

## Calidad microbiológica en función del tiempo en dietas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) elaboradas con ensilado de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp.)

Jairo A. Camaño, Julio R. Montes y José E. Zapata\*

Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias. Grupo de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. (correo-e: [jairo.camano@udea.edu.co](mailto:jairo.camano@udea.edu.co); [jrma02@gmail.com](mailto:jrma02@gmail.com); [edgar.zapata@udea.edu.co](mailto:edgar.zapata@udea.edu.co))

\* Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia.

Recibido Ago. 7, 2020; Aceptado Oct. 8, 2020; Versión final Nov. 6, 2020, Publicado Abr. 2021

### Resumen

El objetivo de esta investigación es evaluar la calidad microbiológica y fisicoquímica en función del tiempo de dietas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) elaboradas con ensilado de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp.). Las dietas se elaboraron según lo dispuesto por la FAO (Food and Agriculture Organization) y la norma técnica colombiana 3688. Se evalúa el contenido de humedad, actividad acuosa, recuento de mesófilos aerobios, hongos, coliformes gtotales y patógenos (*Escherichia coli* y *Salmonella* spp.) bajo diferentes temperaturas (18 y 25°C) de almacenamiento. Los resultados muestran que el contenido de humedad y la actividad acuosa se mantuvieron en los rangos de tolerancia a las temperaturas de trabajo, pero a 25°C se observaron los valores más cercanos al límite. Estas dietas pueden tener hasta 3 meses de vida útil si son almacenadas a temperaturas  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ . Se concluye que las dietas examinadas son alimentos microbiológicamente idóneos que cumplen con los requisitos nutricionales para alimentar trucha arcoíris.

*Palabras clave:* ensilaje químico; *Oreochromis* spp.; *Oncorhynchus mykiss*; estabilidad; actividad acuosa

## Microbiological quality over time of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets processed with red tilapia (*Oreochromis* spp.) viscera silage

### Abstract

The main objective of this research study is to assess the microbiological and physicochemical qualities over time of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets processed with red tilapia (*Oreochromis* spp.) viscera silage. The diets were elaborated according to FAO (Food and Agriculture Organization) guidelines and the Colombian technical norm 3688. Moisture content, water activity, aerobic mesophilic count, fungi, total coliforms, and pathogens (*Escherichia coli* and *Salmonella* spp.) are assessed at different storage temperatures (18 y 25°C). The results show that moisture content and water activity remained within tolerance ranges at the temperatures examined, but values closer to regulation limits are observed at 25°C. Shelf life can reach 3 months if diets are stored at temperatures  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ . It is concluded that the diets examined here are microbiologically suitable feed that meet the nutritional requirements for rainbow trout.

*Keywords:* chemical silage; *Oreochromis* spp.; *Oncorhynchus mykiss*; stability; water activity

## INTRODUCCIÓN

La producción de residuos provenientes de la industria piscícola ha estado en aumento durante las últimas décadas, gracias a la creciente demanda de los productos pesqueros por ser considerados nutritivos y saludables (Da Rocha et al., 2019). En la actualidad, se estima que se producen aproximadamente 0.07 millones de toneladas de residuos piscícolas al año (Cakar et al., 2020), los cuales representan aproximadamente el 65% de la producción piscícola, cuyo inadecuado vertimiento puede afectar el medio ambiente (Olsen et al., 2017). El ensilado de pescado es una de las alternativas de solución que se ha dado a esta problemática, este proceso consiste en la adición de microorganismos lácticos, ácidos orgánicos o inorgánicos, con el fin de disminuir la flora microbiana alterante e inactivar enzimas endógenas, favoreciendo la lisis de proteínas, generando péptidos y aminoácidos de interés (Olsen et al., 2017). Este producto ha sido considerado en las últimas décadas como una fuente de proteína de alta calidad para alimentación animal, que además es de bajo costo y cuyo proceso es simple y amigable con el ambiente, porque se basa en el aprovechamiento de residuos altamente impactantes (Da Rocha et al., 2019).

Por otra parte, los alimentos para especies acuícolas representan alrededor del 60% del costo total la producción de peces en granja (Mbahinzireki et al., 2015). En estas dietas se estima que la fuente de proteína es el ingrediente de mayor costo debido a las limitaciones existentes para el uso de fuentes convencionales como harina de soya y pescado (Gonçalves et al., 2019). Es así como el reemplazo total o parcial de la harina de pescado como fuente de proteína en dietas para animales ha sido de gran interés en la actualidad para la industria acuícola (Gonçalves et al., 2019). Para abordar esta problemática se han presentado diferentes alternativas en los últimos años (Davies et al., 2020), siendo el ensilado de pescado el producto que ha mostrado mejores resultados en especies acuícolas, frente a otras fuentes que presentan deficiencia en nutrientes esenciales y la presencia de factores anti-nutricionales. De esta manera, se han desarrollado alimentos para diferentes especies piscícolas a partir de ensilados de residuos de pescado de la misma especie o de otras disponibles (Davies et al., 2020).

Sin embargo, se debe considerar que los alimentos para las especies piscícolas muestran baja calidad cuando se incluyen de materias primas que no están completamente estériles, las cuales impactan en su composición final y contenido microbiológico. Se ha demostrado que los microorganismos patógenos por encima de un cierto límite en las dietas piscícolas, pueden presentar problemas en el crecimiento del pez e incluso causar la muerte, debido a trastornos en el metabolismo digestivo, induciendo así disminución de la productividad y aumento en la tasa de mortalidad (Petreska et al., 2013). Es aquí donde surge la necesidad de la evaluación de la estabilidad fisicoquímica y microbiológica en el tiempo para los alimentos destinados a especies acuícolas y más aún cuando se utilizan materias primas no convencionales para su elaboración, como es el caso del ensilado. A pesar de esto, entre las investigaciones actuales sobre el uso de ensilado de pescado en alimentación de animales, no se encuentran estudios enfocados a evaluar la estabilidad de las dietas en el tiempo.

