



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD DE DIETAS
COMPUESTAS A BASE DE HARINA DE LANGOSTILLA

(Pleuroncodes planipes) Y SU EFECTO EN EL
CRECIMIENTO EN EL CAMARON BLANCO

(Penaeus vannamei)

T E S I S

PRESENTADA POR:

ERNESTO GOYTORTUA BORES

PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

SAN LUIS POTOSI, S. L. P.

1993

T

SH380

G6

C.1



1080076945



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**EVALUACION DE LA DIGESTIBILIDAD DE DIETAS
COMPUESTAS A BASE DE HARINA DE LANGOSTILLA
(*Pleuroncodes planipes*) Y SU EFECTO EN EL
CRECIMIENTO EN EL CAMARON BLANCO
(*Penaeus vannamei*)**

T E S I S

PRESENTADA POR:

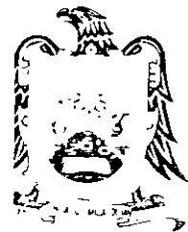
ERNESTO GOYTORTUA BORES

PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

T
SH 380
H6





UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
Av. Dr. Manuel Nava Núm. 6 Teléfono 13-07-12
San Luis Potosí, S. L. P.

Julio 30 de 1993.

SR. ERNESTO GOYTORTUA BORES
P R E S E N T E.

Por este conducto me permito informar a usted, que el H. Consejo Técnico Consultivo de ésta Facultad, en sesión ordinaria de fecha 18 de Junio de 1991, tuvo a bien aprobar su tema de trabajo de Tesis Profesional titulado: "Evaluación del crecimiento y digestibilidad del camarón *Penaeus vannamei* alimentado con dietas compuestas a base de Harina de Langostilla (*Pleuroncodes planipes*)".

Sin otro particular, y agradeciendo de antemano su atención a la presente, me es grato quedar de usted.

A t e n t a m e n t e.

"SIEMPRE AUTONOMA. POR MI PATRIA EDUCARE".



I.Q. ROGELIO A. COLUNGA REYNA.
SECRETARJO..

AGRADECIMIENTOS :

A mis padres, por su cariño, estímulo y sacrificio.

A mis hermanos Horacio, Fernando, Bertha y Alberto, por su cariño y apoyo.

A mi abuela y tías, a mi tío Oscar y familia por haberme abierto las puertas de su casa y brindarme su apoyo y cariño.

A mi asesor de tesis el Dr. Roberto Civera Cerecedo por su paciencia e interés brindada a la elaboración de esta tesis, al igual que a su señora esposa Biol. Gabriela Roldan por la ayuda brindada.

Al Dr. Daniel Lluch Belda, Director General del C.I.B. por permitirme la entrada a este centro y canalizarme a la División de Biología Experimental.

Al Dr. Jose Luis Ochoa, Director de la División de Biología Experimental, por el apoyo y facilidades brindadas durante la elaboración de este trabajo.

A la I.B.Q. Sonia Rocha Meza y la I.B.Q. Adriana Greene Yee por su colaboración técnica en la obtención de los datos aquí presentados.

A los profesores y compañeros de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, con quienes me formé académicamente en la carrera de Ingeniero en Alimentos.

Al Dr. Francisco Vargas Albores quien en varias ocasiones sacrificó parte de su tiempo en resolver algunas dudas que se me presentaron.

A Jaime Malagamba y Ricardo Dubois (Acuacultores de la Península), por la donación de los organismos utilizados en este trabajo.

A la Sra. Virginia Marquéz (P.I.A.S.A.) por la donación de diversos insumos utilizados en la elaboración de los alimentos aquí evaluados.

A mis sinodales Dr. Jorge Fernando Toro, Dr. Alfredo Villalba y I.A. Leticia Vega, por su tiempo invertido en la lectura del presente documento y las observaciones hechas para el mejoramiento del mismo.

A todas aquellas personas; amigos, compañeros y conocidos que me ofrecieron su ayuda desinteresada para la realización de esta tesis.

