/L. Para el *L. Plantarum* el crecimiento fue de 19,6 g/L, consumo de sustrato de 97,6% y generación de ácido láctico de 18 g/L.

B. Parámetros fisicoquímcos

A continuación se describen los resultados de los análisis fisicoquímicos.

1) Seguimiento de pH y acidez titulable: el seguimiento de estas dos variables es el mejor indicador del desarrollo de un ensilaje biológico [20]. En las Fig. 1 y 2 se observan los datos de pH y acidez durante 18 días de fermentación. La acidez se encuentra en un rango entre 0,31 y 0,47 % de ácido láctico y el pH desciende a valores cercanos a 4,0 [19]. De igual forma, se observa que el *L. plantarum* es la bacteria que más disminuyó el pH y elevó la acidez titulable, tal como observan otros autores [21].

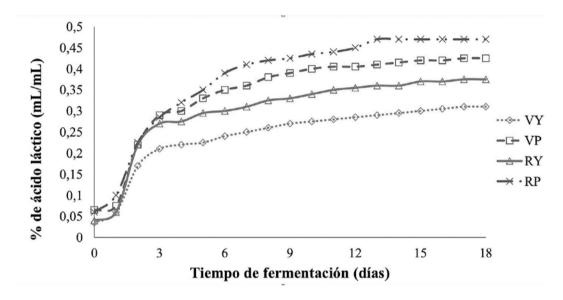


Fig. 1 Porcentaje de acidez Vs. tiempo de fermentación

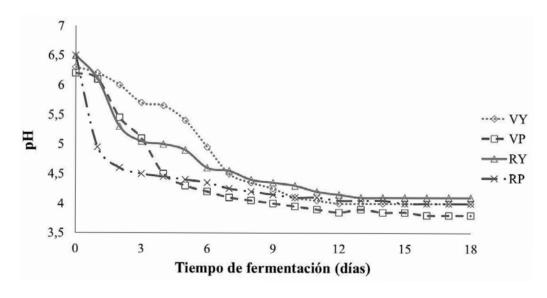


Fig. 2 pH Vs. tiempo de fermentación



La diferencia entre los valores, sugiere que *L. plantarum* tiene mayor capacidad de producir ácido y soportar concentraciones más elevadas de este [22] para ambas matrices de ensilado, como muestra la Fig 1.

El análisis de varianza realizado arrojó que la especie de BAL usada como inóculo, la matriz de fermentación y la interacción entre el inóculo y la matriz de fermentación influyen significativamente ($\alpha=0.05$) en la disminución de pH y en el aumento de acidez. De la misma forma, la prueba de Tukey para promedios arrojó que los tratamientos más influyentes sobre ambas variables fueron RP seguido de VP, RY y VY.

2) Reducción de azúcares totales: a medida que las BAL se establecen en el medio, utilizan la fuente de carbono disponible para poder crecer y llevar a cabo su proceso metabólico [23]. En la Fig 3 se observa que la matriz más influyente es aquella conformada por vísceras, seguida por la de residuos y vísceras. El mayor consumo de azúcares pudo deberse a la fermentación de los carbohidratos disponibles por parte de la flora natural endógena [24]. La matriz de vísceras mostró un descenso de pH más lento y un mayor conteo de bacterias mesófilas provocando la sobrevivencia de bacterias como las coliformes totales durante los primeros días de fermentación, como se reportó en otros estudios [25].

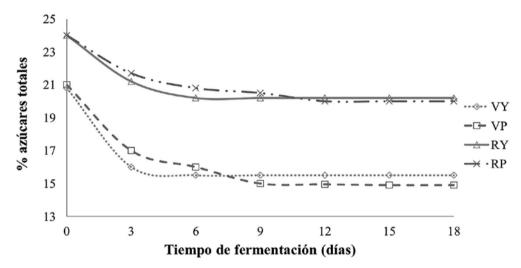


Fig. 3 Azúcares totales Vs. tiempo de fermentación

En la matriz de residuos se presentó un menor consumo de la fuente de carbono, debido a un rápido descenso del pH en el proceso fermentativo por la producción de ácido láctico inhibiendo la flora indeseable [24]. En cuanto a la cepa utilizada, los resultados muestran al final del proceso fermentativo un mayor consumo de azúcares durante el tiempo de fermentación por *Lactobacillus plantarum B2* para las dos matrices, seguidas por las BAL del yogur.