El agua es uno de los componentes más importantes en los alimentos debido a que la unión con los demás componentes y su interacción con el ambiente circundante afecta directamente las características físicas, así como la estabilidad en el almacenamiento de un producto (Ramírez-Miranda et al., 2014). De este modo, el concepto de agua en los alimentos no solo incluye el contenido de humedad (%H), sino también el agua disponible para propiciar cambios durante el almacenamiento, definida como actividad acuosa ( $a_w$ ), estos dos conceptos se utilizan para obtener información relevante en términos de estabilidad y vida útil de productos alimenticios (Ramírez-Miranda et al., 2014). En este sentido, la  $a_w$  ha sido definido como la relación entre la presión del vapor de agua de un sistema alimentario y la presión del agua pura a una temperatura específica (Ayala-Aponte, 2011). Este parámetro ha sido considerado uno de los más importantes a la hora de evaluar la estabilidad de un producto alimenticio, puesto que está directamente relacionado con el crecimiento de microorganismo y su control (Jin et al., 2019), así como con reacciones enzimáticas responsables del deterioro fisicoquímico (Leonardo et al., 2020).

Se ha establecido que alimentos con  $a_w$  menores a 0.6 se consideran seguros e incluso se puede permitir hasta 0.83 como valor máximo para evitar la proliferación de bacterias patógenas (Jin et al., 2019). Sin embargo, algunos microorganismos patógenos pueden sobrevivir a condiciones de baja humedad y  $a_w$ , durante largos periodos de tiempo como es el caso de la *Salmonella* spp. (Santillana et al., 2013), que se ha encontrado en alimentos secos como arroz y cereales de trigo (Jin et al., 2019). Esto representa un gran desafío para la industria alimenticia y la comunidad científica en temas de inocuidad alimentaria en alimentos de baja humedad (Tadapaneni et al., 2017), dado que en la fabricación de alimentos no solo se debe garantizar su calidad nutricional, sino también su tiempo de vida útil y una cierta estabilidad, que garanticen la conservación de sus propiedades durante el almacenamiento.

La vida útil se ha definido como el periodo en el cual un producto alimenticio presenta seguridad microbiológica e idoneidad, a una temperatura de almacenamiento dada. De esta manera, encontrar dichas condiciones se hace cada vez más importante debido a que siempre se busca garantizar la ausencia de microorganismos patógenos y mantener la carga microbiana dentro de las tolerancias reglamentarias (O'Sullivan, 2020). Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad microbiológica y fisicoquímica de dietas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) elaboradas con ensilado de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp.), con el fin de determinar el tiempo de estabilidad, bajo condiciones de almacenamiento convencionales.

## METODOLOGÍA

La metodología presenta varias subsecciones. Primero se describe la obtención y preparación del ensilado químico (EQ), seguido por la formulación y elaboración de dietas alimentarias, luego se establecen los métodos analíticos para la caracterización fisicoquímica, así como la metodología empleada para los análisis microbiológicos. Finalmente se establece la metodología para la evaluación de estabilidad e isoterma de sorción de las mismas.

### Obtención de ensilado químico

Las vísceras de tilapia roja (*Oreochromis* spp.) (VTR) fueron suministradas por la piscícola "El Gaitero" ubicada en el municipio de San Jerónimo, Colombia. Estas se trataron según la metodología empleada por Arias et al., (2017), dispuestas en cavas de poliestireno expandido con la presencia de geles refrigerantes, con el fin de garantizar la cadena de frío hasta el laboratorio de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Antioquia, donde fueron procesadas. Inicialmente las VTR fueron calentadas a  $60^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$  por un periodo de 20 minutos y congeladas por 12 h, para generar la separación del contenido lipídico y la fase acuosa. Luego, las vísceras desengrasadas (VDTR) se trituraron en un procesador de alimentos (Black y Decker, USA) y se dispusieron en contenedores plásticos de polietileno de alta densidad de 25 kg de capacidad, en los que se adicionó los insumos que se presentan en la tabla 1. La mezcla fue almacenada en condiciones asépticas, con cierre hermético por un periodo de 8 días hasta lograr un descenso del pH de 5.18 a  $\leq 4$ .

### Elaboración de dietas

Se diseñaron dos dietas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), en las que se incluyó el ensilado de tilapia, como sustituto parcial de la harina de pescado y torta de soya. Para la elaboración de las dietas se siguieron las directrices establecidas por la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO, 2017) y la norma técnica colombiana NTC 3688 (ICONTEC, 2018), en alimentos para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). En ellas se realizó una inclusión de ensilado químico (EQ) de aproximadamente 36 y 30 %b.s para la dieta 1 (DF1) y dieta 2 (DF2) respectivamente. Antes de su uso, el EQ se neutralizó con una solución de hidróxido de sodio al 15% hasta pH  $6.8 \pm 0.2$ , posteriormente se mezcló con las materias primas mencionadas en la tabla 1. La mezcla se hizo pasar por un molino con un sistema de tornillo sin fin, sin suministro de temperatura (CITALSA, Colombia) utilizando un disco de 5 mm de diámetro. Finalmente, los alimentos fueron secados en estufa de aire (Thermo Scientific™, USA) a  $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 12 horas y se empacaron en bolsas de polipropileno, hasta su análisis. Se utilizó una premezcla de vitaminas y minerales la cual presenta la siguiente composición por 250 g de producto: vit. A - 1400000 IU; vit. B1 - 500 mg; vit. B12 - 300 mg; vit. B2 = 500 mg; vit. B6 – 1.6 g; vit. D3 - 2500000 IU; vit. E - 6000 IU; vit. K3 = 1000 mg; biotina - 30 mg; niacina -12 g; ácido fólico - 1 g; cobalto - 50 mg; cobre - 3000 mg; hierro - 25 g; yodo - 500 mg; manganeso - 32.5 g; selenio - 100.50 mg; zinc -22.49 g.

Tabla 1: Formulación de ensilado químico y dietas de prueba.

| Ensilaje            |       | Dietas            |            |            |
|---------------------|-------|-------------------|------------|------------|
| Ingrediente         | %     | Ingrediente       | DF1 (%b.s) | DF2 (%b.s) |
| VDTR                | 98.68 | Ensilado químico  | 35.87      | 29.91      |
| Ácido fórmico       | 1.16  | Torta de soya     | 53.81      | 59.77      |
| Ácido sulfúrico     | 0.03  | Proteína de soya  | 3.14       | 3.14       |
| Sorbato de potasio  | 0.12  | Almidón de yuca   | 6.27       | 6.27       |
| Butilhidroxitolueno | 0.002 | Mezcla vitamínica | 1          | 1          |

