

00550



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**DESARROLLO DE UN ALIMENTO PARA POLLOS DE
ENGORDA A PARTIR DE ENSILAJE DE PESCADO SIERRA
(*Scomberomorus maculatus*)**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

HÉCTOR JULIO SANTANA DELGADO



TUTOR: M. en C. ANGELA SOTELO LÓPEZ
AÑO : 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de cursar mis estudios de posgrado. Al Departamento de Intercambio Académico de la UNAM por la beca recibida para realizar mis estudios de maestría.

A la Maestra Angela Sotelo, por haberme aceptado dentro de su grupo de trabajo, por su incondicional ayuda brindada y por haber fomentado en mí la disciplina, inquietud, paciencia y vocación.

Al Doctor Raimundo Cea Olivares, por toda su ayuda ofrecida.

Al Doctor Ernesto Avila de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, por toda su ayuda brindada durante el desarrollo del ensayo con las aves, sus oportunos consejos y fraternidad; por su intermedio gracias al personal de la granja del Centro de Enseñanza, Investigación, Extensión en Producción Avícola (CEIEPA) por su gentil ayuda.

A Argelia, Leticia, Iliana, Rosita, Vicky, personal de apoyo del laboratorio 111, por alegrarme los días y hacerlos más llevaderos, por sus consejos y ayuda brindada. Al Maestro Bernardo Lucas, por su sincera amistad y por su oportuna ayuda.

A Gabriela, Noriko, Toño, Poncho, Fernanda Pérez, Fernanda Cardoso, Carlos de Jesús, Fidel, Sandra, Hebe, Jeannette, Fabiola, Ofelia, Laura, Maribel, René, Juan Carlos, Celina, Hilda y todos los que pasaron por el laboratorio 111 durante estos cuatro semestres de mi estancia allí, gracias por sus atenciones y ayuda.

A la Señora Teresa González, cariñosamente Tere, y a su familia por haberme acogido dentro de su hogar y hacer más agradable mi estancia en este país.

A la Señora Martha Ortega Linares y familia, por toda la ayuda brindada desde mi llegada al país, por su consejos, apoyo y hospitalidad.

A Ronny y Fernando, mis compatriotas con los que compartí esta gran aventura, gracias por su amistad.

Al personal de la Coordinación del Posgrado en Ciencias Químicas, por toda su ayuda brindada durante este tiempo.

A los profesores que durante estos cuatro semestres compartieron sus conocimientos y experiencias para mi formación, gracias.

A todos los miembros del Jurado, quienes tuvieron la ardua tarea de revisar y sugerir correcciones para este trabajo escrito.

A todos mis compañeros del ingreso 2003-1, por su amistad y respeto.

A Holber, Lilia, Citlalli, Donaji, gracias por su gran amistad.

A Bere, Tony, Miguel Ángel Yamel Manolo, Memo, Lupita Rivera, gracias por su amistad y toda su ayuda ofrecida.

En Santiago de Chile a mí amigo de toda la vida, Víctor Hugo, en Quito-Ecuador a Rosario Moreno.

Al Doctor Medardo Mora Solórzano, Rector de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, por oportuna su recomendación para cursar la maestría.

A la Universidad Central del Ecuador, mil gracias

Gracias a todos porque vine, ví y vencí.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Dr. Carlos Martínez Palacios
Vocal	M. en C. Ernesto Ávila González
Secretario	Dra. Laura Patricia Martínez Padilla
Primer suplente	Dr. María del Carmen Wachter Rodarte
Segundo suplente	Dr. Carlos López Coello

Sitio de realización de la tesis:

Laboratorio 111 del Departamento de Farmacia
Facultad de Química, U.N.A.M.

Sustentante:



Q. Héctor Julio Santana Delgado

Tutor:



M. en C. Angela Sotelo López

Sitio de realización de la tesis:

Laboratorio 111 del Departamento de Farmacia
Facultad de Química, U.N.A.M.

CONTENIDO

Contenido.	I
Índice de cuadros.	III
Índice de figuras.	V
Resumen.	VI

1. INTRODUCCIÓN.	1
2. ANTECEDENTES.	3
2.1. La pesca en el mundo y en México.	3
2.2. Composición química del pescado.	6
2.3. Producción de ensilado de pescado.	7
2.3.1. Preparación del ensilado.	7
2.3.2. Composición del ensilado.	10
2.4. Cambios químicos en el ensilado.	10
2.4.1. Cambios químicos en el contenido proteico.	11
2.4.2. Cambios químicos en el contenido lipídico.	15
2.5. El ensilado en la alimentación animal.	16
2.6. Alimentación en las aves.	18
2.6.1. Aspectos generales de la alimentación de las aves.	18
2.7. Composición química de los alimentos para aves.	19
2.8. Formulación.	19
2.8.1. Disponibilidad.	19
2.8.2. Composición nutricional.	20
2.8.3. Restricciones por la naturaleza propia del ingrediente.	20
2.9. Materias prima y factor económico.	21
3. OBJETIVOS.	22
3.1. Objetivo general:	22
3.2. Objetivos específicos:	22
4. MATERIALES Y MÉTODOS.	

4.1.2. Análisis químico para la materia prima y el ensilado. _____	23
4.1.3. Nitrógeno no proteico . _____	23
4.1.4. Determinación del grado de oxidación en la grasa del ensilado. _____	24
4.1.5. Medición de trimetilamina. _____	24
4.1.6. Determinación de actividad proteolítica total. _____	24
4.2. Metodología para la elaboración del ensilado de pescado . _____	25
4.3. Preparación de los ensilados. _____	27
4.4. Secado del ensilado. _____	29
4.5. Análisis proximal, microbiológico, minerales y aminoácidos. _____	29
4.6. Evaluación biológica del ensilado de pescado. _____	30
4.7. Formulación de las dietas. _____	30
4.8. Manipulación y alimentación de las aves. _____	30
4.9. Evaluación económica. _____	31
4.10. Análisis estadístico. _____	31
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. _____	32
5.1. Análisis de la materia prima. _____	32
5.2. Características químicas y físicas del ensilado. _____	33
5.3. Nitrógeno no proteico y actividad proteolítica total. _____	34
5.4. Trimetilamina. _____	37
5.5. Oxidación lipídica. _____	40
5.6. Pruebas de secado. _____	45
5.7. Ensilado seco y mezcla obtenida. _____	45
5.8. Perfil de aminoácidos. _____	48
5.9. Formulación de dietas. _____	50
5.10. Ganancia de peso. _____	51
5.10. Mortalidad. _____	55
5.11. Evaluación económica. _____	55
5.13. Análisis de costos. _____	56
6. CONCLUSIONES. _____	58
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS. _____	60
8. ANEXOS. _____	68

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Capturas en toneladas métricas. _____	4
Cuadro 2.	Consumo humano directo de peces capturados. _____	4
Cuadro 3.	Toneladas de proteína no aprovechado. _____	5
Cuadro 4.	Productos de la descomposición de aminoácidos en aminas. ____	13
Cuadro 5.	Análisis proximal materia prima y derivados. _____	32
Cuadro 6.	Contenido porcentual de nitrógeno total y no proteico. _____	34
Cuadro 7.	Desarrollo del proceso hidrolítico ensayo de laboratorio. _____	34
Cuadro 8.	Evolución del nitrógeno no proteínico en el lote piloto. _____	36
Cuadro 9.	Evolución de trimetilamina, ensayos de laboratorio. _____	38
Cuadro 10.	Variación de trimetilamina en el ensilado del lote piloto. _____	39
Cuadro 11.	Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico expresadas como malonaldehído (laboratorio). _____	41
Cuadro 12.	Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (lote piloto). _____	42
Cuadro 13.	Análisis proximal de las muestras en base húmeda. _____	46
Cuadro 14.	Análisis proximal de las muestras en base seca. _____	46
Cuadro 15.	Análisis microbiológico. _____	47
Cuadro 16.	Análisis de minerales. _____	47
Cuadro 17.	Composición de aminoácidos en el contenido proteico. _____	48
Cuadro 18.	Composición de las dietas empleadas en la prueba biológica. ____	50
Cuadro 19.	Incremento en peso de los pollos. _____	51

Cuadro 20.	Peso semanal de los pollos. _____	51
Cuadro 21.	Conversión alimenticia. _____	52
Cuadro 22.	Datos promedio de 0-21 días de la evaluación biológica. _____	53
Cuadro 23.	Precios de materiales. _____	56
Cuadro 24.	Precio en pesos de la mezcla ensilado:sorgo. _____	56
Cuadro 25.	Precio mundial en dólares de harinas de pescado. _____	57
Cuadro 26.	Determinación de actividad proteolítica total. _____	70
Cuadro 27.	Peso en la primera semana del ensayo. _____	73
Cuadro 28.	Peso registrado en la segunda semana del ensayo. _____	74
Cuadro 29.	Peso registrado en la tercera semana. del ensayo. _____	75
Cuadro 30.	Peso ganado en la primera semana del ensayo. _____	76
Cuadro 31.	Peso ganado en la segunda semana del ensayo. _____	77
Cuadro 32.	Peso ganado en la tercera semana del ensayo. _____	78
Cuadro 33.	Consumo de alimento en la primera semana del ensayo. _____	79
Cuadro 34.	Consumo de alimento en la segunda semana del ensayo. _____	80
Cuadro 35.	Consumo de alimento en la tercera semana del ensayo. _____	81
Cuadro 36.	Consumo de alimento en las tres semanas del ensayo. _____	82
Cuadro 37.	Conversión alimenticia en la primera semana del ensayo. _____	83
Cuadro 38.	Conversión alimenticia en la segunda semana del ensayo. _____	84
Cuadro 39.	Conversión alimenticia en la tercera semana del ensayo. _____	85
Cuadro 40.	Conversión alimenticia en las tres semanas del ensayo. _____	86
Cuadro 41.	Requerimientos de nutrientes. _____	87.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Metodología de elaboración de ensilado a nivel laboratorio. _____	25
Figura 2. Metodología de elaboración de ensilado a lote piloto. _____	26
Figura 3. Diagrama de bloques para la preparación del ensilado. _____	28
Figura 4. Evolución nitrógeno no proteico ensayo laboratorio. _____	35
Figura 5. Evolución de nitrógeno no proteico lote piloto. _____	37
Figura 6. Evolución de trimetilamina ensayo laboratorio. _____	39
Figura 7. Variación de TMA en lote piloto a 37°C. _____	40
Figura 8. Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, ensayo de laboratorio. _____	41
Figura 9. Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, lote piloto. _____	43
Figura 10. Crecimiento de los pollos durante las tres semanas del ensayo. _____	54
Figura 11. Curva de actividad proteolítica total. _____	70
Figura 12. Equipo piloto de hidrólisis. _____	89

RESUMEN

Se desarrolló un método de procesamiento práctico y de bajo costo para procesar y conservar proteínas de origen marino proveniente del descarte de la pesca de acompañamiento, a fin de ser empleado para la alimentación animal.

De todas las especies marinas que anualmente se descartan, se empleó pescado sierra (*Scomberomorus maculatus*), debido a su buena calidad nutrimental, bajo costo y fácil aprovisionamiento. Dos etapas involucran el desarrollo de este trabajo, durante la primera fase se registran los cambios fisicoquímicos como son el cambio en el contenido de nitrógeno no proteico, pruebas de rancidez oxidativa y pH, que engloban el proceso y conservación del producto, y que permiten obtener una metodología adecuada del proceso a nivel de laboratorio, se realizó análisis proximal del producto obtenido. La segunda etapa implicó la elaboración de un lote piloto de 65 Kg., el producto obtenido contenía un 87.50 % de nitrógeno no proteico, el cual se mezcló con sorgo, obteniéndose una mezcla de ensilado húmedo:sorgo con una proporción 2:1 fue secado al sol y el producto final alcanzó un 26.30% de proteína en una proporción de 1:2 (mezcla ensilado seco:sorgo) que se empleó en la formulación de dietas para la prueba biológica con pollos de engorda. Se realizaron análisis proximales, microbiológicos y de minerales, se determinó el perfil de aminoácidos tanto a la materia prima, ensilado y mezcla ensilado seco:sorgo. En la elaboración del lote piloto, los parámetros trimetilamina y determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, mostraron tendencia a la baja lo que permitió obtener un producto con buenas características químicas.

El análisis proximal del ensilado presentó en peso seco un contenido de proteína de 60.98%, lípidos de 24.60% y 6.89% de cenizas. En el análisis microbiológico el ensilado no presentó contaminación, mientras que para la mezcla ensilado seco:sorgo la carga bacteriana se incrementó, sin presentar riesgos potenciales. A través del análisis de minerales se detectó abundancia de calcio, fósforo y potasio. El perfil de aminoácidos reveló bajas en el contenido de triptófano y azufrados

totales de 16.35 y 1.67% respectivamente. Para la evaluación biológica, se prepararon 5 dietas, 4 con la mezcla obtenida y una donde se empleó sorgo y soya como testigo, los niveles de inclusión de la mezcla ensilado seco:sorgo fueron: 11, 22, 33 y 44%. De esta prueba se obtiene que, el alimento 2 preparado con un 11% de la mezcla ensilado seco:sorgo dió mejor ganancia de peso, sin embargo no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) al final del ensayo. El producto obtenido presenta muchas ventajas entre ellas la buena calidad nutricional y simplicidad del proceso. En cuanto al análisis preliminar de costos, éste revela el bajo precio con el cual se obtiene el ensilado, al ser comparado con los precios internacionales de las harinas de pescado, por lo que puede llegar a ser competitivo este producto.

1. Introducción.

Desde hace siglos en Europa, se ha hecho uso de la técnica del ensilaje, la misma que permitía y permite conservar los productos agrícola durante el invierno, vista esta necesidad, el ensilado se define como el alimento para animales obtenido por medio de la conservación anaeróbica de los forrajes húmedo y/o residuos de origen agrícola por medio de la acidificación. Actualmente el ensilado, es uno de los procesos que permite dar valor agregado a un conjunto de desechos de origen animal o vegetal que servirán como ingredientes para dietas de animales y transformarlos en carne o leche.

Con estas experiencias, se ha visto la posibilidad de conservar los productos secundarios obtenidos del procesamiento de los animales, entre estos el pescado. El ensilado del pescado ofrece una buena perspectiva y puede ser hecho con ácidos orgánicos o con ácidos minerales, la finalidad de éstos será la de dar el pH al medio para obtener un líquido de la masa por medio de las enzimas presentes en el pescado (Tatterson y Windsor, 1973).

Comercialmente, el ensilado de pescado fue iniciado en Dinamarca en 1948, su producción alcanzó 15,000 toneladas por año. Para 1992, en Noruega ya se producían 72,000 toneladas al año (Aranson, 1994).

Desafortunadamente, todos los trabajos relativos al tema de ensilado de pescado realizados en América Latina sólo se han realizado en pequeña escala a nivel experimental y aún no se explota de forma comercial, a pesar de existir trabajos suficientes sobre este tema.

Debido al constante desarrollo de la industria acuícola y pesquera, una gran cantidad de desperdicios se generan anualmente. Consecuentemente, la producción mundial de pescado ha crecido en forma sostenida durante los últimos años, siendo ésta en 1995 de 112.9 millones de toneladas, incluyendo crustáceos y moluscos procedentes de la captura de peces y producción acuícola. La participación en la producción total procedente de peces cultivados pasó de ser 11.7% en 1989 a 18.5% en 1995. Países asiáticos como China, India, Camboya e Indonesia producen alrededor del 90% del total mundial de estos peces, siendo China el más importante. En Latino América y el Caribe la producción fue de

499,000 toneladas, la cual representa un 1.8% de la producción mundial. Chile (41.4%) y Ecuador (18.3%) son los de mayor producción, seguidos por México (13.8%), Colombia (7.3%), Brasil (6.1%), Cuba (4.2%) y Costa Rica (1.4%) (Martínez y Pedini 1997).

Ingentes esfuerzos encaminados al tratamiento de estos desechos son cada vez más promisorios. La técnica de ensilado, presenta muchas ventajas que aportan a la alimentación animal y conservación del ambiente al no usar energía proveniente de combustibles en su procesado. Desde el punto de vista nutricional, sus características son bastante aceptables para dietas animales, aunque existen incontables estudios sobre este tema, aún faltan trabajos enfocados hacia los aspectos tecnológicos derivados de la inclusión de este producto en la formulación de dietas que permitan convencer a los productores de las innumerables ventajas que presenta este producto.

2. Antecedentes.

2.1. La pesca en el mundo y en México.

La pesca constituye la mayor riqueza de los océanos. En el año 1996, más del 60 % de la pesca mundial procedía de aguas del Pacífico. Cada año, más de 27 millones de toneladas de peces y otros organismos marinos, casi un tercio de las capturas mundiales, acaban en las redes de las flotas pesqueras como capturas acompañantes y, en su mayor parte, son arrojados nuevamente al mar, ya muertos o moribundos. A menudo, las capturas acompañantes son el resultado de artes o técnicas de pesca poco selectivas (Maproon, 2004).

México cuenta con un amplio potencial pesquero en sus costas territoriales y mantos de agua dulce, por lo que es importante estudiar en forma sistemática, la posibilidad de aprovechar este importante recurso nacional, en forma semejante a la de países como Japón y Estados Unidos de Norteamérica, para desarrollar tecnologías que permitan la industrialización del pescado, con lo que se pueden abrir nuevas expectativas comerciales a especies abundantes, fauna de acompañamiento del camarón, desechos de industrialización y aquellas que tienen baja comercialización.

En 1990, la acuicultura en México produjo 73,766 Ton de mojarra y 22,504 Ton de carpa, ambas con un valor de \$2.52 por kg (precio directo a Pescadores) (SEPESCA, 1992).

Otro recurso desaprovechado, lo constituye la fauna de acompañamiento del camarón (FAC). Estos peces son llevados a bordo y mueren en cubierta durante la selección del camarón, y casi en su totalidad son regresados al mar por no disponer de capacidad de bodega, equipo o personal para manejarlos. Además no existe un mercado capaz de aprovechar el volumen capturado, ni la demanda comercial que permita un precio tal que motive a los pescadores a llevar el producto a puerto.

Grande y Díaz en 1981, hacen una revisión de los trabajos realizados en México respecto a la FAC, encontrando que la composición porcentual de las especies que la integran varía en función del área de pesca, la profundidad, la época del

año e incluso del tipo y de las características de la embarcación. Observaron también que la FAC está compuesta de un 60% de pescado y el resto por crustáceos, moluscos y equinodermos. El peso y la talla promedio de las especies de pescado, fueron de 60 gramos y 15 cm de longitud respectivamente. La relación en promedio de captura de camarón con la FAC estimada para el litoral del Pacífico fue de (1:9.2) y de (1:3) para el Golfo de México. El Cuadro 1, resume las principales especies capturadas durante los años 2002 y 2003:

Cuadro 1. Capturas en toneladas métricas

Especies	2002	2003
Atún y similares	974426	1128553
Camarón	467047	504131
Carpa	176234	171587
Cazón y tiburón	157810	170374
Lisa	52023	50211
Mero	79104	69044
Mojarra	414338	412079
Ostión	332461	337614
Sardinias	1276957	1404720
Sierra	67338	73474

SAGARPA, 2004

El Cuadro 2, presenta valores correspondientes al consumo humano directo para el período 2002-2003.