Sin embargo, es posible observar en la Fig 3, que el consumo de la fuente de carbono es mayor por parte de las bacterias del yogur para ambas matrices en los primeros días de fermentación. En el caso de la matriz de vísceras, las BAL del yogur exhiben un mayor consumo hasta el día 6, tiempo en el que el consumo es igualado y superado posteriormente por *Lactobacillus plantarum*. Este mismo efecto ocurrió para la matriz de residuos y vísceras en el día 9 de fermentación.

3) Análisis proximal: los resultados obtenidos mediante el análisis proximal se muestran en la Tabla 2. Se puede observar que el contenido de grasa en todos los tratamientos aumentó mientras que el contenido proteico no presentó cambios notables para la matriz conformada por residuos y vísceras.



TABLA II

Análisis Proximal de las Formulaciones Estudiadas Durante 18 Días de Fermentación

TRATAMIENTO	DÍA	MINERALES	PROTEÍNA	GRASA	FIBRA
	0	$4.9^{A} \pm 0.4$	14,7 ^{AB} ± 0,6	20,4 ^A ± 1,5	1,63 ^B ± 0,13
VP	6	5,2 ^B ± 0,3	14,6 ^{AB} ± 1,4	20,1 ^A ± 1,9	1,66 ^B ± 0,12
	12	$4.9^{A} \pm 0.5$	14,1 ^A ± 1,2	20,4 ^A ± 1,5	1,61 ^B ± 0,14
	18	$4.9^{A} \pm 0.4$	15,1 ^B ± 0,5	23,9 ^B ± 1,8	1,36 ^A ± 0,15
	0	4,8 ^A ± 0,5	13,8 ^A ± 0,9	21,5 ^A ± 1,2	1,53 ^B ± 0,14
VY	6	5,8 ^B ± 0,4	18,9 ^B ± 1,0	32,1 ^B ± 1,5	0,88 ^A ± 0,12
	12	6,3° ± 0,2	19,5 ^B ± 1,2	29,8 ^{AB} ± 1,2	0,89 ^A ± 0,15
	18	7,0 ^D ± 0,4	19,9 ^B ± 0,8	30,1 ^{AB} ± 1,4	0,76 ^A ± 0,14
RP	0	10,7 ^A ± 0,4	28,8 ^B ± 1,4	17,1 ^A ± 1,2	0,91 ^A ± 0,12
	6	10,0 ^A ± 0,5	27,1 ^A ± 1,3	18,8 ^{AB} ± 1,1	1,06 ^B ± 0,13
	12	$9.8^{A} \pm 0.3$	28,9 ^B ± 1,5	19,2 ^B ± 0,9	1,13 ^B ± 0,14
	18	10,4 ^A ± 0,5	27,6 ^A ± 1,2	19,4 ^B ± 1,4	1,15 ^B ± 0,13
	0	11,5 ^B ± 0,9	29,2 ^B ± 1,4	17,0 ^A ± 1,2	1,06 ^A ± 0,13
RY	6	10,3 ^A ± 0,5	28,0 ^A ± 1,3	20,1 ^B ± 1,0	1,1 ^A ± 0,14
	12	10,3 ^A ± 0,3	29,1 ^B ± 1,2	20,2 ^B ± 1,1	1,25 ^B ± 0,12
	18	10,4 ^A ± 0,5	28,3 ^A ± 1,4	20,2 ^B ± 1,2	1,18 ^B ± 0,11

Letras superíndices diferentes en las columnas de la misma formulación indican diferencias significativas entre los tiempos de fermentación (p < 0.05).

El incremento que se obtiene tanto para el extracto etéreo como para el contenido proteico se debe a la reducción de los carbohidratos en el proceso fermentativo los cuales se utilizan como fuente energética, no solo por las BAL, sino también por la flora natural presente al inicio de la fermentación, provocando la concentración de los otros nutrientes.