INDICE

Página

RESUMEN

1. INTRODUCCION

1.1 La acuacultura	1
1.2 El camarón	2
1.3 Sistemas de cultivo	8
1.3.1 Cultivo extensivo	11
1.3.2 Cultivo semi-intensivo	12
1.3.3 Cultivo intensivo	13
1.4 La nutrición acuícola	14
1.5 La langostilla (<u>P. planipes</u>).	17
1.6 Evaluación de alimentos acuícolas	20
1.7 Producción de alimentos acuícolas	25

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo general	30
2.2 Objetivos específicos	30

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Unidades experimentales	31
3.2 Organismos experimentales	33
3.2.1 Ensayo de crecimiento	33
3.2.2 Ensayo de digestibilidad	34

3.3	Monitoreo y condiciones experimentales	35
3.3.1	Ensayo de crecimiento	35
3.3.2	Ensayo de digestibilidad	37
3.4	Análisis químicos	41
3.5	Obtención y preparación de ingredientes	44
3.6	Diseño y elaboración de los alimentos experimentales	46
3.6.1	Diseño de los alimentos	46
3.6.2	Elaboración de los alimentos experimentales	49
3.7	Análisis estadístico de los resultados	52
4.	RESULTADOS	
4.1	Análisis químicos de insumos y de alimentos	
4.1.1	Composición de la harina de langostilla .	53
4.1.2	Composición de las alimentos experimentales	54
4.2	Ensayo de crecimiento	56
4.3	Ensayo de digestibilidad.	61
5.	DISCUSION	
5.1	Composición química de la harina de langostilla y de los alimentos.	67
5.1.1	Harina de langostilla	67
5.1.2	Elaboración de los alimentos.	69
5.2	Ensayo de crecimiento	70
5.3	Ensayo de digestibilidad.	75

6. CONCLUSIONES	82
7. LITERATURA CITADA	84

APENDICE I

1. Determinación de humedad.	99
2. Determinación de proteína total	100
3. Determinación de extracto etéreo.	101
4. Determinación de fibra cruda	104
5. Determinación de energía	106
6. Determinación de cenizas	108
7. Determinación de óxido crómico	110

APENDICE II

Contenido de aminoácidos y ácidos grasos de la langostilla (<u>P. planipes</u>)	112
--	-----

INDICE DE FIGURAS

	Página
Fig. 1 Localización de las granjas camaronícolas y laboratorios productores de post-larvas existentes en México.	3
Fig. 2 Vista lateral del camarón <u>Penaeus</u> sp.	5
Fig. 3 Ciclo de vida de una camarón penéido	7
Fig. 4 Diagrama de una langostilla (<u>P. planipes</u>) de 36 mm de longitud estandar del caparazón	18
Fig. 5 Distribución geográfica de la langostilla (<u>P. planipes</u>) durante un año normal y un año con "El Niño"	19
Fig. 6 Diagrama del sistema de alimentación de agua de las unidades experimentales	32
Fig. 7 Diagrama de flujo seguido en la elaboración de las harinas de langostilla y de cabeza de camarón	45
Fig. 8 Diagrama de flujo seguido en la elaboración de alimento peletizado hundible para camarón	51
Fig. 9 Curva de crecimiento del camarón <u>P. vannamei</u> alimentado con dietas de diferente contenido de H. de langostilla	58
Fig. 10 Tasa de crecimiento del camarón <u>P. vannamei</u> alimentado con dietas de diferente contenido de H. de langostilla	58

Fig. 11	Alimento total consumido por el camarón <u>P. vannamei</u> a los 10, 20 y 30 días de ensayo	59
Fig. 12	Número total de mudas del camarón <u>P. vannamei</u> encontradas a los 10, 20 y 30 días de ensayo	59
Fig. 13	Curva de crecimiento del camarón <u>P. vannamei</u> alimentado con dietas de diferente contenido de harina de langostilla	64
Fig. 14	Tasa de crecimiento del camarón <u>P. vannamei</u> alimentado con dietas de diferente contenido de harina de langostilla	64
Fig. 15	Número total de mudas del camarón <u>P. vannamei</u> a los 45 días de ensayo	65
Fig. 16	Digestibilidad aparente de proteínas y de lípidos de dietas con diferente contenido de harina de langostilla	65
Fig. 17	Relación entre la digestibilidad de proteínas y el % de inclusión de harina de langostilla en la dieta	66
Fig. 18	Relación entre la digestibilidad de lípidos y el % de inclusión de harina de langostilla en la dieta	66