Cuadro 2. Consumo humano directo toneladas métricas

Especies	2002	2003
Atún y similares	162631	193320
Camarón	99987	103305
Carpa	27017	31208
Cazón y tiburón	24559	20119
Lisa	8422	9751
Mero	1771	13833
Mojarra	63078	69591
Ostión	50881	54315
Sardinias	183293	185209
Sierra	11100	12828

SAGARPA, 2004

De acuerdo con las estadísticas de la SEPESCA (1992), en el año de 1990 se capturaron en el Golfo de México 24,076 toneladas de camarón y en el Litoral del Pacífico 50,728 toneladas. Si se multiplican estos valores de captura, por los valores de la relación existente entre este crustáceo y la FAC reportada por Grande y Díaz (1981), se tiene que se desperdiciaron 72,228 y 466,698 Ton de FAC respectivamente, para hacer un total de 538,926 toneladas. Contrario a estos valores estimados, oficialmente sólo se capturaron 2,449 toneladas de FAC, con un precio de playa (directo de los pescadores) de \$ 0.12 por kg (SEPESCA, 1992). Puesto que se estima que alrededor del 60% de la FAC es pescado, se tendría un peso de 323,355 Ton, cuyo rendimiento a pulpa es del 35% (Grande y Díaz, 1981), que equivale a 113,174 Ton. Si esto se transforma a proteína, la cual se estima en un 17%, en 1990 se desperdiciaron 19,239 toneladas de proteína animal de alto valor nutricional y buenas propiedades funcionales, mientras que para los años 2002 y 2003 esta fue de 555224.84 toneladas y 598670.82 toneladas respectivamente, Cuadro 3, SAGARPA, (2004).

Cuadro 3. Toneladas de proteína* no aprovechado.

Especies	2002	2003
	%	%
Atún y similares	133946.18	154313.45
Camarón	60564.90	66136.29
Carpa	24620.81	23162.54
Cazón y tiburón	21986.42	24792.08
Lisa	7194.17	6675.90
Mero	12759.95	9109.82
Mojarra	57957.90	56510.52
Ostión	46460.70	46744.34
Sardinas	180454.56	201219.32
Sierra	9279.27	10006.59
TOTAL	555224.84	598670.82

*Obtenido con un porcentaje de proteínas promedio de 17%

Sin embargo, la FAC no es la única forma de capturar especies marinas en gran escala, también está la pesca de escama por redes de arrastre, que opera en forma similar a la de la captura del camarón y que podría ser una forma de utilizar especies que actualmente no tienen valor comercial.

De acuerdo con Fernández y cols, (1996), otras especies presentes en el Golfo de México incluyen: Serrano, mojarra plateada, lenguado, jiniguaro (especies de carne blanca); ronco, chivete, ratón, voraz, chile (carne rosada); lacha, horqueta, boca de novia (carne oscura). Además se tiene: anchoa, charrito, ojón, picuda, palometa, sardina española, macarela del atlántico, mojarra plateada, garrubata, pez pluma, espina larga, azulejo, pez barbón, sardina escamuda, pargo, mero, sierra y peto. Todas ellas con precio comercial bajo en función de la oferta y la demanda. Obviamente el número y volumen de especies subutilizada varía entre regiones, estados y litorales pesqueros del Océano Pacífico y el Golfo de México.

2.2. Composición química del pescado.

Como toda carne, al ser un alimento completo, presenta: proteínas y lípidos de gran calidad, minerales y vitaminas en pequeñas cantidades, su contenido en carbohidratos es muy bajo, casi despreciable.

Los productos marinos son una buena fuente de minerales, calcio, hierro y fósforo, y de algunos elementos traza. La concentración de calcio y fósforo dependerá de la cantidad de estos elementos presente en el agua, fuentes de alimentación, edad, tamaño, madurez y otros factores (Petersen y Johnson, 1980). El iodo es otro de los elementos presentes en una importante cantidad en las especies marinas (FAO, 1975).

Los tipos de grasas más abundantes son las que contienen ácidos grasos insaturados, destacándose la serie omega-3, de acuerdo con el contenido de grasas, los peces se dividen en: pescados magros, con un contenido de grasa de 0-2%, semigrasos, con un 2-6%, y grasos, con más de 6% de materia grasa. El agua es el componente mayor, la proporción en la que se encuentra varía de 64-81% del peso total, a éste le siguen las proteínas con un 17-25%, seguido de las

grasas las cuales varían dependiendo de la especie. Los peces contienen vitaminas del complejo B, que incluyen tiamina, riboflavina, niacina, vitamina (B₆) piridoxina y cianocobalamina (B₁₂), así como también vitaminas oleosolubles como el caso de la vitamina A para la cual se ha estudiado ampliamente su distribución (Lalanne, 1971).

2.3. Producción de ensilado de pescado.

El ensilado de pescado puede definirse como un producto semi-líquido, obtenido a partir de la totalidad del pescado entero o partes del mismo. Este estado se alcanza por efecto de las enzimas proteolíticas contenidas en el mismo pescado. Las enzimas presentan su mayor actividad cuando el pH se reduce a valores cercanos a 4, por efecto de la producción o la adición de ácidos. A este pH se impide además la descomposición del producto, ya que se reduce la actividad bacteriana (Gilberg, 1977).

Es un proceso sencillo que consiste en la molienda o trituración del pescado o residuos de éstos y la posterior incorporación de ácidos en concentraciones determinadas (ensilaje químico), o mediante la fermentación láctica de un sustrato de carbohidratos que se les añade (ensilaje biológico). Las enzimas ya presentes en la masa del pescado son capaces de efectuar el desdoblamiento de las proteínas y las grasas hasta obtener un líquido semi-viscoso.

Las etapas del método son las mismas tanto a escala de laboratorio, planta piloto o industrial.

2.3.1. Preparación del ensilado.

Para la utilización de cualquier fuente de desperdicios o peces, se han empleados diferentes tipos de ácidos, tanto orgánicos como inorgánicos, de entre los más usados está el ácido sulfúrico, seguidos por el clorhídrico, fórmico y propiónico, sobre el empleo de un ácido orgánico o un inorgánico, las ventajas que presenta el uso de ácidos orgánicos es que antes de preparar el alimento, estos ensilados obtenidos no necesitan de neutralización, puesto que el pH que poseen no es muy bajo. La gran desventaja de los ácidos orgánicos es su costo, pues resulta

más barato emplear un ácido inorgánico y el proceso de hidrólisis se realiza sin inconvenientes (Love, 1970).

Se ha encontrado que de acuerdo a los resultados del proceso del ensilaje biológico, pareciera que dicho proceso se puede dividir en dos fases distintas, pero que se complementan. Una correspondiente a la hidrólisis o licuefacción, la cual está gobernada por las enzimas proteolíticas y la otra correspondiente a la acidificación y reducción del pH, la cual está gobernada por la acción de los microorganismos ácido-lácticos. Es posible acelerar uno de las dos fases, sin alterar drásticamente el otro (Bello y Brito, 1995).

Estudiando el proceso de elaboración del ensilado y su comportamiento durante el almacenamiento a temperatura ambiente durante 150 días, (Bello y col. 1993), a través de índices físico-químicos y microbiológicos, se observaron que durante los primeros cinco días hay una disminución drástica del pH, de valores de 6 hasta aproximadamente 4. Este valor se mantiene estable por todo del período de almacenamiento. Dicho valor de pH, refleja la fase o fenómeno de acidificación por parte de los microorganismos cuando los ensilajes son del tipo biológico.

Se sabe que el pH es uno de los índices de mayor importancia que debe ser controlado durante todo el proceso y almacenamiento del ensilado biológico de pescado, ya que refleja el desarrollo del proceso, la calidad del ensilado y manifiesta cualquier cambio que pueda afectar el producto. Adicionalmente el pH se puede medir muy fácil y rápidamente, inclusive fuera del establecimiento de producción.

En ensilados biológicos, paralelamente a la disminución del pH se observa el incremento rápido en los valores de ácido láctico, el cual se sigue produciendo lentamente por 60 días aproximadamente, hasta mantenerse estable. Posiblemente esto se debe a un mecanismo de autocontrol, donde se establece la disponibilidad de continuar produciéndose ácido cuando el pH aumente por incremento de compuestos nitrogenados, producto del crecimiento o desarrollo de organismos distintos a los ácido-lácticos (Bello y col, 1993).

En otras palabras, existe un sistema de autocontrol cuando se generan bases volátiles o compuestos nitrogenados que incrementen el pH, se inicia la producción de ácido por parte de los microorganismos, hasta que la cantidad de ácido en el medio sea suficiente para reducir el pH a niveles cercanos a 4 y detener o controlar el crecimiento de las bacterias y por ende la producción de ácido láctico.

En cuanto a la otra fase o fenómeno de hidrólisis del ensilado, puede medirse o evaluarse a través del nitrógeno no-proteínico, la licuefacción o la consistencia. Estas determinaciones muestran un aumento de la hidrólisis proteínica progresiva y rápidamente al inicio del proceso, haciéndose más lenta hasta los 60 días.

Aunque ambas fases parecieran estar separados o ser independientes, presentan una relación estrecha. A medida que la hidrólisis proteínica progresa, se producen compuestos nitrogenados como péptidos, aminoácidos, aminas, amonio y otros compuestos de bajo peso molecular, los cuales perturban la capacidad amortiguadora del producto, incrementándose los valores de pH, lo cual conduce a que las bacterias ácido-lácticas comiencen a producir ácido y reducir nuevamente el pH a su valor inicial (Lindgren y Pleaje, 1983).

La frescura inicial del pescado juega un importante rol en la velocidad de reducción del pH inicial. Esto se debe a que se establece un mecanismo de competencia entre las bacterias lácticas y los microorganismos iniciadores de la descomposición. A mayor carga microbiana inicial de organismos que participan en el deterioro del pescado fresco, mayor será la cantidad de bacterias lácticas que se deben inocular para asegurar un adecuado proceso. Igualmente cuando se utilizan las vísceras del pescado en la elaboración del ensilado, se está favoreciendo el fenómeno de hidrólisis, por la presencia de mayor cantidad de enzimas contenidas en las vísceras, pero paralelamente se está añadiendo una fuerte carga de microorganismos que es necesario inhibir rápidamente. En consecuencia es recomendable la utilización de pescados frescos y con vísceras para favorecer la velocidad del proceso de ensilaje.

2.3.2. Composición del ensilado.

Siendo que el ensilado proviene de peces, el principal componente de interés son las proteínas, que al estar constituidas por aminoácidos serán las que sufran un considerable deterioro de su calidad nutricional al ser sometidos a este proceso de conservación.

El músculo además de proteínas, contiene compuestos constituidos de nitrógeno no proteico (NNP). La sangre de los peces posee una alta concentración de urea y óxido de trimetilamina (OTMA). Estas sustancias en la sangre los ayuda a mantener los fluidos del cuerpo en equilibrio con el agua de mar. El OTMA, actúa como aceptor terminal de electrones y es reducido por la acción bacteriana produciendo trimetilamina, responsable del mal olor en productos marinos, (Zuberi y cols, 1992).

Generalmente el contenido de proteínas es de alrededor del 13- 17% en los ensilados son del tipo químico, considerados como base húmeda y de 55-63% expresados como base seca. Frecuentemente las vitaminas presentes en los ensilados son: riboflavina, tiamina, vitamina B₁₂ y ácido nicotínico principalmente.

Nutricionalmente vistos, los ensilados químicos provenientes de peces marinos presentan un perfil de aminoácidos elevado, se ha visto que no hay grandes variaciones entre los diferentes tipos de ensilados preparados (Gilberg y Raa, 1982).

En los ensilados de origen biológico o fermentados, el número de microorganismos aumenta debido a la presencia de bacterias de origen láctico que han sido inoculadas y se desarrollan durante el proceso (Zuberi y cols, 1992), lo que no ocurre en los ensilados ácidos de pescado.

2.4. Cambios químicos en el ensilado.

Al ser una técnica de preservación, un sinnúmero de cambios químicos ocurren durante este período ya sea antes, durante o después de ser sometido a procesos de secado.

Este material procesado presenta, buenas características para alimentación de cerdos (Green, 1984).

La materia prima utilizada comúnmente presenta valores de pH entre 6.7-6.1, con una tendencia a disminuir en función del tiempo, una vez acondicionado hasta el pH necesario para su conservación entre 2 y 4 el producto obtenido es conservado, ya sea vía química o biológica, siendo un factor de vital importancia que debe monitorearse, pues de él dependerá la viabilidad del proceso a fin de no permitir el desarrollo de microorganismos patógenos.

Durante este proceso de acondicionamiento del pH se liberan compuestos volátiles nitrogenados o bases volátiles nitrogenadas (BVN), que pueden ser eliminados por acción del calor (Daepkevicius y cols, 2000), una vez estabilizado el pH, la cantidad de BVN tienden a disminuir puesto que los ácidos presentes inhiben la proliferación de agentes contaminantes o no deseados.

Aumentos del pH, producen un aumento de las BVN, y adicionalmente una disminución en el contenido total de materia seca.

El contenido total de cenizas permanece constante al final del proceso para cuando son ensilados de origen biológico, mientras que para el de origen químico éstas se incrementan ligeramente si son preparados con ácidos inorgánicos (Amarouch y cols, 1998).

El contenido visceral de los peces, es muy buena fuente de vitaminas y aceites, también contiene una variedad de enzimas como la pepsina cuyo pH óptimo es entre 2-4, sumado a esto, la presencia de lipasas que incrementa la formación de ácidos grasos libres. En el intestino de los peces, hay presencia de vesículas que contiene sangre y esta hemoglobina, autores como Hui, 1992, consideran que esto contribuye a la oxidación de los lípidos por la acción del hierro vía radicales libres.

2.4.1. Cambios químicos en el contenido proteínico.

Los cambios autolíticos de las proteínas, son debidos a la acción de pepsinas y catepsinas (enzimas proteolíticas que se encuentran localizadas en los lisosomas). Éstas producen la degradación (hidrólisis) de la proteína a péptidos y a aminoácidos. Uno de los mayores cambios y más fácilmente palpables es el

cambio de consistencia del producto al inicio del proceso, pues debido a la presencia de ácido, el complejo enzimático presente en el medio empieza a trabajar y a producir la hidrólisis, ocasionando la liberación de nitrógeno a partir de péptidos y proteínas, así como también la liberación de BVN por parte de los microorganismos presentes, los cuales al transcurrir el tiempo del proceso disminuirán y por ende las BVN también.

La hidrólisis del proceso produce una separación de fases (Raa y Gilberg, 1982), entre ellas se distinguen bien una lipídica, una hidrosoluble con muy poca grasa y alta cantidad de proteína y un sedimento insoluble en el que hay proteína y lípidos. Entre las dos fracciones proteínicas contenidas hay una marcada diferencia en cuanto a su composición puesto que en la parte insoluble hay una mayor cantidad de aminoácidos como cisteína, tirosina y fenilalanina, mientras que la soluble posee una mayor cantidad de hidroxiprolina.

Stone y cols. (1989), prepararon ensilados elaborados a partir de vísceras y cabezas del bacalao blanco (*Gadus merlangus*), durante este procesado estudiaron la capacidad de las distintas enzimas presentes con diferente grado de acidificación, observando que en un período de 7 días y a un pH = 4, el porcentaje de aminoácidos libres aumentó hasta un 70% (del nitrógeno total), mientras que a un pH = 2 la hidrólisis fue más limitada.

Cuando se elaboró un ensilado de bacalao blanco para dietas de truchas arco iris (Stone y cols, 1989), se observó que al inicio del proceso se liberaron rápidamente aminoácidos esenciales y no así los no esenciales, también se llegó a establecer una relación entre aminoácidos esenciales/no esenciales de 1.38 durante la hidrólisis y de 0.78 para el inicio del proceso.

El aumento de la concentración de aminoácidos libres en el músculo, constituye un medio adecuado para el crecimiento microbiano. Por acción enzimática producida por estas bacterias se degradan los aminoácidos, descarboxilando o desaminando, originando de esta manera, diferentes aminas biogénicas que se acumulan o entran en proceso de putrefacción (Beutling, 1992).

En los ensilados de tipo biológico se encuentra que debido a la presencia de microorganismos diversos a más de los acidolácticos, hay una marcada producción de productos no deseados. A modo de ejemplo (Cuadro 4), hay 6 compuestos principales finales provenientes de la degradación de los aminoácidos mencionados:

Cuadro 4. Productos de la descomposición de aminoácidos en aminas.

AMINOACIDO	PRODUCTO FINAL
Arginina	Amoníaco
Histidina	Histamina
Lisina	Cadaverina
Glutamina	Putrescina
Ornitina	Putrescina
Tirosina	Tiramina

Haar y cols, 1985

Estos productos (aminas), por su toxicidad constituyen un riesgo potencial, puesto que dañan la calidad del producto y disminuyen el crecimiento de los animales alimentados con productos elaborados a partir de estos ensilados. Los daños producidos se traducirán en trastornos digestivos, neurológicos y cutáneos (Taylor, 1986).

Gilberg y Raa (1982) reportan que hay un deterioro de las proteínas en los ensilados preservados químicamente, el periodo de evaluación fue de 220 días, la temperatura de almacenamiento fue de 27 °C, esa pérdida correspondió a amoníaco liberado. También encontraron que la cantidad de histidina presente en muestras de peces producían pérdida de proteína por formación de histamina, de esto se dedujo que era debido a la calidad fisicoquímica del material empleado.

Algunos cambios en la composición de los aminoácidos han sido reportados, como es la disminución de algunos de ellos, particularmente se debe al secado del producto final, y aminoácidos como lisina, triptófano y cistina se encuentran afectados.

En otro estudio, Machin y cols. (1990), manifiestan que al adicionar un antioxidante a los ensilados preparados, las pérdidas de triptófano en medio ácido son muy bajas, y que incluso no llegan a cambiar durante el tiempo de almacenamiento (240 días), en comparación con los que no tenían antioxidante.

En el pescado de mar existe el óxido de trimetilamina (compuesto que tiene función osmoreguladora) que por reducción bacteriana, pasa a trimetilamina y luego por acción enzimática (no necesariamente bacteriana), se reduce a dimetilamina, monometilamina y amoníaco. Todos estos compuestos son volátiles y se les conoce como Bases Nitrogenadas Volátiles Totales (BNVT), y su determinación en una muestra analizada, indica la frescura de la misma, cuánto más fresco esté el producto más bajos serán los valores de BNVT.

A fin de evitar la disminución del valor nutricional de las proteínas por la liberación de amoníaco en el tracto digestivo de rumiantes (Haar y cols, 1985), y considerando que los microorganismos allí presentes tienen una baja eficiencia para capturarlo, se han realizado ensayos en los que se incluye ciertas concentraciones de formaldehído, demostrándose que los niveles de proteína soluble eran elevados cuando éste no era incluido en la elaboración. Al realizar una evaluación de la producción de amoníaco *in vitro* usando líquido ruminal, se encontró que la producción de amoníaco era disminuida por la adición de formaldehído. En la práctica el empleo de formaldehído para elaborar ensilado mejoró la utilización de amoníaco por parte de las bacterias del rumen.

Durante doce meses de monitoreo a un ensilado de macarelas (Machin y cols, 1990), encontraron que al disminuir la cantidad de nitrógeno amídico, los niveles de nitrógeno amoniacal se incrementan. Por su lado Backhoff (1976) publicó igual resultado y en un reporte posterior elaborado por Gilberg y Raa (1982) se confirma este hecho. Haaland y Njaa (1989), al referirse a la disminución del nitrógeno amídico y al aumento del nitrógeno amoniacal, sugieren que el nitrógeno amídico de la glicina está más involucrado en este proceso de desaminación que el nitrógeno del ácido aspártico.

2.4.2. Cambios químicos en el contenido lipídico.

Los ácidos grasos del contenido lipídico de los peces, cambian marcadamente durante el proceso hidrolítico. Esos cambios están asociados con los ácidos grasos insaturados como eran de esperarse.

Durante este proceso, se monitorean los cambios oxidativos, como un indicador durante el procesado y almacenamiento para determinar la presencia de malonaldehído. La producción de malonaldehído sigue la misma ruta de la peroxidación, durante un periodo de tres días este tiende a aumentar para luego disminuir y estabilizarse.

Machin y cols. (1990), en un trabajo que consistió en monitorear los cambios químicos de los lípidos incluidos en alimentos para pollos de engorda, encuentran que hay una reducción considerable de los ácidos grasos insaturados, C18:3, C18:4, C20:4, C20:5, C22:5 y C22:6 para los alimentos elaborados con ensilado proveniente de peces de alto contenido graso en relación con los producidos a partir de ensilado de peces de bajo contenido graso; además, encontraron que la adición de antioxidante parece no afectar el nivel de malonaldehído, llegando a la conclusión de que los ácidos grasos esenciales: ácido linolénico (C18:3) y araquidónico (C20:4), son considerados como nutrientes limitantes en las dietas, por lo que en los ensayos realizados con pollos de engorda se debió suplir con un 1% de ácido linolénico de fuente vegetal.