### Métodos analíticos y microbiológicos

Para la caracterización bromatológica de VTR, VDTR, EQ y dietas alimentarias se utilizaron las metodologías establecidas por la *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC), se determinó el contenido de humedad en estufa de aire (Thermo Scientific™, USA) según el método 930.15, el contenido de grasa o extracto lipídico se cuantificó en un sistema Soxhlet (Radleys, USA) mediante el método 920.39, la proteína se determinó por el método 954.01 correspondiente al sistema de Kjeldahl (Velp científica, Italia) y las cenizas fueron calculadas por incineración en mufla (Terrigeno, Colombia) según el método 942.05 (AOAC, 2000). Finalmente, la determinación de carbohidratos se obtuvo mediante la resta de 100% y los demás componentes calculados anteriormente (Spanopoulos-Hernandez et al., 2010). La  $a_w$  se determinó con el equipo LabMaster- $a_w$  modelo CH-8853 Lachen (Novasina, Suiza). La energía se estimó según los coeficientes calóricos de los macrocomponentes proteína, grasa y carbohidratos, estos análisis se realizaron por triplicado reportando media y desviación estándar. Para los análisis microbiológicos se emplearon las directrices establecidas por la norma técnica Colombia NTC 3688 (ICONTECT, 2018) realizando los análisis de recuento de mesófilos aerobios (MA), mohos y levaduras (ML), coliformes totales (CT) esporas de *Clostridium* sulfito reductor (ECSR), *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Salmonella* spp. (*S. spp.*).

### Evaluación de estabilidad durante el almacenamiento

El análisis de estabilidad de las dietas se realizó mediante mediciones periódicas del contenido de humedad (%), actividad acuosa ( $a_w$ ), recuento de MA, ML, ECSR, CT, *E. coli* y *S. spp.* Estas mediciones se realizaron a temperaturas de almacenamiento de 18 y 25°C y con un 50% de HR, siendo además de las dietas, el único factor contemplado en este estudio. Se registraron datos cada 15 días hasta un total de 90 días. Las diferencias entre los valores de las propiedades fisicoquímicas en función del tiempo y la temperatura, fueron determinadas utilizando la prueba de comparaciones múltiples con la metodología de diferencia mínima significativa (LSD), con un nivel de confianza del 95%.

### Isotermas de sorción y modelamiento

Para la determinación de las isotermas de adsorción se utilizó la metodología gravimétrica estática como método de sorción, se empleó el equipo de medición de  $a_w$  LabMaster- $a_w$  modelo CH-8853 Lachen (Novasina, Suiza) empleando soluciones salinas saturadas con diferentes humedades relativas, a saber: LiCl, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, NaCl, BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O y K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, con 11, 33, 58, 75, 84 y 97% de humedad relativa (HR) respectivamente. La  $a_w$  de las muestras de alimentos corresponde a la HR de la atmosfera en condiciones de equilibrio a una temperatura específica (Ramírez-Miranda et al., 2014). El peso de las muestras en el equilibrio se determinó utilizando una balanza analítica TXB2201L (Shimadzu, Japón) con precisión de 0.01 g. Se reportaron los resultados como humedad en el equilibrio ( $X_w$ ) vs  $a_w$  a una temperatura de 25°C para ambas dietas. Las curvas obtenidas se ajustaron a modelos matemáticos de isotermas de uso común en alimentos, los cuales se presentan en la tabla 2 como GAB, Caurie y Peleg. Como parámetros de bondad de ajuste de los modelos se empleó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y la raíz del error cuadrático medio (RMSE). El ajuste se realizó usando el método de mínimos cuadrados, con el software "Mathlab" (Licencia 914762, versión 2018).

Tabla 2: Modelos matemáticos para el modelado de isotermas de sorción de las DF.

| Modelo | Ecuación  | Constantes  |
|--------|---|---|
| Caurie | $X_w = \exp \left[ a_w \ln(v) - \left( \frac{1}{4.5 X_s} \right) \right]$ | $X_s$ : Contenido de humedad de seguridad que proporciona la máxima estabilidad al producto deshidratado durante el almacenamiento.<br><br>$V$ : Constante característica del material.   |
| GAB    | $X_w = \frac{X_m C K a_w}{(1 - K a_w) [1 + (C-1) K a_w]}$                 | $X_m$ : Humedad del producto correspondiente a la situación en la que los puntos de sorción primarios están saturados por moléculas de agua. $C$ : Constante de Guggenheim característica del producto y relacionada con el calor de sorción de la monocapa.<br>$K$ : Factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa. |
| Peleg  | $X_w = A a_w^B + C a_w^D$   | $A$ , $B$ , $C$ y $D$ : Constantes características para cada producto   |

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los resultados se presentan en primer lugar la caracterización fisicoquímica y microbiológica de las vísceras, ensilado químico y dietas DF1 y DF2. Luego, los resultados correspondientes a la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de ambas dietas y finalmente se analiza las isotermas de sorción de las mismas, a 25°C.

### Caracterización fisicoquímica

En la tabla 3 se presenta la composición bromatológica VTR, VDTR, EQ, DF1 y DF2, en la que se aprecia que la composición de las VTR obtenidas fueron similares a las reportadas por Arias et al. (2017). También, se observa que en el proceso de desengrasado, las vísceras tuvieron una reducción de aproximadamente 20% de contenido lipídico, aumentando la concentración de la proteína como macrocomponente de interés, similar a lo reportado por Gómez y Zapata (2017), quienes redujeron la grasa en un 25% y obtuvieron valores de proteína del 50% b.s aproximadamente. Además, el ensilado obtenido presentó características bromatológicas de interés como fuente de proteína alternativa para la alimentación animal debido a su alto nivel de proteína (33.05 % b.s), siendo similar a lo reportado por Suarez et al., (2018), quienes obtuvieron niveles de proteína del 40 % b.s a partir de ensilaje de residuos de tilapias. Del mismo modo, Da Rocha et al. (2019) encontraron niveles de 33.70 % b.s para proteína, demostrando el gran potencial que tiene este sustrato de ser incorporado en dietas para animales.