Para la matriz conformada por vísceras para ambos inóculos, la mayor concentración de los nutrientes se debe a la alta producción de gas, principalmente de CO₂, causada por la flora presente en las materias primas [26] como los coliformes fecales, levaduras y aerobios mesófilos [25]

Para las matrices RP y RY, este efecto se presentó en menor proporción; esto está relacionado directamente con el comportamiento del pH, el cual descendió más rápido (Fig 2), logrando en menor tiempo la inhibición de la flora causante del CO₂.

En cuanto a los resultados obtenidos para el contenido proteico, estos concuerdan con lo reportado por otros autores [27], quienes no encontraron cambios significativos ($\alpha=0.05$) en cuanto al contenido de proteína del ensilaje final con respecto a los residuos de pescado fresco conformados por cabezas, espinas, cola, piel y vísceras.



Debido a esto se observa también una disminución del contenido de materia seca. Puede atribuirse a que durante el proceso fermentativo se producen compuestos volátiles (compuestos a base de carbono, CO₂, etanol, ácido grasos libres, entre otros) que pudieron haberse volatilizado al realizar la prueba de determinación de humedad en la que se utilizan temperaturas de 105°C [12, 28].

En relación con el contenido de minerales, este se mantiene estable en las matrices fermentadas, observando un mayor contenido en las matrices conformadas por residuos. Este contenido puede ser atribuido a la gran cantidad de huesos y piel presentes en los residuos de pescado [28].

Por su parte, el contenido de fibra no presenta cambios significativos durante el proceso de ensilaje; este es un elemento esencial ya que se considera como un prebiótico que podría producir efectos beneficiosos en el pez, estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de algunas bacterias del aparato digestivo, además de favorecer la respuesta inmunológica aumentando las defensas y resistencia a enfermedades [29].

IV. Conclusiones

La fermentación de vísceras y residuos de tilapia roja usando como inóculos *L. plantarum B2* y BAL de yogur permite la obtención de ensilado estable y apto para la elaboración de concentrados para especies piscícolas y animales de granja. El proceso fermentativo de ensilado de tilapia roja inoculado con *L. plantarum B2* presenta mejor comportamiento en cuanto a reducción de pH y producción de acidez titulable. Por su parte, el ensilaje obtenido mediante la fermentación con BAL del yogur presentó parámetros de calidad aceptables, siendo este inóculo una alternativa viable para llevar a cabo el proceso de fermentación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad del Cauca y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia por el soporte económico a través del proyecto Valoración técnica y económica de los subproductos obtenidos de la transformación agroindustrial de la tilapia roja (Oreochromis spp) en la represa La Salvajina, municipio de Suárez, departamento del Cauca".

REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS

- [1] H. Van Wyk y C. Heydebdrych, "The production of naturally fermented fish silage using various lactobacilli and different carbohydrate sources", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 36, pp. 1093-1103, 1985.
- [2] H. Santana Delgado, E. Avila, y A. Sotelo, "Preparation of silage from spanish mackerel (Scomberomorus aculates) and its evaluation in broiler diets," Animal Feed Science and Technology, vol. 141, pp. 129–140, 2008.
- [3] E. Dapkevicius, M. de Lourdes, I. Batista, M. J. Robert Nout, F. M. Rombouts, y J. H. Houben, "Lipid and protein changes during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou risso*) by acid and biological methods," *Food Chemirtry*, vol. 63, pp. 97-102, 1998.
- [4] L. A. Cira, S. Huerta, M. H. George, K. Shirai, "Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery," *Process Biochemistry*, vol. 37, pp. 1359 -1366, 2002.
- [5] G. G. Pinto De Carvalho, A. J. Vieira Pires, C. Mattos Veloso, F. Ferreira da Silva y B. M. Aparecida de Carvalho, "Silagem de resíduo de peixes em dietas para alevinos de tilápia-do-nilo", Revista Brazileira de Zootecnia, vol. 35, pp. 126-130, 2006.
- [6] J. Mattos, L. Chauca, F. San Martín, F. Carcelén y T. Arbaiza, "Uso del ensilado biológico de pescado en la alimentación de cuyes mejorados", Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, vol. 14, pp. 89-96, 2003.
- [7] D. González, J. Córdoba, F. Indorf y E. Buitrago, "Preliminary studies of fish silage use in white shrimp (*Litopenaeus schmitti*) diet formulation," *Revista científica*, vol. 17, pp. 166-172, 2007.
- [8] L. F. de Arruda, R. Borghesi y M. Oetterer, "Use of Fish Waste as Silage-A Review," Brazilian archives of Biology and Technology, vol. 50, pp. 879-886, 2006.
- [9] E. R. Farnworth, I. Mainville, M. P. Desjardins, N. Gardner, I. Fliss y C. Champagne, "Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation," *International Jour*nal of Food Microbiology, vol. 116, pp. 174-181, 2006.
- [10] R. M. Vidotti, E. M. Macedo Viegas y D. J. Carneiro, "Aminoacid composition of processed fish silage using different raw materials", *Animal Feed Science and Tecnology*, vol. 105, pp. 199-204, 2003.