La pérdida de ácidos grasos esenciales y sus futuras consecuencias por la oxidación, ya fue documentada por Barlow y Pike (1977), los cuales afirman que hay problemas de palatabilidad y que los productos derivados de la peroxidación influyen en el consumo del alimento por los animales en los que se realizó el ensayo.

La oxidación de las grasas provoca efectos adversos en la palatabilidad y valores nutrimentales de los alimentos, además de causar daños en las proteínas y las vitaminas, lo que se traducirá en aumento de las cantidades de vitaminas a añadir, tal como lo manifiesta Carpenter y cols. (1963).

Claramente la oxidación de las grasas en los alimentos preparados, contribuye a una baja en la calidad de los alimentos preparados.

Haar y cols (1985), hicieron la evaluación de ensilados de pescados considerados como grasos y sugirieron su uso para dietas de peces, pues es una fuente bastante buena de energía metabolizable.

Numerosos trabajos enfocados a preservar la calidad de las grasas contenidas en las dietas para animales, utilizan antioxidantes, entre los preferidos están el Butilhidroxi-tolueno (BHT), Butilhidroxi-anisol(BHA), Terbutilhidroxiquinona (TBHQ) y Etoxiquin, empleados para evitar o disminuir el grado de oxidación de las grasas presentes y han dado buenos resultados, sin embargo muchas veces la carne del animal se impregna de sabores no deseados. Como una medida de prevención para evitar el rechazo del consumidor, se limita la inclusión de aceite de pescado en los alimento proporcionados en la última etapa de la alimentación, antes del sacrificio (Haar y cols. 1985).

2.5. El ensilado en la alimentación animal.

En estudios realizados con ensilados en la alimentación animal usando cerdos (Ottati y Bello, 1990 a,b), pollos y rumiantes (Guevara y cols. 1991), se reporta lo siguiente:

En el caso de los cerdos, se realizaron estudios en las etapas de crecimiento y engorde. Los resultados, indican que en los cerdos en la etapa de crecimiento la mejor respuesta biológica se obtiene con la dieta con 5 % de inclusión de ensilado de pescado, mientras que en los cerdos en la etapa de engorde, la mejor respuesta fue con las dietas comercial y testigo. Adicionalmente los autores indican que la inclusión de ensilado en la dieta reduce el tiempo requerido por los cerdos en alcanzar el peso comercial, lo cual representa una ventaja en el costo de manutención de los animales.

Para trabajos realizados en pollos de engorde por Guevara y cols. (1991), los resultados obtenidos indicaron que no existen diferencias significativas entre los incrementos de peso desarrollado por las aves alimentadas con los diferentes tratamientos, sin embargo se observó que el mejor índice de conversión lo presentó la dieta con 5.0% de ensilado de pescado.

Los estudios realizados con 30 becerros durante 90 días, alimentados con una dieta complementaria de 2 kg. diario, a base de harina de soya, harina de maíz, sal y minerales suplementada con ensilado biológico de pescado (0, 100, 200 y 300 g como materia seca por día), indicaron un incremento en peso vivo mayor en los animales suplementados con 100 g de ensilado por día. A pesar de estos resultados se hace necesario ampliar los estudios en rumiantes.

En trabajos realizados en Brasil (Leéis, 1993), se usó el ensilado para alimentar peces. Los experimentos de crecimiento fueron realizados con alevines de tambaqui (*Colossoma macropomum*), el ensilado fue incorporado en la ración experimental en la proporción de 57%, en sustitución de la harina de carne y harina de pescado de la ración control.

El aumento del peso corporal de los alevines fue progresivo, ocurriendo lo mismo con el tamaño. Después de 90 días de experimentación, el análisis de varianza mostró que no hubo diferencia significativa ($P>0.05$) entre los tratamientos. La ganancia media diaria fue de 0.51 g /d para el tratamiento con ensilado y 0.53 g /d para el tratamiento control.

Los valores calculados de la tasa de eficiencia proteica (PER) de la ración experimental, basados en las ecuaciones de Alsmeyer y cols. (1974), utilizando contenidos de leucina, prolina y tirosina fueron inferiores en la ración experimental, comparado con la ración patrón.

Comparando los datos obtenidos de peso y tamaño con los de las raciones control de otros autores y con la misma especie de camarón, efectuados en el mismo laboratorio, Alves (1990) usando como ración control una dieta de la marca PURINA MR 25, demostró que la ración experimental, con base en ensilado biológico de pescado, produjo resultados semejantes. Considerando las dificultades inherentes al tipo de experimentación, más investigaciones deberán ser realizadas, incluyendo la sistemática en los ensayos y el control de los factores extrínsecos.

En dietas de salmónidos, es posible utilizar el ensilado hasta con un 20% de lípidos (base seca) pues crecen mejor con raciones de alto contenido energético, ya que el proceso de extracción del aceite encarece la producción. Para proteger los aceites fue agregado al ensilado un antioxidante (etoxiquinona) y no mostró signos de pérdidas nutricionales en un período de 24 semanas de la evaluación, sólo se observó en el ensilado producido una pérdida del 60% del triptófano inicial; no obstante el nivel cumple los requisitos de los contenidos mínimos de las dietas de los salmónidos (Jackson y cols. 1984).

Cuando son correctamente elaborados los ensilados, éstos son productos inocuos en los cuales no se han detectado hasta el presente microorganismos patógenos, ni efectos perjudiciales por causa alguna en los animales en los que se han experimentado (FAO, 1990).

2.6. Alimentación en las aves.

A continuación se presentan algunos aspectos de orden general que forman parte de la producción avícola, tomada en cuenta como una vía alternativa del aprovechamiento del producto bajo estudio.

2.6.1. Aspectos generales de la alimentación de las aves.

La alimentación de las aves constituye uno de los aspectos más importantes dentro de la explotación avícola. Dentro de los ingredientes constituyentes de las raciones, para estas especies, están maíz, sorgo, aceites y grasas como fuente de energía, y la soya como componente proteínico. Desde el punto de vista económico, la alimentación representa entre el 60 y el 70% de los costos de producción de un kg. de carne (Pró y Ávila, 1995).

Por tal motivo en producción avícola, los productores deben de tener presente que la calidad del alimento empleado deberá cubrir las necesidades nutricionales de las aves de acuerdo con su estado fisiológico, pues de ello dependerá que su potencial genético se exprese.

2.7. Composición química de los alimentos para aves.

Las fuentes alimenticias empleadas en producción avícola, ya sean materias primas de origen animal o vegetal o subproductos derivados de ellas, deben de cumplir con los requerimientos mínimos necesarios para la realización de sus funciones de mantenimiento y producción de carne y huevo. Estas fuentes deberán proporcionar proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales, así como también pigmentos que son necesarios para dar color a la piel y yema del huevo, que en caso de no poseerlas se adicionarán como aditivos, (French, 1987).

2.8. Formulación.

En la formulación de un alimento balanceado para cualquier especie animal se utilizan cuatro tipos de ingredientes (Ávila, 1992):

1. Fuentes de energía

2. Fuentes de proteína

3. Fuentes de vitaminas y minerales

4. Aditivos no nutricionales

La inclusión de estos ingredientes en la fórmula dependerá de los siguientes factores:

2.8.1. Disponibilidad.

El uso de una materia prima depende principalmente de su disponibilidad en el mercado, en la fábrica de alimento, de la facilidad para su adquisición y de la capacidad de almacenaje. Muchas veces la poca disponibilidad de una materia prima en el mercado, dificulta la formulación adecuada de un alimento y como resultado los rendimientos productivos de los animales pueden verse afectados.

El cambio frecuente de un ingrediente en un alimento balanceado, es uno de los principales factores negativos que pueden afectar la producción animal (French, 1987).

2.8.2. Composición nutricional.

La proporción deseada de inclusión de un nutrimento en el alimento, influye en la proporción en que una materia prima será incluida en un alimento balanceado. Existen también, limitaciones nutricionales, ya sea por carencia o por exceso que permiten el uso de una menor o mayor proporción de algún ingrediente en la dieta final. De igual forma, existe el efecto de complementación en el cual dos o más ingredientes se combinan para satisfacer el requerimiento de la especie. Dos ejemplos comunes son las diferentes fuentes de proteína, la combinación con aminoácidos sintéticos, también los cereales con las grasas y/o aceites son una complementación.

También existen ingredientes, que por su composición deben ser puestos en cantidad fija para satisfacer el requerimiento en particular. Un ejemplo de esto son las premezclas de vitaminas y minerales traza.

2.8.3. Restricciones por la naturaleza propia del ingrediente.

En ocasiones la proporción en que un ingrediente puede ser incluido en un alimento terminado, se ve afectado por algunas restricciones nutricionales presentes en él. Estas restricciones pueden ser de dos tipos, químicas y/o físicas. Las restricciones químicas están basadas en excesos o deficiencias de un determinado nutriente, o por la presencia de una sustancia tóxica en su composición.

La presencia de tóxicos en algunas fuentes de alimentación de origen vegetal y que no son eliminados por efecto del procesamiento, también limita el nivel de una materia prima en la formulación de un alimento. Dos ejemplos comunes son la presencia de gossipol en la harina de pasta de algodón y los goitrógenos en la colza. Las restricciones físicas que más afectan la incorporación de un ingrediente en un alimento balanceado son la voluminosidad y el tamaño de partícula. Un ingrediente muy voluminoso, afecta el mezclado del alimento, así como el consumo de éste por parte de los animales, tal es el caso de algunas cascarillas de subproductos agroindustriales. Con relación al tamaño de la partícula, éste también afecta el mezclado con otros ingredientes.

El estado líquido de un ingrediente limita su incorporación en el alimento final, al afectar el mezclado y la consistencia de la dieta. Un ejemplo de esto lo es la utilización de niveles altos de melaza (15 %) o de aceites (8 %) quienes producen problemas de mezclado y de compactación.

2.9. Materias prima y factor económico.

El costo de los ingredientes afecta indirectamente, su incorporación en una dieta. Como los programas de formulación de raciones involucran el sistema de mínimo costo, el programa usará o eliminará aquellos ingredientes de más alto costo ya que así ha sido diseñado. Es importante considerar que en la selección del nivel de inclusión de un ingrediente, no se considera solamente el precio por unidad de producto, sino también el costo por unidad de nutrimento.

Para el caso del pescado sierra, por su abundancia se agrupa dentro de los peces de acompañamiento, esta es una buena fuente de nutrientes, (Peralta, 2003; Elechiguerra, 2003) y fácil adquisición, que permite ser incorporado a la formulación de dietas para aves con fines de complementación con otros ingredientes como cereales o leguminosas.

El sorgo bajo en taninos o dulce, es un ingrediente abundante y actualmente es incluido en dietas para animales sustituyendo total o parcialmente al maíz, unido a esto su calidad nutrimental es parecida entre ellos, los grandes volúmenes cultivados hacen que económicamente el sorgo presente muchas ventajas ya que alcanza precios bajos y su uso es más restringido hacia la producción animal por muchos factores, entre ellos por la alta demanda de maíz para alimentación humana (FAO, 1995). El maíz es deficiente en lisina, así como también en aminoácidos azufrados que pueden ser suplidos con la mezcla de ingredientes ya sea de origen animal, vegetal o sintético en dietas para esta especie.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general:

- Desarrollar un ensilado de la sierra (*Scomberomorus maculatus*) y evaluar su calidad nutricional a través de métodos analíticos químicos y biológicos.

3.2. Objetivos específicos:

- Comparar las características fisicoquímicas y análisis proximal del ensilado de pescado sierra y la mezcla con sorgo obtenida.
- Evaluar los cambios fisicoquímicos que se presenta durante el desarrollo del proceso del ensilado.
- Establecer por métodos microbiológicos la calidad del ensilado.
- Determinar por métodos químicos la calidad nutricional del ensilado.
- Conocer el perfil de aminoácidos del pescado sierra, del ensilado y de la mezcla de ensilado con sorgo.
- Realizar una evaluación nutricional del ensilado.

4. Materiales y métodos.

4.1. Materia prima.

La especie seleccionada fue la sierra (*Scomberomorus maculatus*), utilizándose entera para la producción del ensilado

El pescado fue adquirido en la central de abastos de la ciudad de México, cabe mencionar que dicha muestra fue capturada en aguas del Golfo de México y mantenida en hielo hasta su venta.

El estudio del proceso de elaboración del ensilado se llevó a cabo en dos etapas (diagramas 1 y 2):

1.- Etapa

- Análisis de la composición química de la materia prima.
- Elaboración del ensilaje al nivel de laboratorio.
- Caracterización del ensilado.

2. Etapa

- Establecer una metodología de obtención del ensilado.
- Elaboración del ensilado a nivel piloto.
- Mezclado con sorgo, secado y formulación.
- Evaluación de la calidad nutricional por métodos químicos, microbiológicos y prueba biológica con pollos de engorda.

4.1.2. Análisis químico para la materia prima y el ensilado.

Se realizó el análisis proximal del pescado y del homogeneizado siguiendo las técnicas de la AOAC, (1990) para:

Humedad, proteína, grasa y ceniza

4.1.3. Nitrógeno no proteínico (NNP).

El detalle de la técnica se resume en el Anexo 1.

Esta metodología es propuesta por Lo y cols. (1993), y permite conocer la evolución de la hidrólisis del contenido proteínico expresado como porcentaje de

nitrógeno no proteínico (NNP) del contenido total de nitrógeno, su determinación se lleva a cabo durante los días 0, 1, 7, 14, 21, 40 y 60, y se emplea el método de determinación de microkjeldahl propuesto por la AOAC, (1990).

4.1.4. Determinación del grado de oxidación en la grasa del ensilaje.

Haciendo uso de la técnica propuesta por Vyncke, (1970) (Anexo 2), se midieron las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, esta medición se lleva a cabo tanto a la materia prima como al ensilaje durante los días 0, 1, 7, 14, 21, 40 y 60, a fin de precipitar la fracción proteínica se empleó una solución de ácido tricloroacético al 7.5% en agua. De los aldehídos que resultan de la oxidación de los lípidos, el malonaldehído es el principal compuesto producido, éste reacciona junto con los otros aldehídos y produce compuestos coloreados de color rosa pálido al rojo y que pueden ser detectados a 538 nm en un colorímetro.

4.1.5. Medición de trimetilamina.

Se realizó tanto para la materia prima como para el ensilado durante el tiempo de monitoreo de 60 días, la determinación de la trimetilamina se basa en la formación de un compuesto coloreado que se forma con el ácido pícrico, que posee un máximo de absorción a 410 nm (AOAC, 1990) (Ver Anexo 3), por medio de esta se conoce el deterioro por acción microbiana.

4.1.6. Determinación de actividad proteolítica total.

Se empleó la técnica propuesta por Anson, (1938) se detalla en el Anexo 4. El propósito de esta determinación es conocer el estado de las enzimas presentes en la materia prima empleada en forma integral.

4.2. Metodología para la elaboración del ensilado de pescado (etapa 1 y 2).

Primera etapa

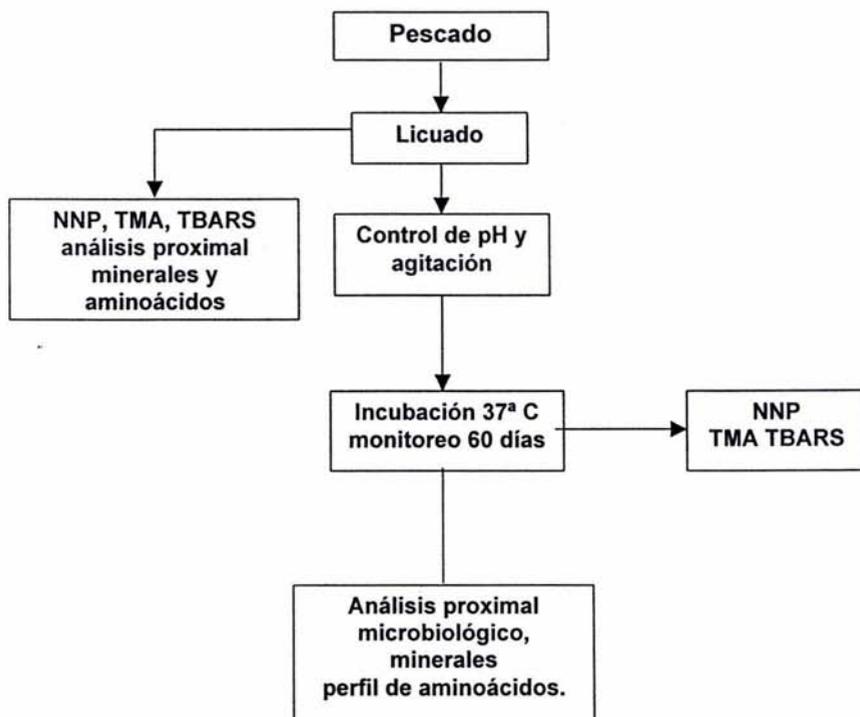


Figura 1. Metodología de elaboración de ensilado a nivel laboratorio.

Segunda etapa

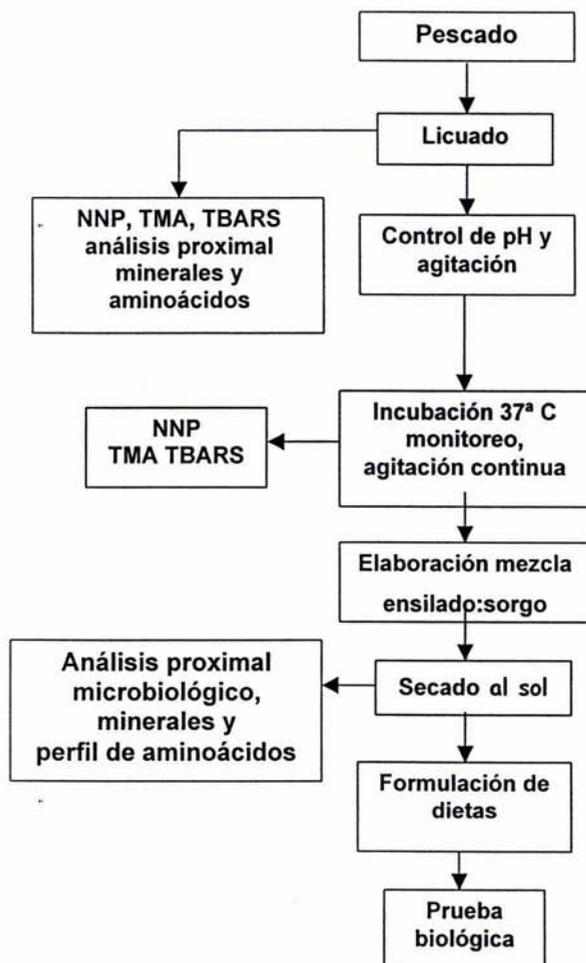


Figura 2. Metodología de elaboración de ensilado a lote piloto.

4.3. Preparación de los ensilados.

En ambas etapas el pescado completo se cortó en trozos pequeños y se empleó un homogeneizador de alto torque marca MOMAT L-10 para disminuir el tamaño de partícula.

En la primera etapa para preparar los ensilados se emplearon 1000g de pescado por triplicado, se midió previamente el pH de la pasta a fin de poder determinar *a priori* su calidad para su procesado. La adición del ácido sulfúrico se hizo lentamente y se empleó un potenciómetro a fin de determinar que el pH de 2.5. Las muestras acondicionadas se colocaron en recipientes adecuados para llevar a cabo las hidrólisis respectivas, se utilizó como antioxidante Terbutilhidroquinona (TBHQ) en una cantidad de 200 ppm en función del contenido de grasas de la muestra. Se determinó la actividad enzimática, nitrógeno total (NT), nitrógeno no proteínico (NNP), sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), trimetilamina (TMA), humedad, proteína, grasa y cenizas.