Tabla 3: Caracterización fisicoquímica de vísceras, ensilado químico y dietas elaboradas.

| Componente           | Muestra    |            |            |            |            |
|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                      | VTR %      | VDTR %     | EQ (%b.s)  | DF1 %      | DF2 %      |
| Humedad %            | 56.45±0.01 | 76.99±0.21 | 74.59±0.35 | 6.8±0.03   | 7.16±0.5   |
| Proteína             | 5.12±0.22  | 7.81±0.24  | 33.05±0.08 | 42.41±0.48 | 43.88±0.76 |
| Grasa                | 31.6±0.49  | 12.2±0.65  | 57.06±0.41 | 28.1±1.2   | 17.1±0.04  |
| Cenizas              | 1.35±0.19  | 1.22±0.18  | 7.79±0.02  | 6.18±0.01  | 6.17±0.01  |
| Carbohidratos        | 5.48±0.53  | 1.78±0.20  | 3.50±0.06  | 16.51±0.01 | 25.69±0.02 |
| Energía bruta (KJ/g) | --         | --         | --         | 23.93      | 21.51      |

Por otro lado, se observa que los parámetros fisicoquímicos observados en la tabla 3 correspondientes a las dietas DF1 y DF2 se encuentran dentro de los valores permitidos para la elaboración de dietas alimentarias de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) según la NTC 3688 (ICONTECT, 2018) y la FAO, (2017), los cuales establecen 13% de humedad máximo, 40% mínimo de proteína, 10% grasa mínimo y 12% máximo para la cenizas. En cuanto a los carbohidratos, la FAO establece que no existe un requerimiento dietético de este componente para la trucha arcoíris, sin embargo, algunos reportes han mostrado que por encima del 30% se empiezan a saturar las reservas de glucógeno y los musculo, lo que puede provocar estrés metabólico durante toda la alimentación (FAO,2017).

Además, se pudo observar que DF2 presentó un mayor contenido de carbohidratos que DF1, lo que se debe al mayor uso de torta de soya en DF2, sin embargo, los niveles de proteínas no se vieron significativamente afectado por esta sustitución. Similarmente el mayor uso de ensilado en DF1 provocó mayor contenido de grasa en esta dieta respecto a DF2. A pesar de estas diferencias, las dietas elaboradas presentaron valores similares a los reportados para otras dietas en alimentación de trucha arcoíris con valores de 28%, 43% y 6.5% para grasa, proteína y cenizas respectivamente (Salgado-Ismodes et al., 2020), mientras que Brinker y Reiter (2011) reportaron valores de 46.2 y 17.3% para proteína y grasa respectivamente, en una dieta con aplicaciones alternativas de fuente de proteínas para trucha arcoíris. Por último, los requerimientos calóricos de energía bruta presentaron valores por encima del mínimo establecido por la FAO (15.5 KJ/g), y similares a los reportados por los estudios de Salgado-Ismodes et al., (2020) y Brinker y Reiter (2011), con valores de 24.4 y 23.6KJ/g respectivamente.

Por otro lado, es bien sabido que la trucha arcoíris es considerada una especie carnívora, lo que implica la importancia del uso de la proteína animal, sin embargo, desde la década pasada, varias investigaciones han enfatizado el uso de proteínas alternativas a partir de fuentes vegetales que sustituyan al máximo la fuente de proteína animal, considerando los resultados positivos como grandes avances en la industria acuícola (Gatlin et al., 2007). De este modo, Brinker y Reiter (2011), investigaron el reemplazo de harina de pescado por sustitución de proteínas vegetales en el alimento para truchas y su efectos sobre la utilización del alimento y la calidad del pescado, evaluaron diferentes dietas variando el contenido de proteína animal, incluso con

ausencia de esta, y encontraron que la sustitución fue exitosa en todas las dietas, logrando resultados comercialmente competitivos en términos de precio, facilidad de manejo, almacenamiento y sostenibilidad de la producción.

#### Caracterización microbiológica

En la tabla 4 se presentan los resultados microbiológicos de los diferentes sustratos y su valor referencial máximo según la NTC 3688 (ICONTECT, 2018), en los cuales se observa que las VDTR presentaron una carga microbiológica menor con respecto a las VTR, gracias al calentamiento durante el desengrasado, el cual además de generar una separación del extracto lipídico provoca la desnaturalización de enzimas y eliminación parcial de carga microbiana (Gómez y Zapata, 2017). Del mismo modo, en el EQ se logra apreciar menor contenido de los microorganismos, esto se debe al descenso del pH hasta valores que limitan la presencia de microorganismo putrefactivos ( $\text{pH} < 4$ ) (Olsen, et al., 2017), lo que lo hace una materia prima inocua para ser incorporada en dietas avícolas. Este mismo comportamiento se encontró en ambas dietas, destacándose el bajo recuento de MA, ML, CT y ECSR, así como la ausencia total de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp, los cuales son los indicadores de contaminación en alimentos para peces (Petreska et al., 2013). Esto muestra que el EQ de tilapia roja puede ser usado como materia prima de alternativa proteica para la elaboración de dietas para trucha arcoíris garantizando condiciones de inocuidad. Resultados similares fueron reportados por Gonçalves et al. (2019), quienes encontraron que la inclusión de ensilado ácido de tilapia como materia prima alternativa para dietas de camarones, mejoró su estabilidad microbiológica y vida útil en general.

Tabla 4: Análisis microbiológico de vísceras, ensilado y dietas elaboradas.

| Análisis       | Muestras   |          |          |          |          | Referencia       |
|----------------|------------|----------|----------|----------|----------|------------------|
|                | VTR        | VDTR     | EQ       | DF1      | DF2      |                  |
| MA (Ufc/g)     | 950        | 340      | < 100    | 10       | 80       | $10 \times 10^5$ |
| ML(Ufc/g)      | < 100      | 10       | 10       | 10       | 100      | $10 \times 10^4$ |
| CT (Ufc/g)     | 240        | 50       | < 100    | < 100    | < 100    | $10 \times 10^4$ |
| ECSR(Ufc/g)    | 10         | < 100    | < 100    | < 100    | < 100    | $20 \times 10^1$ |
| S spp.         | Presuntiva | Ausencia | Ausencia | Ausencia | Ausencia | Ausente          |
| <i>E. coli</i> | Ausencia   | Ausencia | Ausencia | Ausencia | Ausencia | Ausente          |

#### Estabilidad fisicoquímica y microbiológica

El comportamiento de la humedad y la  $a_w$  en función del tiempo a 18 y 25°C, durante 90 días de almacenamiento, se muestran en la Fig. 1 para las dietas DF1 y DF2. Se observa que ambas variables presentan tendencia ascendente en función del tiempo, siendo mayor el incremento a la menor temperatura de trabajo (18°C). Además, en ambas dietas, la mayor parte del tiempo, la humedad estuvo por encima y la  $a_w$  por debajo, para la menor temperatura, lo cual se debe a que a esta temperatura las moléculas de agua tienen menor movilidad y por ende, menor tendencia a escapar hacia la fase de vapor, por lo que permanecen en mayor medida en el producto (Puri y Khamrui, 2016). Además, la unión del agua en este tipo de sustratos proteicos, se da en parte por unión de esta con los grupos aminos polares de las proteínas, la cual se debilita con el aumento de la temperatura (Leonardo et al., 2020). Sin mencionar la permeabilidad de los empaques incrementa con la temperatura facilitando la salida de agua en forma de vapor desde el interior (Wani y Kumar, 2016). Los mayores valores de humedad final fueron 10.36 y 11% para DF1 y DF2, respectivamente, los cuales cumplen con los requeridos por la normatividad (13% máx), sin embargo, estos valores se encuentran muy cerca al valor crítico para la proliferación de bacterias, mohos y levaduras, que es del 12% (Ah-Hen et al., 2014).