- [11] O. A. Fagbenro y K. Jauncey, "Physical and nutritional properties of moist fermented fish silage pellets as a protein supplement for tilapia (*Oreochromis niloticus*)," *Animal Feed Science Technology*, vol. 71, pp. 11-18, 1998.
- [12] M. Faid, A. Zouiten, A. Elmarrakchi y A. Achkari-Begdouri, "Biotransformation of fish waste into a stable feed ingredient", Food Chemestry, vol. 60, pp. 13-18, 1996.
- [13] J. A. Vazquez, M. P. Gonzáles y M. A. Murado, "Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish", *Aquaculture*, vol. 245, pp. 149-161, 2005.
- [14] AOAC Determinación de humedad, AOAC 934,01, 1990.
- [15] AOAC Determinación de ceniza, AOAC 942,05, 1990.
- [16] AOAC Determinación de extracto etéreo, AOAC 920,39, 1990.
- [17] AOAC Determinación de nitrógeno, AOAC 967,05, 1990.
- [18] AOAC Determinación de fibra bruta, AOAC 962,09, 1990.
- [19] C. Agudelo, R. Ortega-Toro y J. L. Hoyos, "Determination of kinetic parameters of two lactic inoculums: Lactobacillus plantarum A6 and lactic acid bacterias of yogurt," Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, vol. 8, pp. 8-16, 2010.
- [20] O. A. Fagbenro y O. A. Bello-Olusoji, "Preparation, nutrient composition and digestibility of fermented shrimp head silage," Food Chemistry, vol. 60, pp. 489-493, 1997.
- [21] A. Gelman, V. Drabkin y L, Glatman, "Evaluation of lactic acid bacteria, isolated from lightly preserved fish products, as starter cultures for new fish-based food products," *Inno*vative Food Science & Emerging Technologies, vol. 1, pp. 219-226, 2000.

- [22] S. Bengmark, "Immunonutrition: Role of biosurfactants, fiber, and probiotic bacteria," *Nutrition*, vol. 14, pp. 585–594, 1998.
- [23] G. Reddy, Md. Altaf, B. J. Naveena, M. Venkateshwar y E. Vijay Kumar, "Amylolytic bacterial lactic acid fermentation A review", *Biotechnology Advances*, vol. 26, pp. 22-34, 2008.
- [24] K. Shirai, I. Guerrero, S. Huerta, G. Saucedo, A. Castillo, R. Obdulia y G. M. Hall, "Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation," *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 28, pp. 446-452, 2001.
- [25] R. Ortega-Toro y J.L. Hoyos-Concha, "Microbiology of Tilapia Waste During Lactic Acid Fermentation Process", Agronomía Colombiana, manuscrito aceptado para publicación. ISSN 0120-9965.
- [26] O. Fagbenro y K. Jauncey, "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*, vol. 51, pp. 29-35, 1995.
- [27] J. E. Llanes Iglesias y J. Toledo Pérez, "Evaluación de los desechos frescos de pescado y ensilados como única fuente de proteína animal en la alimentación de híbrido de Clarias (Clarias gariepinus x C. macrocephalus)", Revista AquaTIC, vol. 25, pp.; 22-27, 2006.
- [28] A. Hammouni, M. Faid, M. El yachioui y H. Amarouch, "Characterization of fermented fish waste used in feeding trials with broilers", *Process Biochemistry*, vol. 33, pp. 423-427, 1998.
- [29] A. L. de las Cagigas y J. Blanco "Prebióticos y Probióticos, una relación beneficiosa", Revista Cubana de Alimentos y Nutrición, vol. 16, pp. 63-68, 2002.