Para la segunda etapa, se elaboraron 2 ensilajes con un peso de 21 kg y 45 kg, la pasta se obtuvo tal como se describe en la primera etapa. Se midió el pH verificando un valor cercano a 2.5, se acondicionó en contenedores a 37°C y se incluyó agitación mecánica frecuente, se usó un agitador de propela marca Caframo RZR 1 a una velocidad constante de 600 R.P.M. durante todo el proceso de hidrólisis, se utilizó como antioxidante Terbutilhidroquinona (TBHQ). Se realizaron los análisis proximales, microbiológicos, de minerales y perfil de aminoácidos.

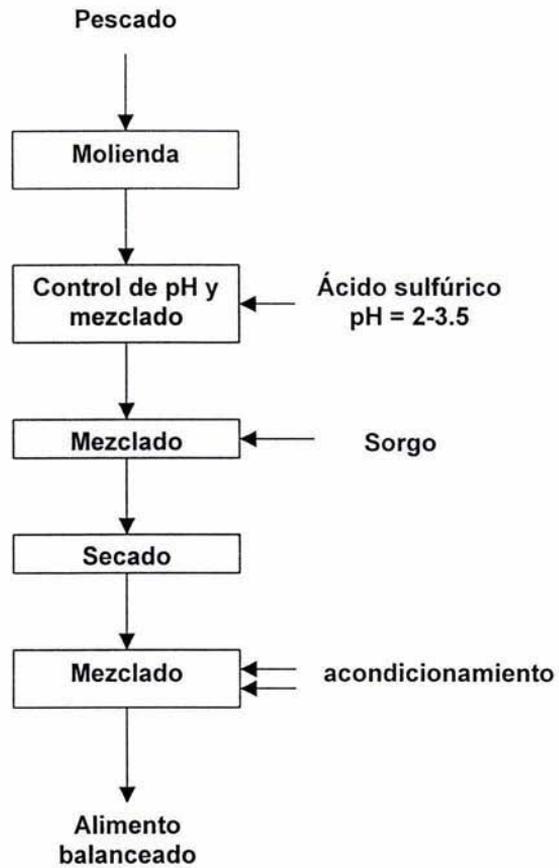


Figura 3. Diagrama de bloques para la preparación del ensilado.

4.4. Secado del ensilado.

El peso total del ensilado preparado fue de 66 kg, una parte de éste fue secado para realizar los análisis químicos microbiológicos, de minerales y aminoácidos, el resto del ensilado fue mezclado con 25.5kg de sorgo dulce. El tiempo que duró el secado fue de 72 horas al sol a cielo abierto en el día y con cubierta por la noche, el piso fue cubierto con plástico para no tener pérdidas y contaminaciones indeseables. Durante este tiempo se movió manual y frecuentemente a fin de lograr disminuir el tamaño de las partículas, el producto final fue de color caramelo, de olor agradable ligeramente dulce y de consistencia granular.

La mezcla secada se almacenó en bolsas de polietileno con atmósfera de nitrógeno para su mejor conservación.

4.5. Análisis proximal, microbiológico, minerales y aminoácidos.

Las muestras para analizar fueron el pescado fresco (sierra), ensilado líquido, ensilado en base seca y la mezcla ensilado:sorgo.

La metodología empleada en análisis proximal, prueba de mesófilos aeróbicos, coliformes totales, levaduras y hongos, fueron realizados siguiendo las técnicas recomendadas por la AOAC, (1990), para evaluar la calidad de estos productos.

En la determinación de minerales como sodio, potasio, calcio, magnesio y zinc se empleó la técnica de absorción atómica, se recurrió a los servicios de la Unidad de Servicio y Apoyo a la Investigación (USAI), Facultad de Química (UNAM).

El contenido de hierro y fósforo se determinó por colorimetría, el hierro se determinó por la técnica de la AOAC, (1990) y fósforo por la técnica descrita según Fiske, (1925).

Para el contenido de aminoácidos se empleó los servicios de la empresa Degussa Hüls AG (Hanau, Alemania), quienes emplearon la técnica de cromatografía líquida de intercambio iónico, para su cuantificación.

4.6. Evaluación biológica del ensilado de pescado.

La prueba de evaluación biológica fue realizada en el **Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPA)** de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM; el tiempo de evaluación fue de 21 días, durante el mes de enero. Se emplearon 200 pollitos mixtos de la estirpe Ross x Ross, de un día de edad. Para este estudio se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos, cuatro réplicas y 10 pollitos por réplica.

Los resultados fueron analizados con el programa minitab 13.32^R, empleando un análisis de varianzas de una vía.

4.7. Formulación de las dietas.

Con los resultados del perfil de aminoácidos y análisis proximal, se formularon las dietas (Cuadro 14) haciendo uso del programa nutron 5.0^R y también los cálculos sobre la base de requerimiento mínimos a fin de cubrir las necesidades de las aves en la etapa de iniciación.

4.8. Manipulación y alimentación de las aves.

Los pollitos fueron colocados en dos criadoras eléctricas en batería de marca Petersime modelo 2SD 12 serie 3483, cada una de las 12 secciones con controlador de temperatura.

Los niveles de inclusión de ensilado de pescado en las dietas o tratamientos fueron de 0 (dieta soya-sorgo), 25 (3.66% de inclusión de ensilado), 50 (7.32% de inclusión de ensilado), 75 (10.99% de inclusión de ensilado) y 100 (14.65% de inclusión de ensilado) con un contenido de proteína cruda de 26.30% para un alimento iniciador de pollitos. Se consideró como 100% a la máxima inclusión de la mezcla ensilado:sorgo, la que representó un 44.0% en peso del total de la fórmula, la que permite cubrir las necesidades del pollito que da el NRC (1994), a

partir de este nivel se hicieron diferentes inclusiones. Se formularon las dietas isoproteínicas a un 22% e isocalóricas con energía metabolizable de 3000kcal/kg, pues un aumento en esta última puede incrementar la mortalidad por síndrome ascítico, y el costo óptimo para la producción de carne.

Se pesó a los pollitos al inicio del experimento, también se pesaron las raciones del alimento empleado, se controló a diario la temperatura y la provisión de agua y alimento. Se pesaron los pollitos en grupos de 10 (5 hembras y 5 machos), fueron introducidos en las jaulas y se les suplió de alimento pesado y agua *ad libidum*.

El alimento fue controlado y pesado para su aprovisionamiento, el agua fue cambiada diariamente. El aseo de las criadoras se realizó cada cuarto día, el consumo del alimento fue medido para el cálculo de la conversión alimenticia. Se vacunaron a los pollitos al décimo día de iniciado el experimento contra la enfermedad de Newcastle (cepa Lasota), se usaron dos vacunas, una vía ocular y otra subcutánea en emulsión a fin de reforzar la respuesta inmunológica.

4.9. Evaluación económica.

Para la evaluación económica de procesado y producción del ensila ensilado, en forma tentativa y preliminar se emplearon sólo los precios de la mano de obra, materia prima y de los aditivos empleados para la elaboración del ensilado, sin incluir un análisis detallado de los costos involucrados en el montaje de las instalaciones de una planta productora.

4.10. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se emplearon dos pruebas estadísticas: t de student, y ANOVA de una vía con una prueba de rangos múltiples de Duncan. El objetivo de la prueba de t de student fue establecer si en las pruebas de laboratorio existen diferencias significativas entre la prueba control y el ensayo con antioxidante. Para la evaluación biológica, se utilizó un análisis de

varianza de una vía con una prueba de rangos múltiple de Duncan al 95%. Ambas pruebas se realizaron empleando el programa estadístico Minitab versión 13.32^R.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1. Análisis de la materia prima.

La materia prima que fue usada presentó la siguiente composición química (Cuadro 5).

Cuadro 5. Análisis proximal del pescado sierra y harina completa¹ del pescado sierra (g/100g muestra)².

	Pescado entero	Harina pescado
Humedad	74.86 ± 1.09	9.60 ± 0.15
Proteína	18.58 ± 0.87	64.44 ± 0.53
Grasa	3.94 ± 0.76	20.99 ± 0.36
Cenizas	3.28 ± 0.17-	4.97 ± 0.17

1. Harina completa: Piel, filete, vísceras y huesos.

2. Datos obtenidos por triplicado, CV<5%

En el pescado, el contenido de proteína, grasa y cenizas varía en algunos casos, dependiendo de la época del año, estado de madurez, ubicación geográfica de la pesca realizada, así como también el tipo de tecnología empleada en el procesado de la materia prima y otro dato muy importante es la calidad de la materia prima empleada o la fuente de la cual proviene (Petersen y Johnson, 1980; FAO, 1975).

En este caso el análisis del pescado (sierra) presenta un valor de proteína de 18.6 % por ser de una muestra íntegra, tiene un importante contenido de grasa reportado como de 3.94 %, el valor de cenizas de un 3.28% es alto y se relaciona posteriormente como una buena fuente de minerales como calcio, fósforo, sodio, potasio, tal como ha sido reportado por Peralta y Elechiguerra (2003).

5.2. Características químicas y físicas del ensilado.

La materia prima presentó un pH comprendido en el intervalo de 6.3-6.7, sin embargo se reporta que si el valor de pH es de 6.0 indica un buen estado del pescado (Belitz y Grosch, 1988), aunque otros autores como Bello y Brito (1995) sugieren que incluso se puede elaborar ensilados con materia primas que tengan un valor de pH 6.9, sin que presenten deterioro a lo largo del proceso, pues la adición de ácidos controla la descomposición.

La adición de ácido sulfúrico se hizo en un porcentaje de 1.29% v/p, que fue considerado como el más viable a fin de reducir el pH y mantenerlo constante durante la preservación y monitoreo, mientras que el otro ácido empleado fue el propiónico al 1% v/p, que a más de permitir disminuir y mantener el pH tiene características antifúngicas. Vizcarra (1998), en la elaboración de ensilajes de desperdicios de atuneras emplea la mezcla ácido sulfúrico-fórmico con el mismo efecto en el proceso, pero aumentando el costo del producto por la inclusión del ácido fórmico.

Al adicionar el ácido sulfúrico a la materia prima, el valor del pH disminuyó hasta cerca de 1.96, posteriormente y en un lapso de 4 horas el pH empezó a subir hasta 3.6, se añadió más ácido sulfúrico y propiónico a fin de lograr mantenerlo dentro del valor de 3. Este proceso se realizó cada hora durante el día y las siguientes 72 horas hasta conseguir la estabilización del producto en un valor comprendido entre 3-3.5, verificando que dentro de las siguientes 18 horas este cambio del pH del producto fuera cada vez menor, esto conduciría a tener estabilidad microbiológica pues a éste pH tan bajo se inhiben las rutas de desaminación que liberan amoníaco. Además se logra estabilidad química debido a la reacción ocurrida entre los ácidos presentes y los huesos que contienen carbonatos y fosfatos (Haaland y Njaa, 1989). El comportamiento encontrado en este estudio es semejante al encontrado por Middleton y cols. (2001), al igual que el efecto de la adición del antioxidante, el cual no influye en los valores de pH durante el proceso y conservación del producto.

5.3. Nitrógeno no proteínico y actividad proteolítica total.

A fin de poder evaluar la hidrólisis a lo largo del proceso, se realizó la determinación del nitrógeno no proteínico (NNP) durante la preparación de la muestra, acondicionamiento y durante los 60 días posteriores a su almacenamiento. Los valores obtenidos para este parámetro durante el desarrollo de los experimentos están en los Cuadros 6 y 7.

Cuadro 6. Contenido porcentual de nitrógeno total y no proteico en el pescado y los dos lotes piloto¹.

Muestra	% N _{total}	% NNP
Sierra	2.98 ± 0.08	0.68 ± 0.03
Lote 1	2.83 ± 0.10 ^a	2.38 ± 0.12 ^b
Lote 2	2.85 ± 0.06 ^a	2.36 ± 0.11 ^b

¹Datos obtenidos por triplicado, CV<5%

Como puede observarse del Cuadro 7, los valores de nitrógeno no proteico (NNP) muestran una buena eficiencia en el avance de la reacción de hidrólisis con respecto a la materia prima, durante la elaboración del lote piloto.

Cuadro 7. Desarrollo del proceso hidrolítico (%NNP) durante 60 días con respecto al nitrógeno total¹.

Día	Con TBHQ	Sin TBHQ
0	12.73 ± 0.23 ^a	12.73 ± 0.23 ^a
1	45.22 ± 0.56 ^a	43.15 ± 0.18 ^b
7	57.15 ± 0.98 ^b	60.08 ± 0.47 ^a
13	64.39 ± 1.23 ^b	73.65 ± 0.22 ^a
21	79.41 ± 0.92 ^b	82.67 ± 0.65 ^a
60	87.15 ± 1.07 ^b	88.23 ± 0.34 ^a

¹Por triplicado, CV < 5%

Los valores del Cuadro 7, muestran el grado de hidrólisis del producto obtenido a nivel de laboratorio durante los días 0, 1, 7, 14, 21 y 60, indicando que a partir de las primeras 24 horas de iniciado el proceso, el ensilaje ya posee un valor de hidrólisis de un 45 %. Algunos autores como Lo y cols, (1993), Bertullo, (1992), Guevara y cols. (1992) Tatterson y Windsor, (1973) y; Hassan y Heath, (1986), concluyen de igual manera al evaluar el comportamiento y caracterización de ensilados elaborados por vía química. En la Figura 3, se aprecia el desarrollo del porcentaje del nitrógeno no proteico durante las pruebas de laboratorio acorde con los datos del Cuadro 6, este ensayo se llevó a cabo con la inclusión de un antioxidante (TBHQ) y otro como testigo sin la adición de antioxidante, esta inclusión no mostró ningún efecto sobre el desarrollo del nitrógeno no proteico al final del ensayo, sin embargo, a través del análisis estadístico realizado para las medias de cada uno de los puntos se observa una diferencia significativa entre el día 7 al 21, para el ensayo con antioxidante, que puede ser atribuido a la falta de agitación durante el desarrollo de la hidrólisis, esto desaparece al día 60 y no hay diferencias entre las dos pruebas.

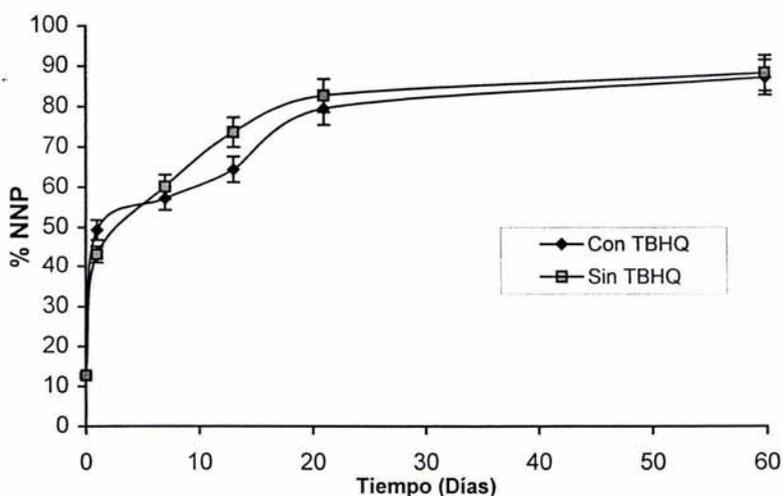


Figura 4. Evolución nitrógeno no proteico ensayo laboratorio.

En algunos trabajos en los que se ha realizado la evaluación de las enzimas presentes, autores como Lindgren y Pleaje, (1983), notan un descenso en la actividad de éstas, cuando se utiliza la hemoglobina como sustrato; sin embargo, hay que considerar que al trabajar con pescados enteros hay presencia de diferentes tipos de enzimas que manifiestan actividades a diferentes valores de pH. Cuando se evaluó la actividad de ensilados de vísceras de pescado los valores de actividad de las enzimas se mantienen sin cambio luego de nueve días de iniciado el proceso, pero debido a la naturaleza de la materia prima se sugiere que las únicas enzimas presentes son las digestivas tales como las pepsinas las que actúan en el proceso de hidrólisis (Vizcarra, 1998). En estos estudios, se indica la presencia de restos de proteínas insolubles dentro del ensilado, las cuales no son atacadas por las enzimas. La materia prima en este trabajo, presentó una actividad proteolítica total de 24938.23 U.A.(unidades de actividad).

Backhoff (1976), en sus trabajos realizados manifiesta que el proceso de hidrólisis alcanza un 50% del nitrógeno no proteico dentro de los tres primeros días, estimando que la velocidad es más alta en las primeras 24 horas del proceso, coincidiendo con los datos registrados durante la elaboración de las pruebas de laboratorio. Al optimizar el proceso a nivel piloto y al incluir agitación frecuente, estos datos dejan de ser eficaces y el proceso presenta otro comportamiento, obteniéndose un mejor rendimiento en el tiempo de la hidrólisis de la materia prima, como se presenta en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Evolución del nitrógeno no proteico (NNP) en el lote piloto.

Horas	NNP
0	22.33 ± 0.35
5	54.83 ± 0.27
8	67.03 ± 1.54
24	71.05 ± 1.18
48	78.57 ± 1.95
72	81.07 ± 0.85
96	85.23 ± 1.07
120	87.49 ± 1.12

Expresado como % del nitrógeno total y por triplicado, CV < 5%

En el Cuadro 8, se resume la formación de nitrógeno no proteico durante el desarrollo del lote piloto. Este efecto es debido a la agitación mecánica constante, acortándose el tiempo de hidrólisis y aumentando el contenido de nitrógeno no proteico. Otro factor importante resultó ser el incremento de temperatura (37 °C) durante todo el proceso; claramente se puede observar este efecto en el proceso del lote piloto en la Figura 4.

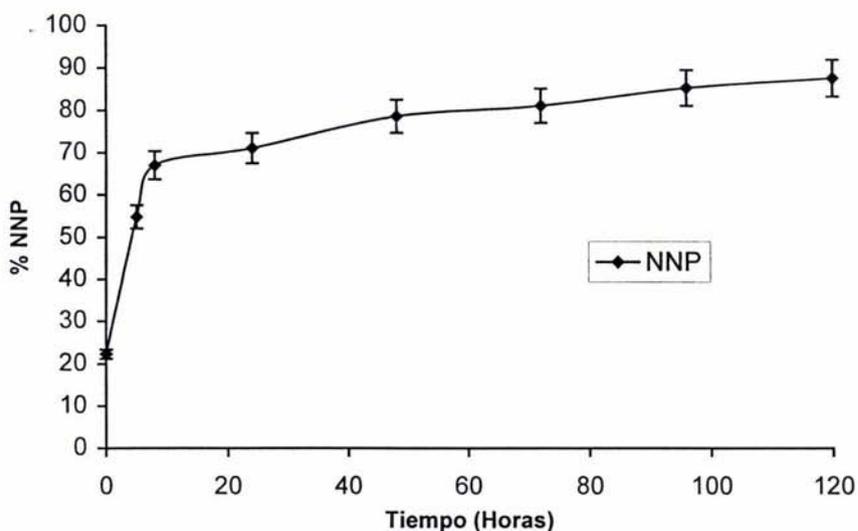


Figura 5. Evolución de nitrógeno no proteico lote piloto.

5.4. Trimetilamina.

Durante el desarrollo del proceso de monitoreo y conservación, los ensilados preparados mostraron una tendencia a la baja en el contenido de trimetilamina (TMA), partiendo de la materia prima la cual contenía valores iniciales entre 140-160 mg de TMA /kg de ensilado, descendiendo hasta valores de 20-30 mg de TMA /kg de ensilado para el producto a los 60 días de muestreo, con lo cual se estima una buena estabilidad y conservación del producto preparado.

El Cuadro 9, presenta los datos correspondientes a la variación de TMA durante las pruebas de laboratorio, en la cual consta un ensayo control y otro con TBHQ como antioxidante, una clara visualización de esta variación se observa en la Figura 6.

Cuadro 9. Evolución de trimetilamina durante 60 días, ensayos de laboratorio^{1,2}.