Por otro lado, la actividad acuosa presentó diferencias estadísticamente significativas entre las dos temperaturas para las dos dietas ( $p < 0.05$ ), esto se debe a que el incremento de temperatura aumenta la movilidad de las moléculas de agua, con lo que se aumenta la presión de vapor del agua en el alimento, es decir la  $a_w$  (Ayala-Aponte, 2011). Resultados similares se han encontrado en otras matrices proteicas como es el caso de la proteína de soya. Los valores máximos de  $a_w$  a 25°C fueron de 0.64 y 0.66 para DF1 y DF2 respectivamente, los cuales son valores aceptables desde el punto de vista de estabilidad microbiológica y fisicoquímica (Jin et al., 2019).

A pesar de que los valores finales de  $a_w$  y humedad del producto, estuvieron en el rango aceptable según la normatividad, debido a la persistencia de algunos patógenos en alimentos secos (Santillana et al., 2013) se debe corroborar la estabilidad del producto. Por tal razón, en la tabla 5 se presentan los resultados de los análisis microbiológicos a las dos temperaturas de trabajo, en ella se observa que ninguna de las dietas

presentó contenidos microbiológicos por fuera de la norma (ICONTECT, 2018) durante todo el tiempo de almacenamiento. A pesar de esto, se observa un leve crecimiento de ML y MA en las muestras a medida que avanza el tiempo, lo que se explica por el incremento en la humedad y en la  $a_w$  de las muestras, que se mostró en la Fig. 1. Por otro lado, es de notar que la temperatura de 25°C a pesar de ser más alta, presentó recuentos menores debido a la relación entre el crecimiento microbiano y la humedad del producto (Wani y Kumar, 2016).

Estos resultados muestran que las dietas elaboradas a partir de EQ pueden tener un periodo de vida útil aproximado de 3 meses, en lo referente a los parámetros fisicoquímicos (%H y  $a_w$ ) y microbiológicos (MA, ML, ECSR, CT, *E. coli* y *S* spp), puesto que se mantienen en los rangos requeridos para ser considerado un alimento seguro para peces (O'Sullivan, 2020).

#### Isotermas de sorción y modelado

Teniendo en cuenta que la temperatura de 25°C fue la que mostró los mejores resultados en cuanto a la estabilidad fisicoquímica y microbiológica, se decidió hacer la isoterma de sorción de las dos dietas a 25°C, cuyas curvas se presentan en la Fig. 2. Estas isotermas corresponden al tipo III según la clasificación de Brunauer, que han sido reportadas en alimentos ricos en proteínas, como en el caso de jamón curado (Leonardo et al., 2020). En ellas se observa que desde valores bajos de  $a_w$  hasta aproximadamente 0.5, la  $X_w$  presenta incrementos leves, pero por encima de este punto, se observa un drástico incremento de  $X_w$ . Esto se debe a que con el incremento de  $a_w$  las moléculas de almidón en las dietas que inicialmente están en estado vítreo, pueden aproximarse a la región de transición vítrea y llegar a ser plastificadas, incrementando su movilidad y su disponibilidad para la sorción, con lo que se incrementa exposición de sitios activos o de grupos hidrofílicos que son puntos de unión para el agua (Zapata et al., 2014).