INDICE DE TABLAS

	Página	
Tabla 1	Composición porcentual de las dietas peletizadas utilizadas para el ensayo de crecimiento	47
Tabla 2	Composición porcentual de las dietas peletizadas utilizadas para el ensayo de digestibilidad	48
Tabla 3	Resultados del análisis químico de los insumos utilizados en la elaboración del alimento peletizado para camarón	53
Tabla 4	Resultados del análisis químico de las dietas experimentales utilizadas en los ensayos de crecimiento y de digestibilidad	55
Tabla 5	Resultados del ensayo de crecimiento alimentando dos veces al día a camarones <u>P. vannamei</u> con dietas de diferente contenido de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) durante 30 días con una temperatura del agua de $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y una salinidad de 37 ± 1 partes por mil	57
Tabla 6	Resultados zootécnicos del ensayo de digestibilidad alimentando dos veces al día a camarones <u>P. vannamei</u> con dietas de diferente contenido de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) durante 45 días con una temperatura del agua de $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y una salinidad de 37 ± 1 partes por mil	62
Tabla 7	Resultados de digestibilidad aparente de proteína, lípidos y energía de dietas que contenían diferentes niveles de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) en el camarón blanco (<u>P. vannamei</u>)	63
Tabla 8	Composición de ácidos grasos y aminoácidos presentes en la langostilla	111

R E S U M E N

Conforme se intensifican los sistemas de cultivos acuícolas, el alimento va cobrando una mayor relevancia por el alto porcentaje que representa en el costo de producción. Dentro de los alimentos acuícolas, el nutriente al que se le ha prestado mayor atención es la proteína, debido a su alto costo y al importante papel que juega en el crecimiento de los organismos. De aquí la necesidad de buscar fuentes de proteína más eficientes y de menor costo para la alimentación de los organismos acuáticos.

En la presente investigación se evaluó a la langostilla Pleuroncodes planipes, crustáceo muy abundante en las costas de Baja California, como fuente de proteína para sustituir parcialmente la harina de pescado en alimentos peletizados para camarón blanco (Penaeus vannamei).

Para evaluar la calidad nutritiva de la langostilla, se llevaron a cabo dos estudios por separado; el primero consistió en la determinación de la sobrevivencia, el crecimiento y la conversión alimenticia en juveniles de camarón, mientras que en el segundo, se midió la digestibilidad aparente de las diferentes dietas en el camarón.

Para el ensayo de crecimiento se prepararon cuatro dietas isoprotéicas, isolipídicas e isocalóricas, conteniendo diferentes niveles de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) para alimentar a organismos con un peso inicial de 260 mg.

Después de 30 días de cultivo, la sobrevivencia obtenida con todos los tratamientos fue superior al 97% . La dieta con 15% de harina de langostilla (CIB 15) permitió obtener una tasa de crecimiento (544.89 %) y un número de mudas (95) significativamente mayor ($P < 0.05$) a las otras dietas, mientras que no se observó diferencia significativa entre el control y la dos dietas restantes (CIB 5 y CIB 10). La tasa de conversión alimenticia (T.C.A.) de las cuatro dietas no varió significativamente ($P > 0.05$), sin embargo, la dieta CIB 15 presento el valor más bajo, por lo que fue la mejor.

Las mismas formulaciones usadas en el experimento de crecimiento, pero conteniendo 0.5% de óxido crómico como marcador inerte, fueron utilizadas para determinar la digestibilidad aparente de proteínas, lípidos y energía, en organismos con un peso inicial de 3.32 g de la misma especie.

La digestibilidad aparente de proteínas (D.A.P.) varió de 79.7 a 84%, siendo significativamente mayor ($P < 0.05$) la D.A.P. en los organismos alimentados con la dietas que contenían langostilla. La digestibilidad aparente de lípidos (D.A.L.) varió entre 78.9 y 84.4%, donde la dieta CIB 15 fue significativamente mejor aprovechada que la dieta control. La digestibilidad aparente de energía varió de 90.1 a 90.2% sin encontrarse diferencias significativas entre las cuatro dietas.

Los resultados obtenidos en ambos experimentos nos indican que la harina de langostilla es un excelente sustituto de la harina de pescado (hasta un 15%), ya que no presenta efectos adversos para el desarrollo del camarón, y que por el contrario, favorece la digestibilidad de los nutrientes suministrados, mismo que se traduce en un incremento en la velocidad de crecimiento de los organismos.

1. INTRODUCCION

1.1 La acuicultura

La acuicultura según la define Wheaton (1977), es la producción, procesamiento y mercadeo de organismos biológicos de sistemas acuáticos. Dicha actividad se originó hace más de mil años en el Medio Oriente y en la actualidad se practica en un gran número de países, teniendo como objetivo principal el contribuir a satisfacer las necesidades alimenticias de los habitantes del mundo.