Días	Con TBHQ 0.02%	Sin TBHQ
	mg /kg	mg /kg
0	147.10 ± 5.69 ^a	147.10 ± 2.69 ^a
1	140.50 ± 7.28 ^a	144.30 ± 1.95 ^a
7	91.25 ± 2.75 ^b	128.13 ± 1.23 ^a
14	67.05 ± 2.09 ^b	122.31 ± 0.98 ^a
21	48.02 ± 3.35 ^b	93.61 ± 0.75 ^a
40	32.47 ± 2.71 ^b	82.15 ± 0.86 ^a
60	29.98 ± 1.08 ^b	60.18 ± 1.71 ^a

¹Promedio ± D.E., n=3

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente (p<0.05)

Con respecto a la grafica 6, el análisis estadístico revela que hay una marcada diferencia significativa entre las dos curvas, observándose un descenso en el valor de trimetilamina, debido al medio ácido en el que se desarrolla el proceso y característico de una buena conservación del producto, ya que si aumenta éste valor indicaría descomposición debido a la presencia de microorganismos.

Haalan y Njaa (1989) informaron que en ensilados químicos de sardinas capelin y de macarela, esta tendencia era la usual, y que incluso en períodos de 120 días los niveles de TMA ya no eran cuantificables.

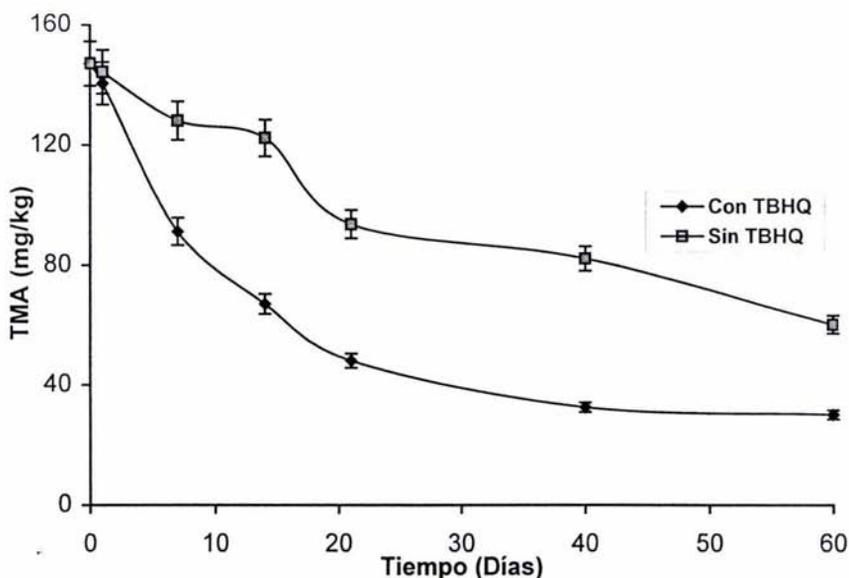


Figura 6. Evolución de trimetilamina ensayo laboratorio.

La preparación de un ensilado con ácidos, presenta la ventaja de que el valor de TMA disminuye, lo contrario ha sido observado y se presenta en aquellos ensilados preparados vía microbiológica, pues por acción enzimática producida por estas bacterias se degradan los aminoácidos, descarboxilándolos o desaminándolos, originando de esta manera diferentes aminas biogénicas que se acumulan o entran en proceso de putrefacción (Beutling, 1992).

Cuadro 10. Variación de trimetilamina (TMA) en el ensilado del lote piloto¹.

Días	TMA (mg/kg)
0	155.12 ± 6.85
1	145.39 ± 5.62
7	98.74 ± 4.33
14	60.41 ± 5.08
21	53.61 ± 4.15
40	35.17 ± 1.17
60	21.44 ± 0.93

¹Por triplicado, CV < 5%

En el anterior Cuadro 10 y la siguiente Figura 7, se presenta la variación del contenido de TMA. A través de esta variación se conoce el comportamiento exhibido durante el desarrollo y conservación del lote piloto, dichos valores y curva obtenida son similares a los que se obtuvieron durante el desarrollo de las pruebas de laboratorio.

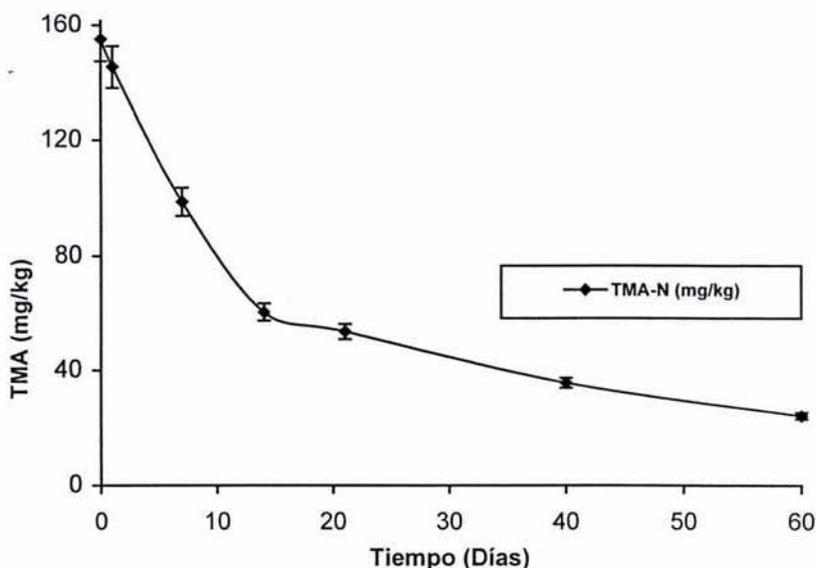


Figura 7. Variación de TMA en lote piloto a 37°C.

5.5. Oxidación lipídica.

Debido a la abundancia de ácidos grasos insaturados de los lípidos que poseen los peces, es necesario conocer el estado de oxidación en el cual se encuentran, para ello se realiza la prueba de cantidad de sustancia reactiva a ácido tiobarbitúrico (TBARS por sus siglas en inglés), expresadas como mg de malonaldehído/kg de producto. La materia prima empleada presentó valores iniciales de 56-42 mg de malonaldehído/kg de producto bajando hasta valores comprendidos entre 30-24 mg de malonaldehído/kg de producto, indicando la

efectividad del antioxidante como protector de los ácidos grasos presentes en el producto preparado (Cuadro 11).

Cuadro 11. Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico expresadas como malonaldehído durante 60 días (laboratorio)^{1,2}.

DIAS	CON TBHQ 0.02%	SIN TBHQ
	mg /kg	mg /kg
0	42.45 ± 0.79 ^a	42.45 ± 0.79 ^a
1	42.51 ± 0.27 ^b	47.89 ± 0.28 ^a
7	39.67 ± 0.65 ^b	55.68 ± 0.74 ^a
14	33.13 ± 0.45 ^b	65.01 ± 0.41 ^a
21	28.33 ± 0.51 ^b	63.18 ± 0.73 ^a
40	26.06 ± 0.21 ^b	75.06 ± 0.67 ^a
60	23.04 ± 0.19 ^b	73.65 ± 0.43 ^a

¹Promedio ± D.E., n=3

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente (p<0.05)

TBHQ: terbutilhidroxiquinona antioxidante

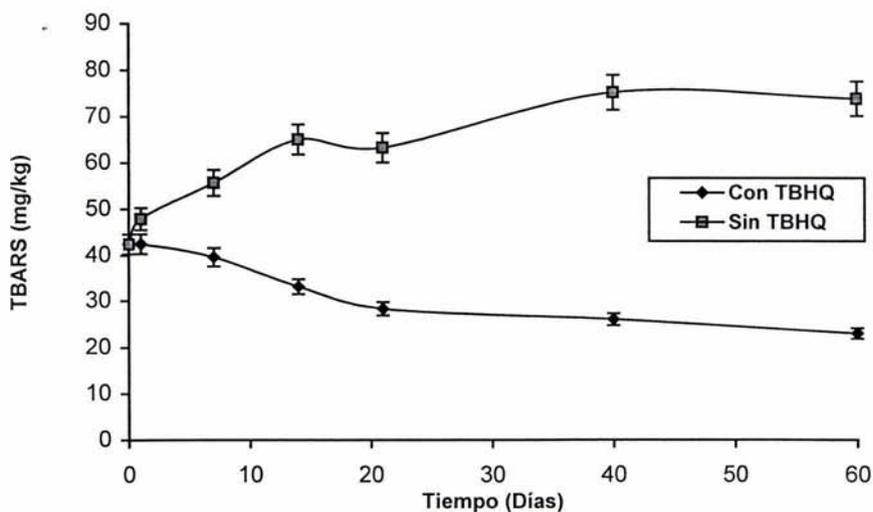


Figura 8. Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) expresadas como mg de malonaldehído/kg de producto durante ensayo de laboratorio.

Los valores del Cuadro 11 se obtuvieron durante el desarrollo de las pruebas de laboratorio, con estos valores se obtuvo la Figura 8, se empleó como antioxidante TBHQ, se observa claramente el efecto que tiene éste sobre el contenido lipídico del ensilado al comparar con el ensayo sin TBHQ y la diferencia presentada entre ambas curvas es altamente significativa de acuerdo con el análisis estadístico.

El Cuadro 12, presentado a continuación, contiene los datos de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico expresadas como mg de malonaldehído/kg de producto, obtenidos durante el desarrollo del lote piloto.

Cuadro 12. Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico expresadas como malonaldehído durante 60 días (lote piloto)¹.

DIAS	mg malonaldehído /kg
0	56.32 ± 0.28
1	55.19 ± 0.15
7	48.74 ± 0.21
14	30.25 ± 0.26
21	27.63 ± 0.42
40	26.62 ± 0.64
60	25.01 ± 0.23

¹Por triplicado, CV < 5%

En la elaboración del lote piloto se incluyó TBHQ, como antioxidante, a fin de prevenir la oxidación del contenido lipídico y su variación durante el proceso. Se observa en la Figura 8, un descenso similar a la Figura 9 obtenido en las pruebas de laboratorio. Esto indica un control efectivo ante la oxidación por parte del TBHQ.

Observando los Cuadros 12 y 11 y las Figuras 8 y 9, se puede manifestar que el descenso de los valores de malonaldehído encontrados de los ensilados con antioxidante, hace suponer dos cosas;

- 1) que el antioxidante empleado cumplió con su función, y

- 2) que el malonaldehído presente en el medio reacciona paulatinamente con las proteínas y/o aminoácidos presentes, impidiendo su detección.

Las anteriores suposiciones son consideradas por Buttkus y Bose (1972), quienes explican que debido a la alta reactividad del malonaldehído, éste es capaz de reaccionar con las proteínas y aminoácidos dentro de los cuales el grupo amino de la lisina es más susceptible.

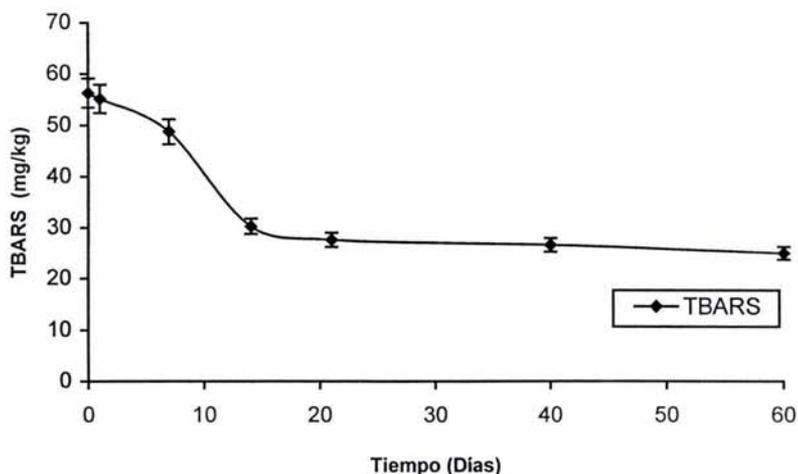


Figura 9. Evolución de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) expresadas como mg de malonaldehído/kg de producto en la elaboración de lote piloto.

Vizcarra (1998), en la preparación de ensilados de desperdicios de atuneras, al referirse a este método de evaluación sostiene que los valores por él encontrados no son detectables al cabo de 15 días, resultados que coinciden con los encontrados por Hall, (1986); sin embargo, hay que considerar el tiempo y las condiciones de almacenamiento, pues la materia prima empleada contenía ya signos de deterioro lipídico, de acuerdo con los autores.

La prevención de la oxidación de las grasas en los alimentos o dietas es importante para un óptimo crecimiento y rendimiento (Wang y cols, 1997), pues la oxidación de los lípidos de los alimentos repercute en la destrucción de las vitaminas solubles en aceite, disminuyendo la disponibilidad de los nutrientes y proporcionando sabores y olores desagradables que se reflejan posteriormente en la baja de la ingesta (Harris, 1997).

En pollitos, hay un incremento en la incidencia de encefalomacia, diátesis exudativa, peroxidación de las membranas celulares y rigidez posterior de éstas, llegando a la muerte por efecto de la oxidación de las grasas en las dietas (French, 1987).

La rancidez es un problema que puede ser prevenido por la separación de los aceites de los ensilados, operación que es difícil y costosa además no cumpliría con el propósito de conseguir alimentos a partir de fauna de acompañamiento de bajo costo. Debido a esto se usó TBHQ como antioxidante a fin de mantener la calidad de los lípidos y consecuentemente usar el producto para fines alimentarios, esto se fortalece con el estudio realizado por Haasan y Heath (1986), los cuales han documentado ampliamente los valores altos de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en ensilados de pescado fresco y recomiendan el uso de antioxidantes.

Los valores que están dentro del intervalo de 20-30 mg/kg obtenidos de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico en este trabajo, son bastante aceptables ya que Farkas y cols. (1997), aconsejan que ensilados con valores comprendidos entre 8 - 250 mg/kg son aceptables y como límite de 2024 mg / kg es considerado malo, ahora ellos evaluaron la capacidad antioxidante del TBHQ llegando a la conclusión de que es adecuado, pues permite retardar la oxidación y aumentar el período de inducción de ésta.

5.6. Pruebas de secado.

En pruebas realizadas en el laboratorio, se mezclaron diferentes proporciones de ensilado de pescado húmedo y sorgo, la finalidad fue determinar la proporción viable para el secado, con este criterio se podrá escoger la más viable económicamente, con un contenido adecuado de proteínas para la formulación de las raciones empleadas en la prueba biológica.

La mejor opción fue la de 2:1 (ensilado húmedo/sorgo), pues presentó un tiempo de secado de 72 horas y un contenido de proteína de 26.30%. También, Vizcarra (1998) empleó sorgo dulce para deshidratar el ensilado líquido, la proporción descrita fue de 2:1, con un contenido final de proteína de 28.23%. Las dos proporciones obtenidas son adecuadas para la preparación de dietas de preiniciadores para pollos de engorda con requerimiento de 22% de proteína.

El secado se realizó al sol, por un periodo de 72 horas, tuvo una humedad de 6.72%, consistencia y granulosidad adecuada tanto para su almacenamiento, como para el mezclado con los ingredientes para la elaboración de las dietas.

5.7. Ensilado seco y mezcla obtenida.

Al ensilado seco y a la mezcla ensilado-sorgo obtenida, se les realizó un análisis proximal, a fin de determinar las características que presentó luego del procesado, los datos obtenidos se resumen en los Cuadros 13 y 14.

Cuadro 13. Análisis proximal de las muestras en base húmeda¹
(g/100g de muestra).

	Ensilado Húmedo	Harina Ensilado ²	Sorgo	Mezcla Ensilado:Sorgo ²
Humedad	75.29 ± 0.97	7.53 ± 0.27	11.45 ± 0.43	6.28 ± 0.57
Proteína	16.15 ± 0.18	60.98 ± 0.93	9.02 ± 0.43	24.65 ± 0.16
Grasa	6.75 ± 0.23	24.60 ± 0.36	3.00 ± 0.12	13.76 ± 0.99
Cenizas	1.99 ± 0.12	6.89 ± 0.19	7.59 ± 0.77	10.58 ± 0.11
Fibra	-----	-----	2.59 ± 0.09	7.06 ± 0.04
Carbohidratos	-----	-----	66.38 ± 1.57	37.51 ± 0.15

¹Por triplicado, CV < 5%

²Secado al sol

El Cuadro 13 muestra un contenido de 61% de proteína, un 25 % de contenido de grasas y un aporte de 6.9 % de cenizas para el caso del ensilado de pescado seco, lo que se presenta como una ventaja para ser combinado con otro ingrediente, como el sorgo, con lo que se obtiene un porcentaje final de 26.30 % de proteína para ser incorporado en las dietas del ensayo.

El Cuadro 14, se muestra información del análisis proximal en base seca de ensilado húmedo, ensilado seco (harina), sorgo y mezcla ensilado-sorgo.

Cuadro 14. Análisis proximal de las muestras en base seca¹
(g/100g de muestra).

	Ensilado Húmedo	Harina Ensilado ²	Sorgo	Mezcla Ensilado:Sorgo ²
Proteína	65.32 ± 0.18	65.37 ± 0.53	10.19 ± 0.43	26.30 ± 0.16
Grasa	27.49 ± 0.23	26.59 ± 0.36	3.39 ± 0.12	14.68 ± 0.99
Cenizas	7.19 ± 0.12	8.04 ± 0.05	8.57 ± 0.77	11.29 ± 0.11
Fibra	-----	-----	2.93 ± 0.09	0.75 ± 0.04
Carbohidratos	-----	-----	74.96 ± 1.57	40.02 ± 0.15

¹Por triplicado, CV < 5%

²Secado al sol

En el Cuadro 15, se presenta los datos de la prueba microbiológica del ensilado, correspondientes a la determinación de mesófilos, coliformes, hongos y levaduras; los resultados son negativos para el ensilado, ya que al obtenerse por vía química se encuentran buenos resultados tanto para la preparación como para su conservación. En cuanto a la calidad de la mezcla ensilado:sorgo, los resultados presentan carga bacteriana por el sorgo empleado para su elaboración. Sin embargo, cumplen con las especificaciones de la Comunidad Europea, Chile, Canadá, Perú, Brasil y Japón, lo que satisface a la norma técnica 1 del programa de harinas de pescado (Sernapesca, 2004).

Cuadro 15. Análisis microbiológico del ensilado seco y la mezcla ensilado de pescado:sorgo.

	Mesófilos aerobios UFC*/g	Coliformes totales NMP**/g	Hongos UFC*/g	Levaduras UFC*/g
Ensilado	A***	A***	A***	A***
Mezcla	> 20	3.6	A***	A***
Ensilado:Sorgo				

*UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

**NMP: Número Más Probable

A***: Ausente en 10 gramos de muestra

Para la determinación de minerales se empleó la técnica de absorción atómica, presentando los valores que aparecen en el Cuadro 15.

Cuadro 16. Análisis de minerales (mg/100g)^{1,2}.

	Pescado	Ensilado	Mezcla EnsiladoSorgo
Sodio	168.83 ^a	177.75 ^a	127.77 ^b
Potasio	433.31 ^a	382.28 ^b	274.72 ^c
Calcio	392.05 ^a	365.2 ^b	295.19 ^c
Magnesio	165.78 ^a	103.49 ^b	74.37 ^c
Zinc	54.30 ^a	35.86 ^b	25.27 ^c
Hierro	7.35 ^a	6.28 ^b	6.38 ^b
Fósforo	261.78 ^a	244.72 ^b	167.75 ^c

¹Promedio, n=3

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente (p<0.05)

El análisis de minerales para el pescado y el ensilado, presentó un importante contenido de potasio, calcio y fósforo, los dos últimos considerados como

importantes para una adecuada formación ósea, además de cantidades relativas de magnesio y sodio y un contenido bajo de zinc y hierro, pero muy importantes en la alimentación de los animales y muy característico de los alimentos de origen marino. Sin embargo al ser mezclado con sorgo estos niveles disminuyen, pero se deben complementar y ajustarse a los requerimientos dados por el NRC (1994) para aves de 0-3 semanas.

5.8. Perfil de aminoácidos.

Esta determinación se realizó a la harina de sierra, al ensilado y a la mezcla ensilado-sorgo (1:2). Para su cuantificación, se empleó la técnica de cromatografía líquida de intercambio iónico.