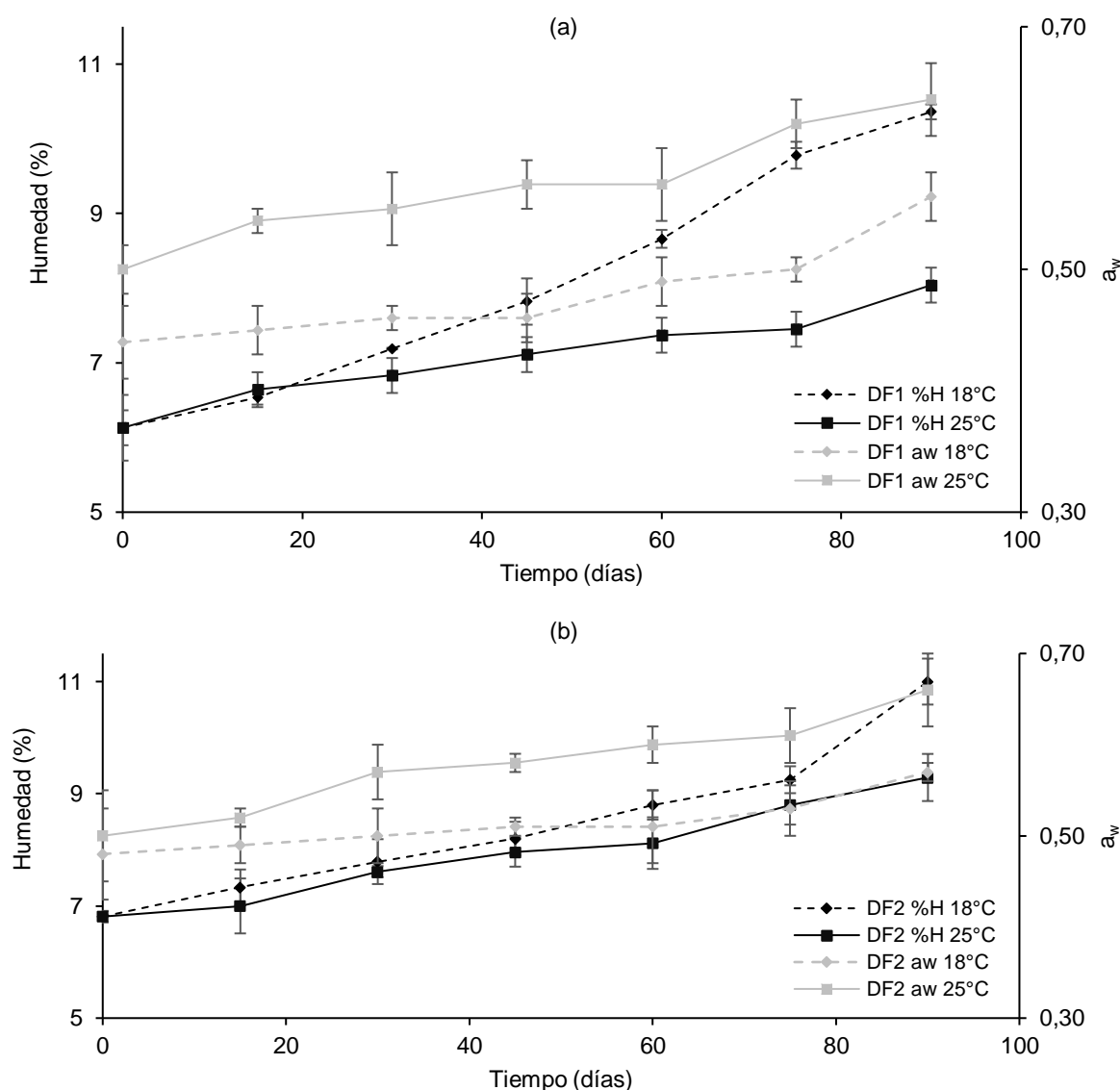


Fig. 1: Comportamiento de %H y  $a_w$  en función del tiempo a 18 y 25°C. (a) DF1. (b) DF2.

En general la composición bromatológica de la matriz define el comportamiento de sorción (Jin et al., 2019; Arslan-Tontul, 2020), es por esto que la dieta DF2, con mayor contenido de carbohidratos presenta mayor sorción de agua que DF1. Porque las matrices ricas en azúcares o almidón, tienden a ser más higroscópicas, como es el caso de harina de yuca (Ayala-Aponte, 2011) y almidón de maíz (Jin et al., 2019), que tienen valores  $X_w$  cercanos al 0.15 Kg H<sub>2</sub>O/Kg b.s. Comparativamente la variación de  $X_w$  (0.066-0.090 Kg H<sub>2</sub>O/Kg b.s), para un cambio de  $a_w$  entre 0.17-0.60, en las muestras en el presente estudio fue baja, posiblemente por ser matrices que aunque contienen carbohidratos son principalmente proteicas, como ya lo reportó Jin et al. (2019) en proteína de soya, con variaciones de  $X_w$  menores a 0.10 Kg H<sub>2</sub>O/Kg b.s y  $a_w$  máximas a 0.6 a 25°C. Así mismo, DF1 por tener mayor contenido de grasa, presenta menor sorción de agua que DF2, debido a los grupos hidrofóbicos presentes (Jin et al., 2019; Wani y Kumar, 2016).

Tabla 5: Recuentos microbiológicos en las dietas durante 90 días de almacenamiento

| Análisis       | DF1 18°C. Tiempo (días) |    |    |    |    |    |     | DF2 18°C Tiempo (días) |    |    |    |    |     |     |
|----------------|-------------------------|----|----|----|----|----|-----|------------------------|----|----|----|----|-----|-----|
|                | 0                       | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90  | 0                      | 15 | 30 | 45 | 60 | 75  | 90  |
| MA (Ufc/g)     | 10                      | 0  | 0  | 0  | 25 | 50 | 210 | 0                      | 0  | 10 | 0  | 0  | 100 | 320 |
| ML (Ufc/g)     | 0                       | 0  | 0  | 0  | 0  | 10 | 0   | 0                      | 0  | 24 | 0  | 0  | 0   | 100 |
| ECSR (Ufc/g)   | 0                       | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0                      | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   |
| CT (Ufc/g)     | 0                       | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0                      | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   |
| <i>E. coli</i> | A                       | A  | A  | A  | A  | A  | A   | A                      | A  | A  | A  | A  | A   | A   |
| <i>S spp.</i>  | A                       | A  | A  | A  | A  | A  | A   | A                      | A  | A  | A  | A  | A   | A   |
| Análisis       | DF1 25°C                |    |    |    |    |    |     | DF2 25°C               |    |    |    |    |     |     |
| MA (Ufc/g)     | 0                       | 0  | 0  | 0  | 80 | 0  | 40  | 0                      | 10 | 0  | 0  | 0  | 0   | 10  |
| ML (Ufc/g)     | 0                       | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 48  | 0                      | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   |
| ECSR (Ufc/g)   | 0                       | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0                      | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   |
| CT (Ufc/g)     | 0                       | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0                      | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   |
| <i>E. coli</i> | A                       | A  | A  | A  | A  | A  | A   | A                      | A  | A  | A  | A  | A   | A   |
| <i>S spp.</i>  | A                       | A  | A  | A  | A  | A  | A   | A                      | A  | A  | A  | A  | A   | A   |

Los datos experimentales obtenidos para las dos dietas (Fig. 2), se ajustaron a modelos ampliamente utilizados en alimentos como lo son GAB, Caurie y Peleg (Leonardo et al., 2020). Se encontró que el modelo semi-empírico de Peleg proporcionó el mejor ajuste, en la predicción del comportamiento de la sorción a 25°C de las dietas elaboradas a partir de EQ, cuyos valores de ajuste junto con los de los otros dos modelos se presentan en la tabla 6. En ella se observan los altos valores de  $R^2$  (>0.99), así como los bajos valores de RMSE (<0.0005), obtenidos para ambas dietas con el modelo de Peleg. Estos resultados fueron similares a los encontrados por Leonardo et al. (2020) en un producto cárnico rico en proteínas. Por otra parte, los modelos de GAB y Caurie, a pesar de que no proporcionaron grandes ajustes, resultan de interés porque entregan parámetros asociados con propiedades fisicoquímicas como son la humedad en la monocapa ( $X_m$ ) y la humedad de seguridad ( $X_s$ ), las cuales son útiles en el diseño procesos de secado y almacenamiento de alimentos.