A principios de 1960, dentro del suministro mundial de alimentos, los productos de origen acuático participaban tan sólo con el 3% aproximadamente, del cual sólo el 1% correspondía a la acuicultura (Wortman & Wheaton, 1991). Al recordar que el 71% de la superficie terrestre está cubierta por agua, dicha cifra puede resultar alarmante, aunque esto ha ido cambiando con el tiempo; como ejemplo se puede citar al mercado de Estados Unidos de Norteamérica, principal consumidor a nivel mundial, donde el consumo per capita de productos acuáticos se ha incrementado cerca del 30%, y dentro del cual la acuicultura participa actualmente con el 11% (Rosenberry, 1990).

Dentro de la actividad acuícola podemos encontrar las siguientes divisiones (Ruiz y Tapia, 1991):

- Cultivo de peces.
- Cultivo de moluscos.
- Cultivo de crustáceos.
- Cultivo de reptiles.
- Cultivo de algas (micro y macroscópicas).
- Cultivo de anfibios.

En México existen 2311 granjas de las cuales 427 cultivan bagre, 183 trucha, 111 camarón (Fig. 1) y 77 ostión (Ruiz y Tapia, 1991). Nuestro país cuenta además con 335,000 hectáreas potencialmente disponibles para la camaronicultura [Barrera (1987) citado por Gamez y De La Lanza (1992)].

1.2 El camarón

Entre los cultivos de crustáceos, el camarón es la especie de mayor interés en el mundo (Weidner & Rosenberry, 1992). El camarón presenta una cubierta exterior dura (cutícula) que sirve como exoesqueleto; el crecimiento se lleva a cabo a través de un proceso conocido como muda o écdisis que consiste en el desprendimiento o pérdida del caparazón viejo. El hecho importante que relaciona la muda con el crecimiento es que cuando el animal pierde su viejo esqueleto, inmediatamente comienza a absorber agua y aumenta su volumen, con lo cual la

nueva cutícula se expande. Posteriormente, el volúmen ocupado por el agua es reemplazado por tejidos y en esa forma el camarón crece (Fenucci, 1988). Recién mudado, su nueva cubierta es similar a una membrana suave que se endurece paulatinamente, la cual volverá a perder para continuar creciendo. Mientras la cubierta es aún blanda, el camarón está en su estado más vulnerable e incapacitado para defenderse de otros camarones y peces depredadores (Anónimo, 1991).