Cuadro 17. Composición de aminoácidos en el contenido proteico ^{1,2}.

Aminoácido	g/16gN		
	Harina Sierra	Ensilado Sierra	Mezcla Ensilado:Sorgo
Metionina	2.80 ^a	2.79 ^a	2.54 ^b
Cistina	0.80 ^b	0.74 ^b	1.00 ^a
Total azufrados	3.60 ^a	3.54 ^a	3.54 ^a
Lisina	8.38 ^a	8.38 ^a	6.64
Treonina	4.26 ^a	4.25 ^a	3.94 ^a
Triptófano	1.04 ^a	0.87 ^b	0.99 ^a
Arginina	5.92 ^b	6.05 ^a	5.04 ^c
Isoleucina	4.13 ^b	4.16 ^a	4.18 ^a
Leucina	7.18 ^b	7.16 ^b	8.88 ^a
Valina	4.70 ^b	4.70 ^b	4.82 ^a
Histidina	2.77 ^b	2.89 ^a	2.42 ^c
Fenilalanina	3.61 ^c	3.68 ^b	4.14 ^a
Glicina	6.13 ^b	6.52 ^a	5.59 ^c
Serina	3.81 ^b	3.88 ^b	4.07 ^a
Prolina	4.46 ^b	4.61 ^a	-----
Alanina	6.08 ^c	6.20 ^b	7.03 ^a
Ac. Aspártico	9.20 ^a	9.19 ^a	8.75 ^b
Ac. Glutámico	13.30 ^b	13.20 ^b	15.60 ^a

¹Promedio, n=3

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente (p<0.05)

NOTA: aminoácidos esenciales para pollos de engorda en **negritas**.

Los resultados del Cuadro 17, contienen información sobre el estado inicial de los aminoácidos de la materia prima original y del ensilado luego de 60 días de almacenamiento, revelando una pérdida de 16.35% en el contenido de triptófano. Así mismo, se registra una baja en el contenido de azufrados totales en un 1.67% con relación al contenido original.

Esta disminución se puede explicar debido al medio en que se encuentra el ensilado durante la conservación, ácido y oxidante, a esto se suma una mayor inestabilidad cuando se encuentra en forma libre que cuando es parte de las proteínas, lo que ha sido ampliamente documentado por Jensen y cols. (1977) Johnsen cols. (1981), al igual Backoff (1976), al elaborar ensilados de vísceras de pescado bacalao a pH = 3.9 y a 15°C encontró a los 54 días de almacenaje una pérdida del 20%.

Además se ha informado que la pérdida de triptófano se da cuando éste se encuentra en forma libre a bajo pH, es decir que al haber una mayor cantidad de nitrógeno no proteico (NNP), éste sufrirá una seria degradación.

Vizcarra (1998), al evaluar el contenido de triptófano en ensilados obtenidos de desperdicios de atuneras concluye que la pérdida durante un tiempo 20 días es de un 39.3%. Así mismo Espe y cols. (1989), evaluaron los cambios ocurridos durante 180 días de almacenamiento en ensilados y no presentaron cambios sustanciales en relación con la materia prima, cuando el ensilado fue preparado usando ácidos orgánicos e inorgánicos para su conservación, igual comportamiento fue observado en ensilados realizados de forma ácida tal como concluye Green, (1984) al evaluar los cambios en las proteínas de estos ensilados. Mientras que para los elaborados por vía biológica había una gran variación debido a la desaminación que se presenta con mayor frecuencia debido a la presencia de microorganismos.

5.9. Formulación de dietas.

En la formulación de las dietas se empleó el programa Nutrion 5.0^(R), el mismo que posee una base de datos en la cual se describe la composición de cada uno de los ingredientes empleados, así como también el precio y en función de ellos se formuló cada una de las dietas empleadas y descritas en el Cuadro 18.

Cuadro 18. Composición de las dietas empleadas en la prueba biológica.

FORMULA	TESTIGO ^a	25 ^a	50 ^a	75 ^a	100 ^a
INGREDIENTE (kg/ton)					
SORGO 9% de proteína	570.86	532.30	479.98	424.18	368.40
PASTA DE SOYA 48% de proteína	354.08	301.03	250.55	200.78	151.02
ENSILADO : SORGO (1:2)	-----	110.00	220.00	330.00	440.00
ACEITE	29.44	15.35	11.38	8.73	6.18
ORTOFOSFATO DE CALCIO	18.60	17.50	16.43	15.35	14.30
CARBONATO DE CALCIO	15.39	14.68	13.98	13.25	12.53
SAL	4.40	3.75	3.13	2.50	2.03
VITAMINAS Y MINERALES ^b	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
D-L METIONINA 98%	2.09	1.00	-----	-----	-----
L-LISINA* HCL	1.19	0.45	-----	-----	-----
CLORURO COLINA 60%	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
BACITRACINA ZINC ^c	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
ANTIOXIDANTE	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
AZÚCAR	-----	-----	0.0625	0.128	0.190
NUTRIMENTO					
ANÁLISIS CALCULADO					
PROTEINA CRUDA (%)	22.00	22.00	22.00	22.00	22.00
METIONINA (%)	0.500	0.483	0.420	0.455	0.489
METIONINA+CISTINA (%)	0.900	0.900	0.910	1.017	1.125
LISINA (%)	1.280	1.280	1.308	1.372	1.372
ARGININA (%)	1.490	1.455	1.423	1.392	1.362
FÓSFORO DISPONIBLE (%)	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
CALCIO TOTAL (%)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
ENERGÍA METABOLIZABLE ^d	3000.00	3000.00	3000.00	3000.00	3000.00
				0	0

^a Equivalencias de niveles de inclusión de ensilaje de pescado en base seca:

TESTIGO	25	50	75	100
0%	3.66%	7.33%	10.99%	14.65%

^b 2.5 kg de mezcla vitamínica da un aporte de: Vitamina A 12'500,000 UI, Vitamina D₃ 2'500,000 UI, Vitamina E 25000 UI, Vitamina K₃ 2.60 g, Vitamina B₁ 2.00 g, Riboflavina 5.00 g, Vitamina B₁₂ 0.020g, ácido fólico 0.750g, Piridoxina 3.00 g, Niacina 30.00 g, Acido pantoténico 10.00 g, Biotina 0.063 g, Cloruro de colina 400.00 g, Hierro 40.00 g, Manganeso 80.00 g, cobre 10.00 g, Yodo 2.00 g, zinc 60.00 g, selenio 0.20 g, Antioxidante 125.00 g.

^c Promotor del crecimiento

^d kcal/kg

5.10. Ganancia de peso.

El ensayo fue realizado con pollos de un promedio en peso de 40 gramos al primer día de nacidos (ver Cuadro 19), para ampliar información en lo referente al análisis estadístico remitase al Anexo 5.

De acuerdo a los datos obtenidos, con las dietas empleadas, (0, 3.66, 7.33, 10.99, 14.65% de inclusión de ensilado de pescado o dietas: testigo, 25, 50, 75 y 100), hubo una ganancia de peso similar entre dietas ($p < 0.05$), con tendencia numérica a mayor peso de la dieta 2 y 3 a mantener un mayor peso de acuerdo con los resultados que aparecen en los Cuadros 19 y 20 y de ser menor numéricamente con las dietas 4 y 5 para el peso de los pollitos.

Cuadro 19. Incremento en peso de los pollos^{1,2} (g).

Dietas	Peso Inicial	Peso Semana 0-1	Peso Semana 1-2	Peso Semana 2-3
Testigo	41 ± 1 ^a	119 ± 8 ^a	172 ± 16 ^b	354 ± 36 ^a
Dieta 25	40 ± 1 ^a	117 ± 16 ^{ab}	206 ± 27 ^a	365 ± 20 ^a
Dieta 50	40 ± 1 ^a	119 ± 6 ^a	192 ± 11 ^{ab}	344 ± 51 ^{ab}
Dieta 75	40 ± 1 ^a	94 ± 18 ^b	197 ± 11 ^{ab}	330 ± 31 ^{ab}
Dieta 100	40 ± 1 ^a	103 ± 8 ^{ab}	203 ± 14 ^a	311 ± 21 ^b

¹Promedio ± D.E, n=4.

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente ($p < 0.05$)

Cuadro 20. Peso semanal^{1,2}.

Dietas	Peso Inicial	Peso Semana 1	Peso Semana 2	Peso Semana 3
Testigo	41 ± 1 ^a	160 ± 9 ^a	290 ± 16 ^b	644 ± 36 ^{ab}
Dieta 25	40 ± 1 ^a	157 ± 16 ^a	323 ± 27 ^a	688 ± 20 ^a
Dieta 50	40 ± 1 ^a	159 ± 6 ^a	311 ± 11 ^{ab}	655 ± 51 ^{ab}
Dieta 75	40 ± 1 ^a	134 ± 18 ^b	290 ± 11 ^b	621 ± 31 ^{ab}
Dieta 100	40 ± 1 ^a	144 ± 8 ^{ab}	306 ± 14 ^{ab}	617 ± 21 ^b

¹Promedio ± D.E, n=4.

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente ($p < 0.05$)

El Cuadro 20, presenta en resumen los pesos alcanzados durante la evaluación biológica, algunas experiencias de alimentación productiva en animales domésticos realizadas en diversos países coinciden en afirmar las ventajas nutricionales de los ensilados de pescado. La utilización del ensilado químico como fuente energético-proteica alternativa en la preparación de raciones para aves, está comprobada por los resultados alcanzados tanto para ponedoras como para pollos de engorda, con costos menores cuando la proporción del ensilado es del 3,7%, menor que el límite máximo recomendado de 5%. Raciones con un 4% a 5% de ensilado biológico de pescado no confieren ningún gusto extraño a la carne de los pollos (Bertullo, 1992; Guevara y cols. 1991) y la producción de huevos por las gallinas es más alta (Tatterson y Windsor, 1973; Hassan y Heath, 1986). Otras pruebas realizadas con pollos en crecimiento con dietas de hasta 30 g de ensilado / kg. demostraron que no había disminución de la ganancia en peso cuando se utilizaba un ensilado que había estado almacenado por 6 meses (Espe y cols. 1992).

Cuadro 21. Conversión alimenticia^{1,2,3}.

Tratamiento	Semana 1	Semana 2	Semana 3
Testigo	1.01 ± 0.05 ^b	1.63 ± 0.11 ^a	1.64 ± 0.26 ^b
Dieta 25	1.08 ± 0.09 ^{ab}	1.41 ± 0.24 ^{ab}	1.82 ± 0.24 ^a
Dieta 50	1.05 ± 0.02 ^{ab}	1.45 ± 0.14 ^{ab}	1.83 ± 0.24 ^a
Dieta 75	1.08 ± 0.08 ^{ab}	1.38 ± 0.09 ^b	1.73 ± 0.20 ^{ab}
Dieta 100	1.11 ± 0.06 ^a	1.42 ± 0.09 ^{ab}	1.74 ± 0.06 ^{ab}

¹Promedio ± D.E, n=4.

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente (p<0.05)

³g alimento consumido/ g peso ganado

De acuerdo con el Cuadro 21, con relación a la conversión alimenticia, durante las tres semanas de evaluación los valores obtenidos no muestran diferencia significativa (p>0.05) entre tratamientos.

El Cuadro 22, muestra un resumen de todo el experimento, notándose que no hubo diferencia estadística ($p > 0.05$) entre tratamientos para ganancias de peso y conversión alimenticia. Se aprecia que la inclusión de ensilado de pescado con un 3.66% y 7.32% (Dietas 25 y 50) parecen mejor numéricamente y que 10.99% y 14.65% (Dietas 75 y 100) de inclusión redujeron los incrementos de peso. Este efecto está relacionado a un mayor o menor consumo del alimento ($p < 0.05$).

Cuadro 22. Datos promedio de 0-21 días de la evaluación biológica en pollos de las dietas elaboradas con los diferentes niveles de inclusión del ensilado de pescado^{1,2}.

Tratamiento	Ganancia en peso (g/pollo)	Consumo del alimento (g/pollo)	Conversión alimenticia (g alimento/consumo)
Testigo	603 ± 36 ^b	973 ± 59 ^{ab}	1.43 ± 0.36 ^a
Dieta 25	687 ± 20 ^a	1093 ± 95 ^a	1.44 ± 0.67 ^a
Dieta 50	655 ± 51 ^a	1033 ± 31 ^a	1.44 ± 0.57 ^a
Dieta 75	620 ± 34 ^{ab}	942 ± 16 ^{ab}	1.40 ± 0.42 ^{ab}
Dieta 100	616 ± 21 ^{ab}	875 ± 17 ^b	1.36 ± 0.25 ^b

¹Promedio ± D.E, n=4.

²Promedios con diferentes letras entre columnas son diferentes significativamente ($p < 0.05$)

No existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre tratamientos en el peso. Al sustituir proteína de soya por harina de anchoveta peruana, Ávila (1974), concluye que hay diferencias significativas en el peso de los pollos al incluir elevados porcentajes de harina de pescado, ya que inducen a un desequilibrio en las dietas. Vizcarra (1998), de igual manera concluye al evaluar en pollos de engorda, cuando el alimento preparado con ensilado de desperdicios de atuneras en baja inclusión no afecta al crecimiento del pollito pero muestran elevada tendencia a reducirlo.

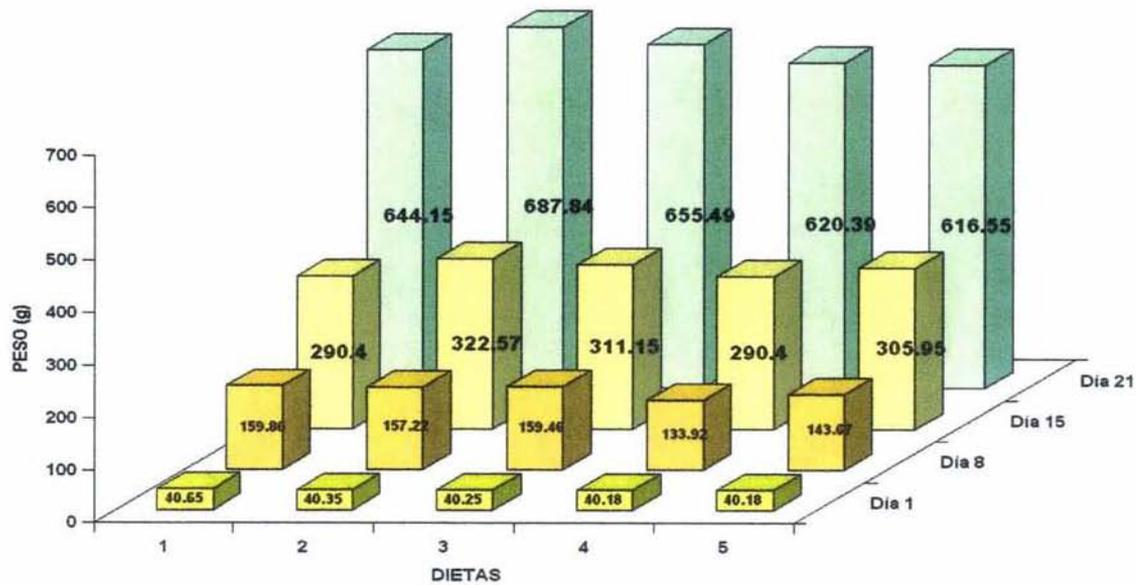


Figura 10. Crecimiento de los pollos en la prueba biológica con diferentes niveles de inclusión de ensilado de pescado.

Las evidencias a este efecto están ampliamente documentadas (Leeson, 1986), ya que alimentos con cantidades altas de lisina se produce un aumento en el requerimiento de arginina, ya que deja de ser transportado (Allen, 1972). Austic (1981) manifestó que hay antagonismo y una interacción que envuelve aminoácidos estructuralmente semejantes, siendo que un exceso de cada uno de ellos eleva la exigencia del otro. La arginina es un aminoácido esencial, considerado uno de los más limitantes en dietas para aves (Edmonds y cols, 1985).

El desbalance en la relación lisina:arginina ya argumentado, explica el porque al aumentar el nivel de inclusión de ensilado, en las dietas preparadas para los pollos de engorda durante la realización de la prueba biológica, se obtienen pesos con tendencia a disminuir y de acuerdo con los datos obtenidos se conoce que el mejor nivel de inclusión del ensilaje de pescado sierra en dietas para pollos de engorda fue de 3.66% de ensilado en base seca, que corresponde a la dieta 2.

5.10. Mortalidad.

La mortalidad durante el estudio fue del 7%, resultando similar entre los tratamientos y ésta se debió principalmente a infección del saco vitelino.

5.11. Evaluación económica.

Los datos presentados a continuación, son basados en cifras oficiales y en moneda nacional, considerando un tipo de cambio precio referencial de 11.40 pesos por dólar.

El estudio económico, ha sido realizado considerando la instalación de la planta productora de ensilado en las cercanías de un puerto, los precios referenciales para los insumos químicos como son los ácidos y el antioxidante son de producción nacional.

5.13. Análisis de costos.

Son basados en actualizaciones, antes de la impresión de este trabajo, se considera el empleo total de ingredientes (Cuadro 23) sobre la base de costos de producción nacional, se emplea el número de tres personas las cuales pueden operar una pequeña planta de producción desde 1 - 10 toneladas con el mismo costo de salarios y una operabilidad de la planta de tres días para la misma cantidad, por cada lote.

Cuadro 23. Precios de materiales^a

	Unitarios	1 Tonelada	10 Toneladas
Pescado ^b kg	0.45	450.00	4500.00
Acido sulfúrico ^c kg	22.00	277.20	2217.60
Acido propiónico ^c kg	37.00	340.00	1700.00
Antioxidante ^c kg	12.50	2.50	25.01
Electricidad Kv/h	1.28	8.45	84.48
Salarios	40.00	480.00	480.00
TOTAL		1558.15	9007.09

^a En pesos
^b Sagarpa, 2001
^c COSMOS, 2004

El Cuadro 24, da una estimación del costo por tonelada del ensilado seco, del sorgo y la mezcla obtenido.

Cuadro 24. Precio en pesos de la mezcla ensilado:sorgo

	Precio / ton	Mezcla ensilado sorgo (1:2)
Ensilado base	3752.95	1249.73
Sorgo 9%*	1275	850.43
Precio final		2100.16

*ASERCA, 2004

El Cuadro 25, presenta valores actualizados del precio en dólares de los diferentes tipos de harinas de pescado que se comercializan en el mundo, además se incluye el precio de la harina de ensilado y la mezcla de ensilado:sorgo, cuya calidad se ve incrementada con el sorgo, pero presenta un atractivo comercial.

Cuadro 25. Precio mundial en dólares de harinas de pescado, harina de ensilado y mezcla ensilado:sorgo por tonelada.

Denominación	USD.
Arenque danesa* 72% PC	780
Harina islandesa* 64% PC	690
Harina de pescado* 64% PC	615
Harina peruana* 63% PC	610
Harina de pescado chilena* 65% PC	540
Harina de ensilaje 61% PC	321
Mezcla ensilaje:sorgo 26.30% PC	180

*Oannes, Enero. 2004
 PC = Proteína cruda
 USD = United States Dollar

En base al análisis de costos realizado, y con referencia a los precios mundiales obtenidos, al compararse con el producto final, mezcla de ensilado:sorgo (1:2), se obtiene que es un producto competitivo con un precio de USD 180.00, con un contenido de proteínas de 26.30%, ahora si el ensilado obtenido fuera secado se obtendría una harina integral con 61% de proteína con un precio de fábrica de USD 321.00, sugiriendo una ganancia de USD 80-100 por tonelada y aún así ser competitivo a nivel mundial.

6. CONCLUSIONES.

El ensilado obtenido fue de consistencia líquida pastosa, con un color marrón y con característico olor a pescado; además presentó un ligero aroma proveniente del ácido propiónico.

El descenso controlado del pH tiene un efecto positivo durante el proceso de hidrólisis y el período de conservación y almacenamiento de 60 días ya que no se presentó putrefacción y garantizó la calidad microbiológica al final del ensayo.