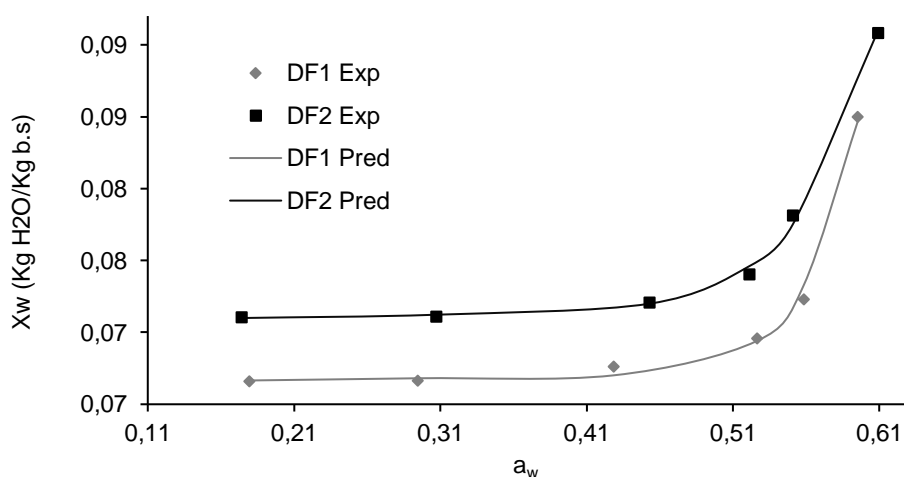


Fig. 2: Modelamiento de isoterma de adsorción de agua para DF1 y DF2 a 25°C. Líneas representan datos predichos por el modelo de Peleg y los marcadores son datos experimentales.



A pesar de que el modelo de Peleg presentó el mejor ajuste, se debe tener en cuenta que, por ser un modelo empírico, su aplicación se limita a las condiciones establecidas en el presente trabajo y no permite profundizar en el entendimiento teórico del proceso, mientras que los modelos de GAB y Caurie, por tener bases teóricas, entregan parámetros útiles y permiten extrapolar resultados a condiciones y escalas diferentes a las del presente trabajo. Por ejemplo, el parámetro  $X_m$  da un indicio sobre la cantidad de agua que es absorbida fuertemente en los sitios activos en la superficie del alimento y es considerado el contenido de humedad en la cual el producto presenta la máxima estabilidad durante el almacenamiento (Wani y Kumar, 2016), mientras que la humedad de seguridad  $X_s$  corresponde a la humedad a la cual el alimento resulta en la máxima estabilidad (Gálvez et al., 2006). En ambos casos estos parámetros definen la mínima humedad a la que se puede llevar un alimento sin causar daño en la matriz al liberar puntos donde el agua se une químicamente y que al estar libres pueden ser atacados por otras especies químicas que puedan alterar negativamente el producto. Al comparar los valores de humedad obtenidos para DF1 y DF2, después del proceso de secado, se observa que se están por encima de  $X_m$  y  $X_s$ , pero en el mismo orden de magnitud, lo significa que las humedades obtenidas para las dietas secas, garantizan la estabilidad de estas durante el almacenamiento.

Tabla 6: Constantes de modelos y parámetros de ajuste de modelos aplicados

| Modelos | Constantes y parámetros de ajustes | DF1       | DF2      |
|---------|------------------------------------|-----------|----------|
| Caurie  | V                                  | 2082.6784 | 488.6784 |
|         | $X_s$                              | 0.0355    | 0.0405   |
|         | $R^2$                              | 0.7611    | 0.8041   |
|         | RMSE                               | 0,0589    | 0.0524   |
| GAB     | $X_m$                              | 0.0524    | 0.0622   |
|         | C                                  | 0.0245    | 1.2232   |
|         | K                                  | 1.2762    | 1.3121   |
|         | $R^2$                              | 0.8487    | 0.8375   |
|         | RMSE                               | 0.0649    | 0.0863   |
| Peleg   | A                                  | 0.0671    | 6.2343   |
|         | B                                  | 0.0046    | 11.6350  |
|         | C                                  | 76.9171   | 0.0717   |
|         | D                                  | 16.158    | 0,0055   |
|         | $R^2$                              | 0.9943    | 0.9975   |
|         | RMSE                               | 0.0005    | 0.0004   |

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados de este estudio se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- 1) Las dietas evaluadas pueden ser almacenadas a 25°C por un periodo de 3 meses conservando la calidad microbiológica y fisicoquímica para ser usadas en la alimentación de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*).
- 2) El ensilado de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) resultó ser una gran fuente de proteína para la elaboración de las dietas estudiadas, puesto que garantiza los requerimientos nutricionales sin afectar la calidad microbiológica.
- 3) El comportamiento de sorción de las dietas depende de su composición bromatológica y puede ser explicado por medio de los modelos de Peleg, GAB y Caurie.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo agradecen a la Universidad de Antioquia y a COLCIENCIAS (proyecto 1115-745-58746) por el apoyo financiero brindado para su desarrollo.

## NOTACIONES

### Símbolos

- $a_w$ =Actividad acuosa  
 A,B,C,D=Parámetros del modelo de Peleg  
 %H= Contenido de humedad  
 LSD= Diferencia mínima significativa  
 $R^2$  = Coeficiente de correlación  
 RMSE= Error cuadrático medio  
 $X_m$ = Contenido de humedad en la monocapa  
 $X_s$ = Contenido de humedad de seguridad  
 $X_w$ = Contenido de humedad en el equilibrio  
*E. Coli*= *Escherichia coli*  
*S. spp*= *Salmonella spp.*

### Abreviaciones

- A=Ausencia de microorganismos  
 b.s= Base seca  
 CT= Coliformes totales  
 DF1= Dieta formulada 1  
 DF2=Dieta formulada 2  
 ECSR= Esporas de clostridium sulfito reductor  
 EQ= Ensilado químico  
 MA= Mesófilos aerobios  
 MYL= Mohos y levaduras  
 NTC= Norma técnica colombiana  
 Ufc= Unidades formadoras de colonia  
 VTR= Visceras de tilapia roja  
 VDTR= Visceras de tilapia roja desengrasadas