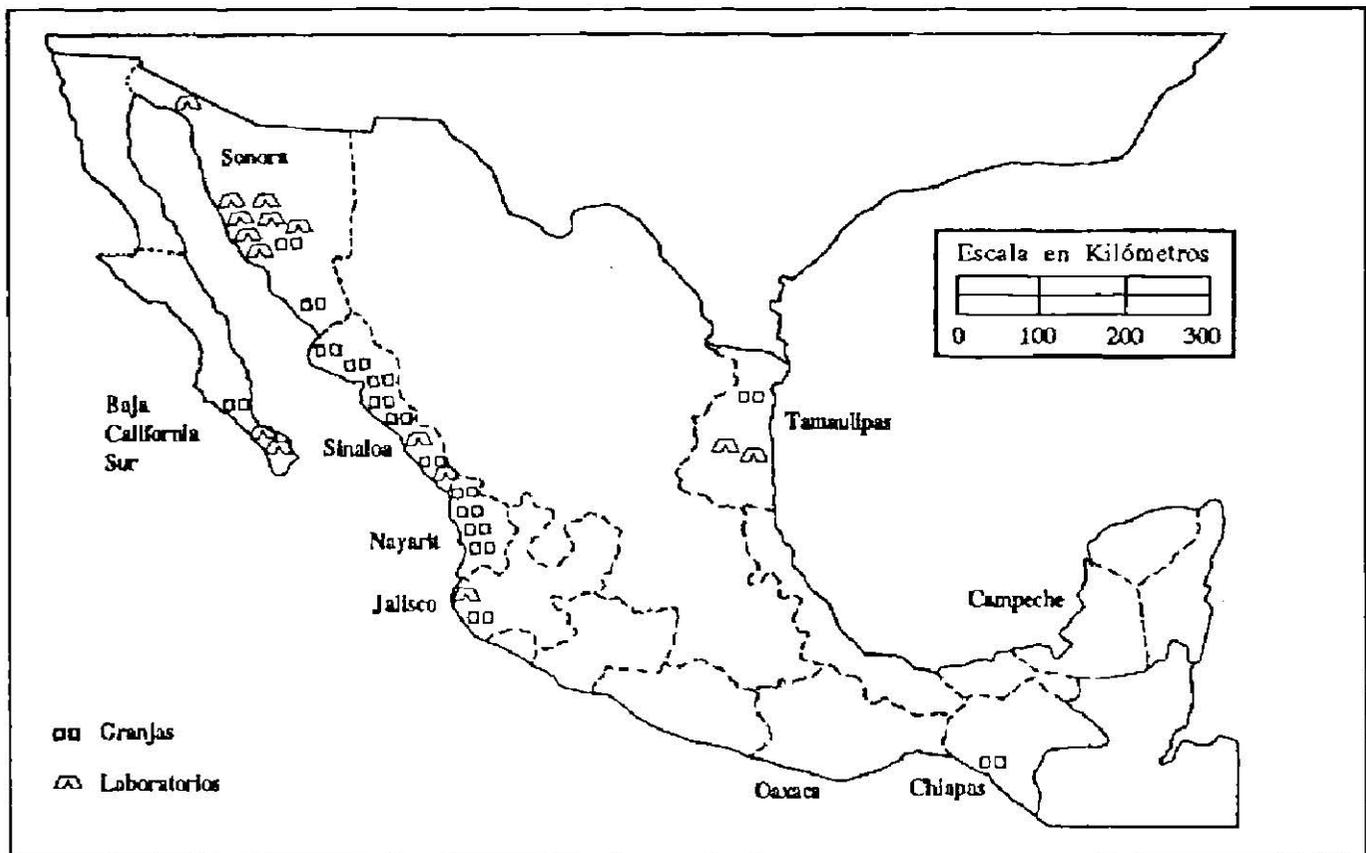


Figura 1 Localización de las granjas camaronícolas y laboratorios productores de post-larvas existentes en México (Gamez y De La Lanza, 1992)

El cuerpo del camarón se puede dividir en tres partes principales (Fig. 2): el cefalotórax (cabeza y tórax), el abdómen o cola, y la parte final que es el telson y los urópodos. En el cefalotórax se encuentran una serie de apéndices: un par de ojos pedunculados, una anténula con dos flagelos, una antena con dos flagelos antenales, una placa antenal, un par de mandíbulas, un par de maxilas, un par de maxilípedos y cinco pares de pereiópodos. En el abdómen se encuentran cinco pares de pleópodos ó apéndices natatorios y en el telson un par de exópodos y un par de endópodos. El exoesqueleto, en la región del cefalotórax tiene espinas y acanaladuras cuya formación y combinación es característica del género (Treece and Yates, 1990; Anónimo, 1991).