La inclusión de agitación constante y temperatura controlada de 37°C, permitió facilitar el proceso de homogeneización a fin de aumentar la hidrólisis y disminuir el tiempo de ésta.

La adición de un antioxidante como el TBHQ (terbutil hidroquinona), permitió conservar los lípidos en niveles bajos de oxidación.

El valor de trimetilamina de los lotes disminuye durante el período de conservación y almacenamiento.

La actividad proteolítica total que presentó el pescado y las vísceras fue de 24938.23 unidades de actividad, a pesar de que la materia prima fue obtenida en el comercio, lo que permitió que inicie la solubilización de la proteína en un tiempo menor y con ello obtener un producto con un porcentaje elevado de hidrólisis.

La mezcla de ensilado húmedo:sorgo, en las proporciones 2:1 presentó un tiempo óptimo para el secado al sol en un período de 72 horas. La mezcla de cereales con ensilado de sierra es adecuada pues suplementa y permite reducir la cantidad de humedad.

Los valores del contenido de aminoácidos del producto obtenido, revelan como aminoácido limitante al triptófano, registrándose una pérdida de triptófano de un 16.35%, lo que se complementa al ser mezclado con sorgo.

El ensayo biológico revela que los cuatro niveles de inclusión en las dietas no presentan diferencias significativas con respecto al testigo en cuanto a ganancia de peso. Sin embargo, se vió una tendencia hacia mejor ganancia en peso para la dieta 2 con un nivel de inclusión de 3.66% de ensilado al dar el máximo crecimiento comparado con las cuatro dietas.

En el presente trabajo, se demostró que la técnica del ensilaje de pescado es viable para reducir el costo de las raciones comerciales que utilizan productos como harinas de pescado, además de ser un atractivo comercial para la formulación de dietas para alimentación animal.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Allen, N.K., Baker, D.H. 1972. Effects of excess lysine on the utilization and requirement for arginina by the chick. *Poultry Science*. 51:902-906.

Alsmeyer, R., Cunningham, A., Happich, M. 1974. Equations to predict PER from Amino Acid Analysis. *Food Technology*. 28(7):34.

Alves, T. 1990. Crecimiento e mortalidade de macrobrachium rosembergii em sistemas experimentais. Trábalo de Bodrerelato. U.F.R.J. Rio de Janeiro. Brasil

Amarouch, T., Farina, G., Wislow, P. 1998. Nutritive value of fish waste transformed by fermentation. *Food Chemistry*. 2:51-22.

Anson, M. L. 1938. The estimation of pepsin, tripsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *Journal General Physiology*. 22:79-89.

AOAC. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Herlich, K., Ed. 15th, Arlinton, USA. (1). pp. 17, 61-70,83-88, 851-873.

Aranson, S. 1994. Production of fish silage in fisheries prossesing: biotechnological applications. Editado por Martín, A. M. Chapman. London UK. 245-271.

ASERCA. Apoyo al Servicio a la Comercialización Agrícola, con datos de Reuters. Mexico, México. 19 de Marzo de 2004. www.mida.gob.pa/ima/sorgo.

Austic, R.E. 1981. On the nature of amino acid interactions in Cornell Nutrition Conference. Proceedings. Ithaca Cornell University. Ithaca, USA. pp 125-139.

Avdalov, N., Barlocc, N., Bauza, R., Bertullo, E., Corengia, C., Giacommeti L., Panucio A. 1992. Evaluación del ensilado biológico de pescado en la alimentación de cerdos en engorde. FAO. Roma, Italia. Informe de Pesca #441, pp.88-98.

Ávila, G., Balloun, S.L. 1974. Effects of anchovy fish meal in broiler diets. *Poultry Science*. 53:13-72.

- Ávila, G.**, 1992. Alimentación de las Aves. Trillas. México, México. pp.7-35.
- Backhoff, H.F.** 1976. Some chemical changes in fish silage. Journal of Food Technology. 11: 353-363.
- Barlow, S.M., Pike, I. H.**,1977. *The role of fat and fish meal*, in: Pig and poultry nutrition. Int. Assoc. Fish Meal Manufacturers, Technical Bulletin, (4). pp. 38-43.
- Belitz, H.D., Grosch, W.** 1988. Química de los Alimentos. Acribia. Zaragoza, España. pp 491-502.
- Bello, R., Cardillo, E., Martínez, R.** 1993. Estudio sobre la elaboración de ensilado microbiano a partir de pescado eviscerado. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 43(3);221-227.
- Bello, R., Brito, A.** 1995. Experiencias con ensilado de pescado en Venezuela. Boletín de la FAO. Capítulo I. Febrero 5 de 2003 www.fao.org/ag/laga/agap/frg/APH134/cap1.htm
- Bertullo, E.** 1992. Ensilado de pescado en la pesquería artesanal. FAO Supl. Roma, Italia. Informe de Pesca #441, pp.18-42,
- Beutling, D.**1992. Prufung von starterorganismen auf ihre Befähigung zur Bildung von Histamin und Tyramin. Mh. Veterinair-Medazin. 47: 587-591.
- Buttkus, H, Bose, R. J.** 1972. Amine malonaldehído condensation products and their relative color contribution an the TBA test. Journal of the American Oil Chemists Society. 49: 440-443.
- Carpenter, K. J., Lea, C.H., Parr, L.J.** 1963. Chemical and nutritional changes in stored herring meal. 4. Nutritional significance of oxidation of the oil. British Journal of Nutrition. 17: 151-169.
- Cosmos.** 2004. El portal de las industrias. Mayo 5 de 2004. www.cosmos.com.mx/

Daepkevicius, L.N., Robert, M.J., Romboust, F. M., Houben, J. H., Wymwnga, W. 2000. Biogenic amine formation and degradation by potencial fish silage starter microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*. 57: 107-114.

Dugan, L. 1975. *Lipids chemical propierties and reactions*. In: O.R. Principles of Food Science. Fennema (editor). Marcel Dekker, New York, USA. (1): 215-226.

Edmonds, M.S., Parsons, C.M., Baker, D.H. 1985. Limiting aminoacids in low-protein corn-soybean meal diets feed to growing chicks. *Poultry Science*. 64:1519-1526.

Elechiguerra, J. A. 2003. Evaluación del valor nutricional de cuatro pescados enteros comerciales de bajo costo consumidos por la población mexicana. Tesis de licenciatura. UNAM Facultad de Química.

ESPE, M., Haaland, H., Njaa, L.R. 1989. Nutritional value of stored fish silaje as a protein source for young rats. *Journal of the Science of the Food 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 the Food Agriculture*. 58: 315-319.

FAO. 1975. Expanding the utilization of marine fishery resources for human consumption. *FAO Fish. Rep. Roma, Italia*. 175 (1): 44-47.

FAO. 1990. Informe de la segunda Consulta de Expertos sobre Tecnología de Productos Pesqueros en América Latina. Montevideo, Uruguay. *FAO Roma, Italia. Informe de Pesca*. 441 (1): 29.

FAO. 1995. Colección FAO: El sorgo en la Alimentación. Alimentación y Nutrición. Roma, Italia. (10):22-56.

Farkas, J.K., Floros, J.D., Lineback, D.S., Watkins B.A. 1997. Oxidation kinetics of menhaden oil with TBHQ. *Journal of Food Science*. 62 (3): 505-507.

Fernández, R., González, J.A., Acosta, G. 1996. *Caracterización de la pulpa de pescado obtenida a partir de la fauna de acompañamiento del camarón del Golfo de México*. Memoria del 8º Encuentro Regional de Investigación Científica y Tecnológica del Golfo de México. Organizado por la Academia Tamaulipeca de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Tampico, México.

Fiske, M., Subbarow, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *Journal of Biological Chemistry*. 66 (2): 375-400.

Figuroa, W. La harina de pescado en la alimentación animal. Artículo de la revista electrónica salud y nutrición. Junio 11 de 2004. www.fis.com/snp/harina.htm.

French, K.M. 1987. Crianza práctica de las aves. Impresión producida por Corporación Transcentury para el Cuerpo de Paz. Washington D.C., USA. 2(5):87-106.

Gildberg, A. 1993. Review: Enzymic processing of marine raw materials. *Process Biochemistry*, 2(8):1-15.

Gildberg, A., Raa, J. 1982. Properties of propionic acid/formic acid preserved silage of cod viscera. *Journal of the Science of the Food and Agriculture*. 28:647-653.

Grande, J.M., Diaz, M.L. 1981. Situación actual y perspectivas de utilización de la fauna de acompañamiento del camarón en México. *Ciencia Pesquera*. 1 (2):21-42.

Green, S., 1984. The use of fish silage in pig nutrition. Ph.D. Thesis, University of Nottingham. Mencionado por D. H. Machin.

Guevara, Y.J., Bello, R.A., Montilla, J.J. 1991. Evaluación del ensilado de pescado elaborado por vía microbiológica, como suplemento proteico en dietas para pollos de engorde. *FAO Informe de Pesca #441 (5):107-114*.

Haaland, H., Njaa, L.R. 1989. Total volatile nitrogen a quality criterion for fish silage?. *Aquaculture*. 79: 311-316.

- Haar, N.F., Kariel, N., Herzberg, G., Feltham, L.A.W., Winter, K.** 1985. Stabilization of protein and oil in fish silage for use as a ruminant feed supplement. *Journal of the Science of the Food and Agriculture*. 36(2): 229-241.
- Hall, G. H., Ledward, D. A.** 1986. Silage from tropical fish: Lipids behavior. *Journal of Food Technology*. 22: 46-49.
- Harris, G.K.** 1997. A comparison of the relative antioxidant properties of flavonoids to dl-alpha tocopherol. M.s Sc. Thesis. Departement of Food Science, North Carolina State University, Raleigh, NC.
- Hassan, T.E., Heath, J.L.** 1986. Biological fermentation of fish waste for potential use in animal and poultry feeds. *Agricultural Wastes*. 15:1-15.
- Heeland, H., Raa, L. R.** 1987. Ammonia (NH₃) and total volatile nitrogen (TVN) in preserved and unpreserved stored, whole fish. *Journal of the Science of the Food and Agriculture*. 44: 335-342.
- Hui, Y.** 1992. *Encyclopedia of Food Science and Technology*. A Wiley Interscience Publication. Vol II. New York, USA. pp. 910-918.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática** 1994. Anuario Estadístico del estado de Tamaulipas 1994. Talleres editoriales del INEGI, Aguascalientes, México.
- Jackson, A.J., Kerr, A.K., Bullock, A.M.** 1984. Fish silage as a dietary ingredient for salmon. II. Preliminary growth findings and nutritional pathology. *Aquaculture*. 40: 283-291.
- Jensen, J., Schidtsdorff, W.** 1977. Fish silage, low fat and soluble fish protein products. Intl. Assoc. Of fish Meal Manufacture Simposium. Production and Use of Fish Meal. Szczecin, Poland. pp. 23-35.
- Johnsen, F., Skrede, A.** 1981. Evaluation of fish silage as a feed resource-chemical characteristics. *Acta of Agriculture Scandinavian*. 31: 21-28.

- Lalanne, R.** 1971. Alimentación humana. Oikus Tau, S.A. Barcelona, España. pp.71-72.
- Leéis, E.** 1993. Ensilajes de Pescado en Brasil para la Alimentación Animal CPTA/INPA, Manaus, Brasil. 7(2):19-24.
- Leeson, S.** 1986. Nutritional considerations of poultry during heat stress. World's Poultry Science Journal. 42: 69-81.
- Maproon.** 2004. La pesca en el pacífico. Lighthouse foundation. Hamburgo Alemania. Marzo 2004. www.lighthouse-foundation.org/lighthouse-foundation.org/.
- Lindgren, S., Pleaje, M.** 1983. Silage fermentation of fish waste products with lactic acid bacteria. Journal of Science of Food and Agriculture. 34:1057.
- Lo, K. V., Liao, P. H., Gao, Y.** 1993. Effects of temperature on silage production from salmon farm mortalities. Bioresource Technology. 44:33-37.
- Love, R.M.** (1970). *The Chemical Biology of Fishes*. Academic Press. London UK. pp. 43-51.
- Machin, D.H., Panigrahi, S., Bainton, Juliet., Morris T.M.** 1990. Performance of broiler chicks fed on low and high oil fish silage in relation to change taking place in lipids and protein components. Animal Feed Science and Technology. 28:199-233.
- Martínez, M., Pedini, N.** 1997. Latin America and the Caribbean. In: Review of the state of world aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Fisheries Department. pp. 215-220.
- Middleton, T.F., Ferker, P.R., Boydt, L.C.** 2001. The effect of ethoxyquin on the quality of ground poultry mortality carcasses preserved by lactic acid fermentation and phosphoric acid stabilization. Poultry Science Association, Inc. 80:1154-1163.
- NRC.** 1994. National Research Council. Ninth Revised Edition. Subcommittee on Poultry Nutrition. Committee on Animal Nutrition. Board on Agriculture. National Academy Press. Washington, D.C. USA 1994.

Oannes. 2003. Fishmeal market report Peru - Precios referenciales de harina de pescado. Fuente: REPORTE SEMANA: N° 46 (10 Nov. 16 Nov. 03) Lima- Perú. pp. 7-13. Marzo 2004. www.chinaitalia.com/ingles/2004/03/0304.htm

Ottati, G.M., Bello, R.A. 1992a. Ensilado microbiano de pescado en la alimentación porcina I. Valor nutritivo del producto en dietas para cerdos. Roma, Italia. FAO Informe de Pesca #441 Supl. (1):69-79.

Ottati, G.M., Bello, R.A. 1992b. Ensilado microbiano de pescado en la alimentación porcina II. Evaluación de la canal y caracterización de la carne. FAO Informe de Pesca #441 Supl. (2):80-87.

Peralta, M. 2003. Evaluación del valor nutricional de tres pescados enteros comerciales de bajo costo. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM.

Petersen, E.E. and Johnson, B.H. 1980. *Utilization of fish meal protein.* Modern integrated system for domestic animal feeding. Edited by Fleet. FAO/Fishing News Books Ltd. Roma, Italia. pp. 7-31.

Poulter, R.G., Curran, C.A., Rowlands, B., Disney, J.G. 1982. *Comparison of the biochemistry and bacteriology of tropical and temperate water fish during preservation and processing.* Paper presented at the Symposium on Harvest and Post-Harvest Technology of Fish, Cochin, India. London, UK.

Pro, A., Ávila G. E. 1995. Conceptos básicos de la nutrición del pollo de engorda. NRA. National Renderers Association Inc. Virginia, U.S.A. pp. 1-6.

Raa, J., Gilberg, A. 1982. *Fish Silage: A review.* CRC. Critical Reviews in Food Science Nutrition. pp.383-419.

Rick, W. Y Firtch, P. 1974. *Pepsin.* Methods of enzymatic analysis. Hans Ulrich Bergmeyer. 2nd. Academic Press, Inc. Washington, D.C., USA. pp.171-179, 1046-1063.

Sagarpa. 2001. Anuario Pesquero 2001. Mexico D.F., 5 de Mayo de 2004. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/integra/AnuarioPe2.html>.

SEPESCA. Secretaria de Pesca, 1992. Anuario estadístico de pesca. México, D.F. 21 de Marzo de 2004. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/int/AnuarioPe92.html>.

Sernapesca. Servicio Nacional de Pesca. 2004. Servicio Nacional de Pesca. Departamento de Sanidad Pesquera. Santiago, Chile. pp. 1-9.

Stone F.E., Hardy R.W., Cowey C.B. 1989. Fish silage as a dietary ingredients for *Gadus merlangus*. *Aquaculture*. 76:109-118.

Tatterson, I.N., Windsor, M.L. 1973. *Fish Silage*. Torry Advisory Note.. Torry Research Station. Annual Report. pp. 75-79.

Taylor, S.L., 1986. Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Critical Review of Toxicology*. 17: 91-98.

Vallejo, B., Estrada, M. 2003. Catalogo electrónico para la identificación taxonómica y bioquímica de los peces del golfo de California. PROYECTO CIAD-CONACYT. Abril 7 de 2003. <http://www.ciad.mx/catalogo/sierra.htm#PERFIL%20LIPIDICO>.

Vincke, W.. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Acta of Agriculture Scandinavian*. 72(12): 1080-1087.

Vizcarra, L. 1998. Desarrollo de una alimento para aves a base del ensilaje de desperdicio de atuneras. Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos. Facultad de Química. U.N.A.M. pp. 58-115.

Wang, S., Bottje, P., Maynard, D., Dibner, J., Shermer, W. 1997. Effect of SantoquinTM and oxidized fat on liver and intestinal glutathione in broilers. *Poultry Science*. 76: 961-967.

Zuberi, R., Fatima, R., Shamsad, S., Qadi, R. 1992. Preparation of fish silage by microbial fermentation. *FAO. Fisheries Report #470*, 155-164.

8. ANEXOS

Anexo 1

Determinación de nitrógeno no proteínico (NNP), Lo y cols. (1993).

1. Preparar una solución de la muestra al 4% p/v en ácido tricloroacético al 20%, dejar precipitar por un lapso de quince minutos.
2. Filtrar al vacío usando papel Whatman 541.
3. Del filtrado se toma una alícuota de 5 mL y se determina el contenido de nitrógeno por triplicado usando micro-kjeldahl.
4. Por la misma técnica se determina el contenido total de nitrógeno de la muestra.
5. Los resultados obtenidos se expresan como por ciento del nitrógeno total.

Anexo 2

Actividad proteolítica total (Anson, 1938).

Preparación de extracto enzimático a partir del pescado entero:

1. Pesar 5g de pescado entero.
2. Homogenizar la muestra.
3. Aforar a 50 mL con HCl 0.094N, procurando llegar pH = 3.0, así se activará el pepsinógeno.
4. Centrifugar a 16000 r.p.m. durante 20 minutos ya 4°C.
5. El sobrenadante obtenido se diluye con buffer fosfato-citrato a pH = 3.0, para medir su actividad proteolítica y su contenido de proteínas por el método de Lowry (Rick y Firtch, 1974).

Determinación de actividad proteolítica total.

1. Tomar 1 mL de la solución de extracto enzimático y mezclar con 5 mL de una solución de hemoglobina (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA), incubar a 37°C durante 10 minutos.
2. Detener la hidrólisis con 10 mL de ácido tricloroacético al 5%, y el contenido de los tubos se filtro usando papel Whatman 542.
3. Tomar 5 mL de cada filtrado y mezclar con 10 mL de NaOH 0.498 N.
4. Añadir 3 mL de reactivo de Folin (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) diluido 1 mL con 2 mL de agua destilada.
5. Se mide la absorbancia a 750 nm.

NOTA: Los resultados se expresan como micromoles de tirosina producidos en 10 minutos por mg de proteína. Los micromoles de tirosina se obtiene interpolando los valores de absorbancia de una curva estándar de tirosina con concentraciones de 0 a 1 micromoles de tirosina/5 mL (ver Cuadro 26 y Figura 9).

Cuadro 26. Determinación de actividad enzimática.

μg proteína/mL	μMol tirosina	g Muestra	μg proteína/mL
0.00	0.000		
0.84	0.086		
1.68	0.228	0.013	197.53
2.52	0.383	0.013	193.17
3.36	0.531	0.014	199.33
4.20	0.665		
5.04	0.801		

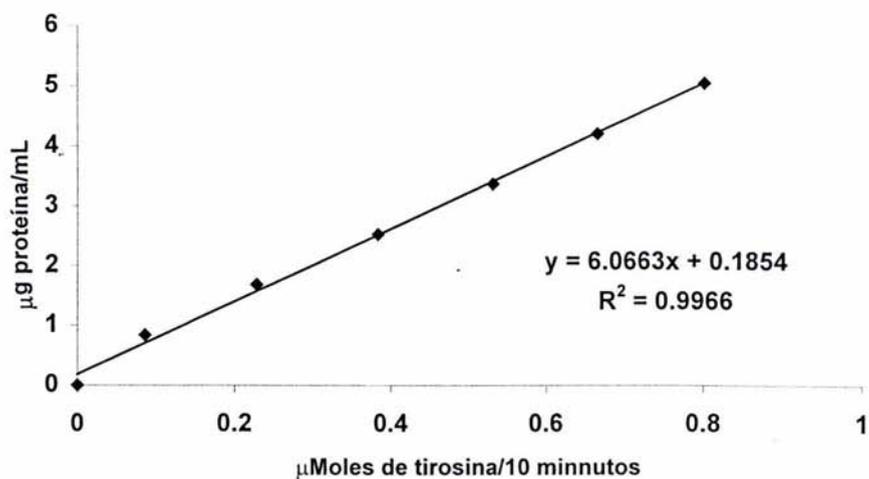


Figura 11. Curva de actividad proteolítica, determinación de la actividad proteolítica total.