## REFERENCIAS

- Ah-Hen, K., Lehnebach, G., y otros cinco autores., Evaluation of different Starch Sources in Extruded Feed for Atlantic Salmon, <https://doi.org/10.1111/anu.12064> , *Aquac. Nutr.*, 20(2), 183–191 (2014).
- AOAC., Official Methods of Analysis of AOAC International, 17a Ed; 2-66: Association of Official Analysis Chemists International, Washington, USA (2000).
- Arias, L., Gómez, L.J., y Zapata, J.E., Efecto de Temperatura-Tiempo sobre los Lípidos Extraídos de Vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*) Utilizando un Proceso de Calentamiento-Congelación, <https://doi.org/10.4067/s0718-07642017000500014> , *Inf.Tecnol.*, 28(5), 131–142 (2017).
- Arslan-Tontul, S., Moisture Sorption Isotherm, Isotheric Heat and Adsorption Surface Area of Whole Chia Seeds, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108859>, *Food Sci. Technol. Int.*, 119(October 2019), 108859 (2020).
- Ayala-Aponte, A., Estimación de las Isotermas de Adsorción y del Calor Isostérico en Harina de Yuca, *BSAA.*, 9(1), 88–96 (2011).
- Brinker, A., y Reiter, R., Fish Meal Replacement by Plant Protein Substitution and Guar Gum Addition in Trout Feed, Part I: Effects on Feed Utilization and Fish Quality, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.041>, *Aquaculture.*, 310(3–4), 350–360 (2011).
- Cakar, B., Aydın, S., Varank, G., y Ozcan, H.K., Assessment of Environmental Impact of FOOD Waste in Turkey, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118846>, *J. Clean. Prod.*, 24,118846 (2020).
- Da Rocha, J., De Azevedo, F., Gonçalves, A.A., y Coelho, M.G., Tilapia Processing Waste Silage (TPWS): An Alternative Ingredient for *Litopenaeus Vannamei* (Boone, 1931) Diets in Biofloc and Clear-Water Systems, <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.04.005>, *Aquacult. Fish.*, 4(5), 214–218 (2019).
- Davies, S.J., Guroy, D., y otros 3 autores., Evaluation of Co-Fermented Apple-Pomace, Molasses and Formic Acid Generated Sardine Based Fish Silages as Fishmeal Substitutes in Diets for Juvenile European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) Production, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735087>, *Aquaculture.*, 521(September 2019), 735087 (2020).
- FAO., Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System, Rainbow trout - Nutritional requirements. (2017).

- Gálvez, A.V., Aravena, E.L., y Mondaca, R.L., Isotermas de Adsorción en Harina de Maiz (*Zea mays* L.), <https://doi.org/10.1590/s0101-20612006000400017>, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas 26(4), 821–827 (2006).
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., y otros 16 autores., Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>, *Aquac. Res.*, 38(6), 551–579 (2007).
- Gómez, L.J., y Zapata, J.E., Efecto del Nivel de Grasa y Velocidad de Agitación en la Hidrolisis Enzimática de Vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis* sp.), <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000400007>, *Inf.Tecnol.*, 28(4), 47–56 (2017).
- Gonçalves, A.A., Emerenciano, M.G.C., Ribeiro, F. de A.S., y Da Rocha, S.J., The inclusion of fish silage in *Litopenaeus vannamei* diets and rearing systems (biofloc and clear-water) could affect the shrimp quality during subsequent storage on ice?, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.032>, *Aquaculture.*, 507(January), 493–499 (2019).
- ICONTECT., NTC (Colombia) 3688 Alimentos para animales. Alimento elaborado para piscicultura (peces de cultivo). 1-10, Bogotá (2018).
- Jin, Y., Tang, J., y Sablani, S.S., Food component influence on water activity of low-moisture powders at elevated temperatures in connection with pathogen control, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108257>, *Food. Sci. Technol.*, 112(April), 108257 (2019).
- Mbahinzireki, G.B., Dabrowski, K., y otros 3 autores., Growth, Feed Utilization and Body Composition of Tilapia (*Oreochromis* spp.) Fed with Cottonseed Meal-Based Diets in a Recirculating System, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>, *Aquac. Nutr.*, 189-200 (2001).
- Leonardo, L.F., Evangelista, R.R., y otros 6 autores., Influence of Temperature and Chemical Composition on Water Sorption Isotherms for Dry-Cured Ham, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109112>, *Food. Sci. Technol.*, 123(October 2019), 109112 (2020).
- Ramírez-Miranda, M., Cruz, M.T., Vizcarra-Mendoza, G., y Anaya-Sosa, I., Determinación de las Isotermas de Sorción y las Propiedades Termodinámicas de Harina de Maiz Nixtamalizada, *Rev. Mex. Ing.*, 13(1), 165–178 (2014).
- O'Sullivan, M.G., Validation and Safety of Reformulated Products (shelf-life testing), <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819741-7.00010-9>, *Salt, Fat and Sugar Reduction.*, 227–253 (2020).
- Olsen, R.L., Toppe, J., y Karunasagar, I., Fish Silage Hydrolysates not only a Feed Nutrient, But also a Useful Feed Additive, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.003>, *Trends. Food. Sci., Tech.*, 66, 93–97 (2017).
- Petreska, M., Ziberoski, J., y Zekiri, M., Fish Feed Microbiological Status, *J. Hyg. Eng. Des.*, 16-19 (2013).
- Puri, R., y Khamrui, K., Effect of Temperature on Sorption Isotherms and Thermodynamics of Intermediate Moisture Category Indian Milk Product Cham-cham, <https://doi.org/10.1111/jfpp.12680>, *J. Food. Process. Pres.*, 40(5), 999–1009 (2016).
- Salgado-Ismodes, A., Taipale, S., y Pirhonen, J., Effects of Progressive Decrease of Feeding Frequency and Re-Feeding on Production Parameters, Stomach Capacity and Muscle Nutritional Value in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734919>, *Aquaculture.*, 519(June 2019), 734919 (2020).
- Santillana, S.M., Frank, J.F., y Schaffner, D.W., Modeling the Influence of Temperature, Water Activity and Water Mobility on the Persistence of Salmonella in Low-Moisture Foods, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.007>, *Int. J. Food Microbiol.*, 166(2), 280–293 (2013).
- Spanopoulos-Hernandez, M., Ponce-Palafox, J.T., y otros cinco autores., Production of Biological Silage from Fish Waste, the Smoked Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) and Fillet of Tilapia (*Oreochromis* sp), for Feeding Aquaculture Species, *Rev. Mex. Ing. Quim.*, 9(2), 167–178 (2010).
- Suarez, L.M., Montes, J.R., y Zapata, J.E., Optimización del Contenido de Ácidos en Ensilados de Vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis* spp.) con Análisis del Ciclo de Vida de los Alimentos Derivados, <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000600083>, *Inf. Tecnol.*, 29(6), 83–94 (2018).
- Tadapaneni, R.K., Yang, R., Carter, B., y Tang, J., A New Method to Determine the Water Activity and the Net Isothermic Heats of Sorption for Low Moisture Foods at Elevated Temperatures, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.070>, *Food. Res. Int.*, 102(September), 203–212 (2017).
- Wani, S.A., y Kumar, P., Moisture sorption isotherms and evaluation of quality changes in extruded snacks during storage, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.005>, *Food. Sci. Technol.*, 74, 448–455 (2016).
- Zapata, J.E., Quintero, O.A., y Porras, L.D., Sorption isotherms for oat flakes (*Avena sativa* L.), <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v32n1.40652>, *Agronomía Colombiana.*, 32(1), 52–58 (2014).

Página en blanco