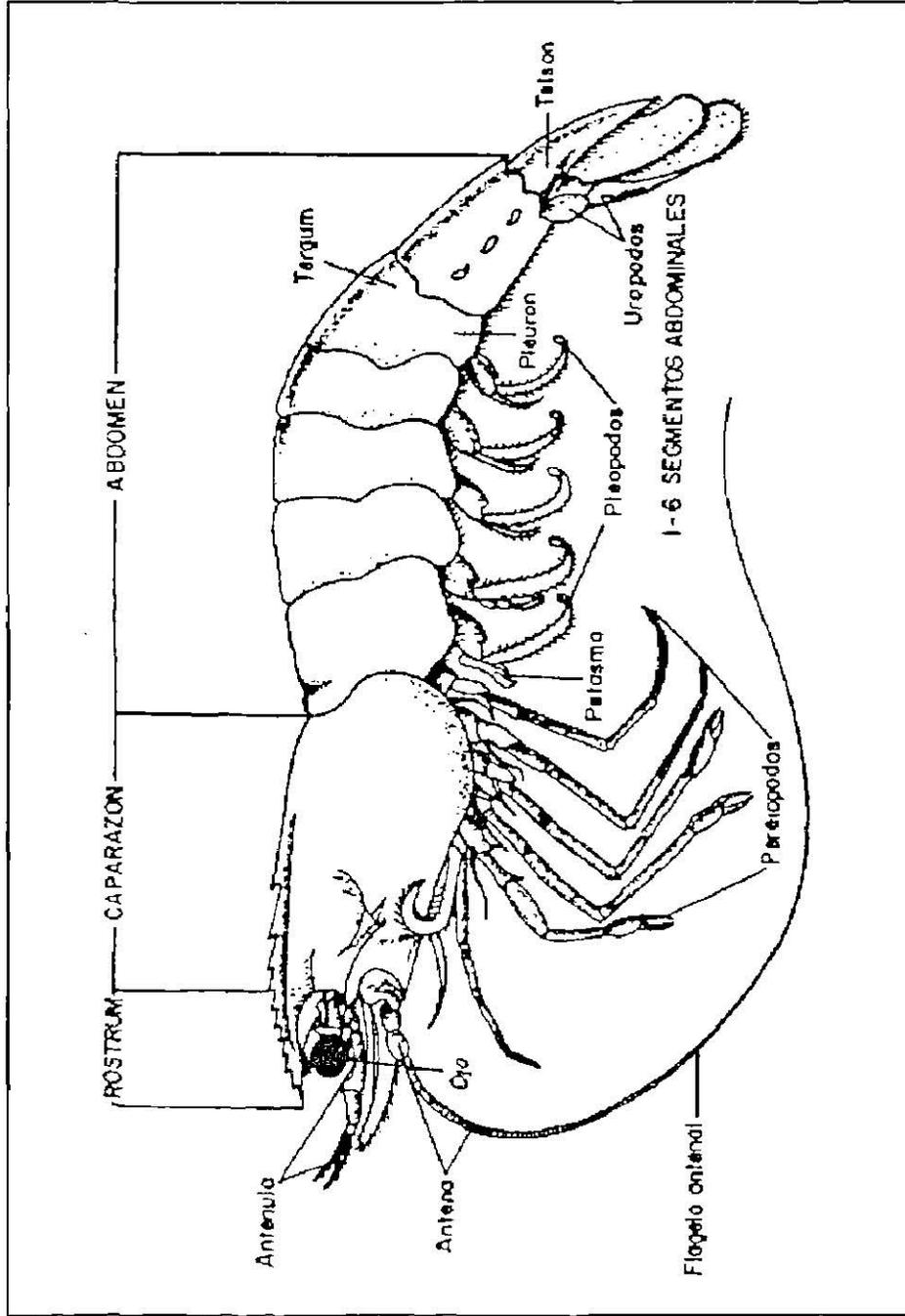


Figura 2. Vista lateral del camarón *Penaeus* sp.
 (Pérez-Farfante, 1988)

Se trata de organismos de vida corta, esto es, de uno a dos años. El proceso reproductivo y desarrollo larvario del camarón ocurre en el mar abierto (Fig. 3). Durante la cópula el macho adhiera un espermátforo a la hembra. Pocas horas después del desove y la fertilización aparece el primer estadio larvario conocido como nauplio, que pasa al estadio zoea y luego al estadio mysis; después de éste, viene la primera post-larva. El desarrollo larvario toma aproximadamente de 13 a 15 días en total. Las post-larvas son planctónicas y viven en las orillas de la costa (Flores-Campaña, 1990). Las post-larvas inician su entrada a las áreas protegidas de las lagunas y estuarios cuando han alcanzado una longitud total entre 5-11 mm dependiendo de la especie. Una vez ahí, el crecimiento de los juveniles es rápido debido a la gran disponibilidad de alimento natural y óptimas condiciones ambientales. Cuando alcanzan los 90-120 mm de longitud total empiezan a moverse fuera de la laguna, para emigrar hacia el océano y continuar su desarrollo y maduración sexual (Flores-Campaña, 1990).