1 Unidad de actividad = $1\mu\text{Mol}$ tirosina/10 minutos.

Anexo 3

Rancidez oxidativa.

Método del ácido tiobarbitúrico (TBA). Vyncke, (1970).

1. Preparar una solución de ensilado al 2% p/v, en ácido tricloroacético al 7.5%, homogenizar y filtrar en papel Whatman 541.
2. Tomar alícuotas entre 1 y 5 mL del filtrado y colocarlas dentro de un tubo de vidrio con tapa rosca, el volumen se lleva 5 mL con agua desionizada.
3. Añadir 5 mL de solución de TBA (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) 0.02 M e introducir las en un baño de agua por 45 minutos.
4. Luego de este tiempo se enfría y se lee a 538 nm durante los primeros 30 minutos.

Preparación de la curva.

1. Se emplea un estándar de tetraetoxipropano (TEP) (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA) de concentración $9.8E-6M$.
2. Se toman alícuotas de 0.4. 0.8. 1.2. 1.6 y 2.0 mL y se llevaron a 5 mL con agua desionizada.
3. Se añaden 5 mL de TBA y se sigue como en las muestras.

NOTA: Es recomendable preparar una solución stock a fin de obtener la solución de TEP $9.8E-6M$.

Anexo 4

Determinación de trimetilamina. AOAC, (1990).

1. Preparar una solución al 10 de ensilaje, use TCA al 7.5%.
2. Homogenizar por 5 minutos y filtre con papel Whatman 541.
3. Tomar 2 mL del filtrado y colocar en un tubo de tapa rosca.
4. Llevar a un volumen de 4 mL con agua desionizada.
5. Añadir 1 mL de formaldehído al 20 %, seguido de 10 mL de tolueno y 3 mL de K_2CO_3 (1:1).
6. Tapar y agitar en vortex por 20 segundos.
7. Retirar entre 7 y 9 mL de la capa de tolueno y colocar en tubos que contengan 0.1 g de Na_2SO_4 anhidro para secar el tolueno.
8. Retirar 5 mL de tolueno seco, adicionarlo en tubos que contengan 5 mL de ácido pícrico. Determinar la absorbancia a 410 nm contra el blanco, el cual solo es de agua.

Preparación de la curva.

1. Pesar .682g de hidrocloreuro de trimetilamina (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, USA), adicionar 1 mL de HCl (1:3), aforar a 100 mL con agua desionizada.
2. Tome 1 mL de la anterior solución, añada 1 mL de HCl (1:3), aforar a 100 mL con agua desionizada.
3. Tome alícuotas de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 mL y lleve a 4 mL con agua desionizada, y proceda como en la preparación de las muestras.

Anexo 5

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ENSAYO BIOLÓGICO CON POLLOS DE ENGORDA EN LAS TRES SEMANAS DE DURACIÓN DEL ENSAYO

Ganancia en peso (gramos)

Días: 1-8

Cuadro 27. Peso en la primera semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	163.60	164.90	161.40	145.40	151.30
R2	156.63	168.13	164.60	150.00	146.20
R3	147.89	162.89	151.70	129.22	143.50
R4	169.50	133.33	160.22	110.60	132.56

Análisis de varianza

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Trat.	4	2142	535	3.53	0.032
Error	15	2276	152		
Total	19	4417			

CIs al 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	159.41 A	9.31	(-----*-----)
2	4	157.31 A	16.13	(-----*-----)
3	4	159.48 A	5.51	(-----*-----)
4	4	133.81 B	17.85	(-----*-----)
5	4	143.39 AB	7.91	(-----*-----)

StDev = 12.32

135 150 165

Comparación con prueba de Tukey:

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor crítico = 4.37

Ganancia en peso (gramos)

Días: 15-22

Cuadro 29. Peso registrado en la tercera semana.

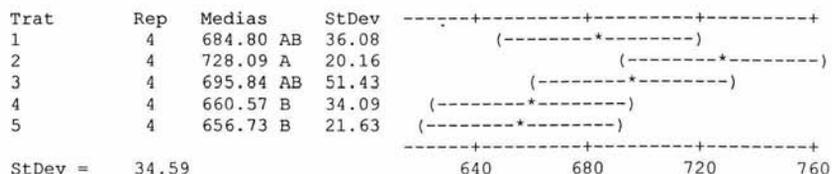
	Testigo	25	50	75	100
R1	720.38	704.60	634.80	692.20	674.60
R2	703.50	742.00	671.90	662.70	649.89
R3	677.89	747.50	741.78	612.78	673.30
R4	637.44	718.25	734.88	674.60	629.11

Análisis de varianzas

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Trat	4	13481	3370	2.82	0.063
Error	15	17948	1197		
Total	19	31429			

CI's individual 95% para medias

Basado en StDev



Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Critical value = 4.37

Ganancia en peso (gramos)

Días: 1-8

Cuadro 30. Peso ganado en la primera semana

	Testigo	25	50	75	100
R1	123.80	124.50	120.60	104.30	109.90
R2	115.43	128.63	124.90	109.30	106.20
R3	107.19	121.39	111.60	88.62	103.90
R4	128.60	93.73	119.42	72.30	92.86

Análisis de varianzas

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Trat	4	2093	523	3.72	0.027
Error	15	2112	141		
Total	19	4205			

CI's individual 95% para medias Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	118.76 A	9.44	-----+-----+-----+-----
2	4	117.06 A	15.84	(-----*-----)
3	4	119.13 A	5.54	(-----*-----)
4	4	93.63 B	16.73	(-----*-----)
5	4	103.22 AB	7.33	(-----*-----)
Pooled StDev = 11.87				-----+-----+-----+-----
				90 105 120

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500
Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Ganancia en peso (gramos)

Días: 8-15

Cuadro 31. Peso ganado en la segunda semana

	Testigo	25	50	75	100
R1	269.58	297.70	304.30	299.30	322.40
R2	305.68	349.13	313.70	299.10	302.50
R3	284.63	341.50	301.40	276.29	309.80
R4	301.70	301.96	325.20	286.90	289.10

Análisis de varianzas

Fuente	DF	SS	MS	F	P
Trat	4	3080	770	2.73	0.069
Error	15	4228	282		
Total	19	7308			

CI's individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	290.40 A	16.61	(-----*-----)
2	4	322.57 B	26.50	(-----*-----)
3	4	311.15 AB	10.74	(-----*-----)
4	4	290.40 A	11.05	(-----*-----)
5	4	305.95 AB	13.92	(-----*-----)

StDev = 16.79

280 300 320 340

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Ganancia en peso (gramos)

Días: 15-22

Cuadro 32. Peso ganado en la tercera semana

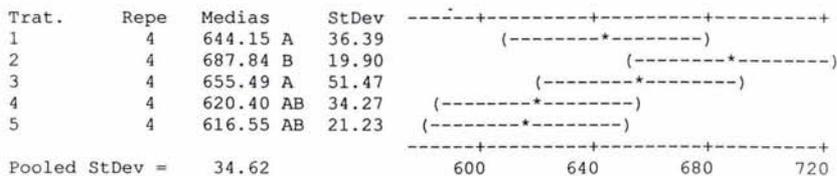
	Testigo	25	50	75	100
R1	680.58	664.20	594.00	651.10	633.20
R2	662.30	702.50	632.20	622.00	609.89
R3	637.19	706.00	701.68	572.18	633.70
R4	596.54	678.65	694.08	636.30	589.41

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	13442	3361	2.80	0.064
Error	15	17981	1199		
Total	19	31423			

CIs individual 95% para medias

Basado en StDev



Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Consumo alimento

Días: 1-8

Cuadro 33. Consumo de alimento en la primera semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	128.10	131.80	130.00	106.90	119.40
R2	108.03	153.18	132.70	114.90	115.50
R3	109.88	132.65	116.60	91.73	112.20
R4	135.30	91.21	121.86	86.60	111.88

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	1903	476	2.17	0.122
Error	15	3285	219		
Total	19	5188			

CIs individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	120.33 A	13.48	(-----*-----)
2	4	127.21 A	25.96	(-----*-----)
3	4	125.29 A	7.40	(-----*-----)
4	4	100.03 AB	13.13	(-----*-----)
5	4	114.75 B	3.51	(-----*-----)

Pooled StDev = 14.80

96 112 128

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Consumo alimento

Días: 8-15

Cuadro 34. Consumo de alimento en la segunda semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	252.44	299.10	299.60	287.40	275.60
R2	312.13	333.13	260.20	274.60	281.80
R3	264.78	331.56	299.30	262.22	277.60
R4	298.60	240.60	277.11	272.20	294.89

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	1575	394	0.61	0.659
Error	15	9611	641		
Total	19	11186			

CIs individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	281.99 A	28.01	(-----*-----)
2	4	301.10 B	43.27	(-----*-----)
3	4	284.05 A	19.07	(-----*-----)
4	4	274.11 AB	10.36	(-----*-----)
5	4	282.47 A	8.67	(-----*-----)

Pooled StDev = 25.31

250 275 300 325

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Consumo alimento

Días: 15-22

Cuadro 35. Consumo de alimento en la tercera semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	540.00	599.40	599.10	566.70	500.00
R2	624.88	747.88	598.60	538.60	484.56
R3	554.22	585.00	630.89	576.89	478.60
R4	563.84	726.00	665.75	590.50	448.42

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	78792	19698	9.41	0.001
Error	15	31398	2093		
Total	19	110190			

CI's individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	570.74 AB	37.40	(-----+-----+-----+-----)
2	4	664.57 A	84.25	(-----*-----)
3	4	623.59 A	31.91	(-----*-----)
4	4	568.17 AB	21.99	(-----*-----)
5	4	477.90 B	21.62	(-----*-----)

Pooled StDev = 45.75

480 560 640

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Consumo alimento

Días: 1-22

Cuadro 36. Consumo de alimento en las tres semanas.

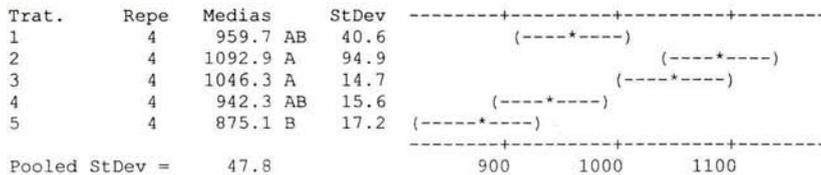
	Testigo	25	50	75	100
R1	920.54	1030.30	1028.70	961.00	895.00
R2	991.50	1234.18	1045.03	928.10	881.86
R3	928.88	1049.21	1046.79	930.84	868.40
R4	997.74	1057.81	1064.72	949.30	855.19

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	119681	29920	13.11	0.000
Error	15	34226	2282		
Total	19	153907			

CIs individual 95% para medias

Basado en StDev



Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Conversión alimenticia

Días: 1-8

Cuadro 37. Conversión alimenticia en la primera semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	1.03	1.06	1.08	1.02	1.09
R2	0.94	1.19	1.06	1.05	1.09
R3	1.03	1.09	1.04	1.04	1.08
R4	1.05	0.97	1.02	1.02	1.20

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
Repetici	4	0.02565	0.00641	2.17	0.122
Error	15	0.04432	0.00295		
Total	19	0.06998			

CI's individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	1.0125 A	0.0492	(-----*-----)
2	4	1.0775 AB	0.0907	(-----*-----)
3	4	1.0500 AB	0.0258	(-----*-----)
4	4	1.0325 AB	0.0150	(-----*-----)
5	4	1.1150 B	0.0569	(-----*-----)

Pooled StDev = 0.0544

0.960 1.020 1.080 1.140

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Conversión alimenticia

Días: 8-15

Cuadro 38. Conversión alimenticia en la segunda semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	1.73	1.73	1.63	1.47	1.30
R2	1.64	1.51	1.38	1.45	1.44
R3	1.49	1.51	1.58	1.40	1.35
R4	1.73	1.16	1.35	1.27	1.50

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
Repetici	4	0.1668	0.0417	2.00	0.146
Error	15	0.3128	0.0209		
Total	19	0.4796			

CIs individual 95% para medias
Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	1.6475 A	0.1132	(-----*-----)
2	4	1.4775 AB	0.2357	(-----*-----)
3	4	1.4850 AB	0.1406	(-----*-----)
4	4	1.3975 B	0.0900	(-----*-----)
5	4	1.3975 B	0.0896	(-----*-----)

Pooled StDev = 0.1444

1.28 1.44 1.60 1.76

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500
Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Conversión alimenticia

Días: 15-22

Cuadro 39. Conversión alimenticia en la tercera semana.

	Testigo	25	50	75	100
R1	1.31	1.64	2.07	1.61	1.61
R2	1.75	2.12	1.88	1.67	1.58
R3	1.57	1.60	1.58	1.95	1.48
R4	1.91	1.93	1.80	1.69	1.49

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
Repe	4	0.2503	0.0626	1.60	0.225
Error	15	0.5856	0.0390		
Total	19	0.8359			

CI's individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	1.6350 AB	0.2574	(-----*-----)
2	4	1.8225 A	0.2469	(-----*-----)
3	4	1.8325 A	0.2029	(-----*-----)
4	4	1.7300 AB	0.1506	(-----*-----)
5	4	1.5400 B	0.0648	(-----*-----)

Pooled StDev = 0.1976

1.40 1.60 1.80 2.00

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Conversión alimenticia

Días: 1-22

Cuadro 40. Conversión alimenticia en las tres semanas.

	Testigo	25	50	75	100
R1	1.36	1.48	1.59	1.37	1.33
R2	1.44	1.61	1.44	1.39	1.37
R3	1.36	1.40	1.40	1.46	1.30
R4	1.56	1.35	1.39	1.33	1.40

Análisis de varianzas

Source	DF	SS	MS	F	P
C1	4	0.03528	0.00882	1.25	0.332
Error	15	0.10578	0.00705		
Total	19	0.14105			

CIs individual 95% para medias

Basado en StDev

Trat.	Repe	Medias	StDev	
1	4	1.4300 AB	0.0945	(-----*-----)
2	4	1.4600 A	0.1134	(-----*-----)
3	4	1.4550 AB	0.0926	(-----*-----)
4	4	1.3875 AB	0.0544	(-----*-----)
5	4	1.3500 B	0.0440	(-----*-----)

Pooled StDev = 0.0840

1.280 1.360 1.440 1.520

Comparación con prueba de Tukey

Familia del error = 0.0500

Error individual = 0.00747

Valor Crítico = 4.37

Anexo 6

Cuadro 41. Requerimientos de nutrimentos como porcentaje de dieta (90% material seca). Tomado del NRC, 1994.

Nutrientes	Unidad g/100g	0-3	3-6	6-8
		Semanas ^a ; 3,200 ^b	Semanas ^a ; 3,200 ^b	Semanas ^a ; 3,200 ^b
Proteína cruda		23.00	20.00	18.00
Aminoácidos				
Arginina		1.25	1.10	1.00
Glicina + serina		1.25	1.14	0.97
Histidina		0.35	0.32	0.27
Isoleucina		0.80	0.73	0.62
Leucina		1.20	1.09	0.93
Lisina		1.10	1.00	0.85
Metionina		0.50	0.38	0.32
Metionina+ cistina		0.90	0.72	0.60
Fenilalanina		0.72	0.65	0.56
Fenilalanina + tirosina		1.34	1.22	1.04
Prolina		0.60	0.55	0.46
Treonina		0.80	0.74	0.68
Triptofano		0.20	0.18	0.16
Valina		0.90	0.82	0.70
Grasa (g/100g)				
Acido Linoleico		1.00	1.00	1.00
Macrominerales (g/100g)				
Calcio		1.00	0.90	0.80
Cloro		0.20	0.15	0.12
Magnesio	(g/100g)	600	600	600
Fósforo no fítico		0.45	0.35	0.30
Potasio		0.30	0.30	0.30
Sodio		0.20	0.15	0.12
Minerales traza (g/100g)				
Cobre		8	8	8
Yodo		0.35	0.35	0.35
Fierro		80	80	80
Manganeso		60	60	60
Selenio		0.15	0.15	0.15
Zinc		40	40	40
Continuación				
Vitaminas liposolubles				
A	IU*	1,500	1,500	1,500
D ₃	ICU**	200	200	200
E	IU*	10	10	10
K	(g/100g)	0.50	0.50	0.50

Vitaminas hidrosolubles (g/100g)			
B ₁₂	0.01	0.01	0.007
Biotina	0.15	0.15	0.12
Colina	1,300	1,000	750
Folacina	0.55	0.55	0.50
Niacina	35	30	25
Acido pantoténico	10	10	10
Piridoxina	3.5	3.5	3.0
Riboflavina	3.6	3.6	3
Tiamina	1.80	1.80	1.80

Nota: Los datos experimentales y carencias están estimados en base a valores obtenidos para las diferentes edades y la especie en estudio, presentándose en letras itálicas.

^a De 0-3, 3-6 y 6-8 semanas de intervalo para requerimientos de nutrientes y basados en la cronología con los datos disponibles de investigación, aunque esos requerimientos de nutrientes son proporcionados a intervalos de edades cortas o basados en el consumo base del alimento.

^b Las concentraciones de energía se basan en dietas típicas, están expresadas en kcal E_m/kg de dieta. Los valores diferentes de energía pueden ser apropiados dependiendo de los ingredientes locales, precios y disponibilidad.

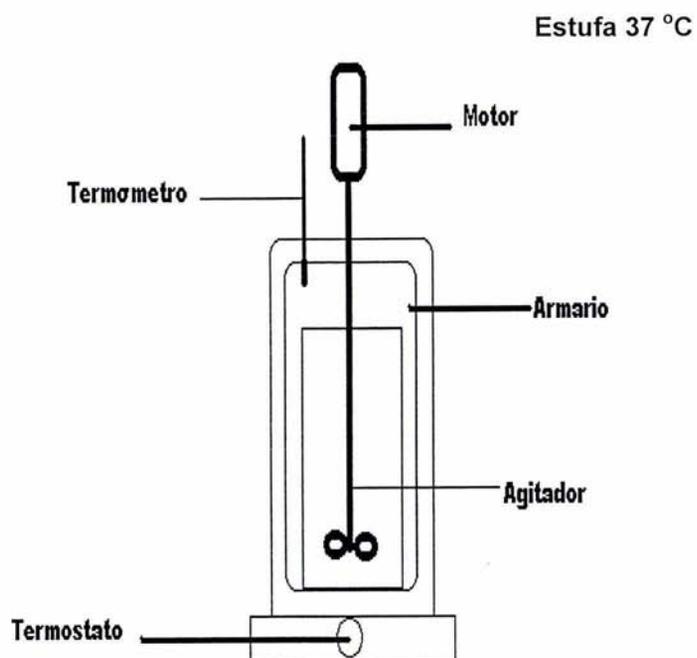
^c Los pollos de engorda no tiene un requerimiento de proteína cruda per se. Aunque la proteína cruda puede ser suficiente necesitan de una fuente de nitrógeno que supla las necesidades de síntesis de aminoácidos no esenciales. Los requerimientos sugeridos para proteína cruda son típicos de los derivados con dietas maíz-soya y los niveles pueden ser reducidos al incorporar aminoácidos sintéticos.

^d Los requerimientos de calcio pueden aumentar con dietas de altos niveles de fósforo fitico (Nelson, 1984).

* IU Unidades internacionales

** ICU Unidades internacionales pollito (sigla en inglés)

Anexo 7



Equipo piloto de hidrólisis

Figura 12. Equipo piloto de hidrólisis.