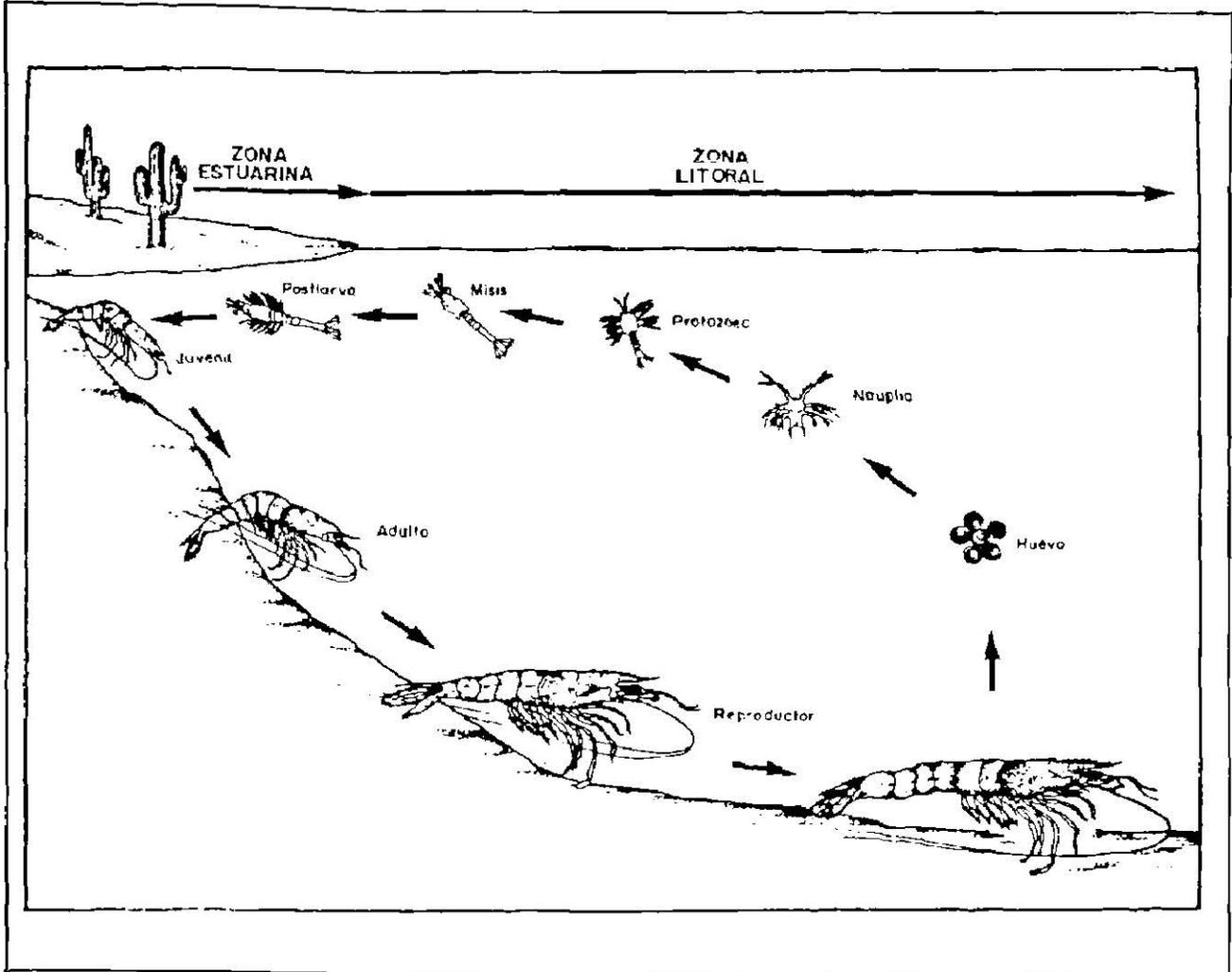


Figura 3. Ciclo de vida de un camarón penéido
(Millán, 1992)

1.3 Sistemas de cultivo.

El cultivo de camarón tiene su origen en el sudeste asiático, donde por varios siglos los granjeros han logrado cosechas incidentales en los estanques de cultivo de peces y en los arrozales situados en la zona de intermareas. Los primeros intentos para alimentar y hacer crecer los camarones en encierros o en tanques fueron realizados en Japón usando alimento natural, principalmente moluscos. En 1970, el Dr. Kanazawa y sus colaboradores formularon una dieta artificial utilizando conocimientos sobre la nutrición de salmónidos, del gusano de seda y de la Artemia, iniciando así el estudio de los requerimientos nutricionales del camarón japonés (Penaeus japonicus). Estos experimentos fueron los primeros en el campo de la nutrición del camarón. Todo esto sirvió como pauta para que la producción de camarón por acuicultura tenga el crecimiento explosivo que tiene actualmente (Akiyama, 1991).

Los camarones tropicales más importantes desde el punto de vista comercial pertenecen al género Penaeus, debido a su gran tamaño y alta demanda en el mercado (Waterman y Chaco, 1960). El cultivo de camarón en México está fundamentado en tres especies: el camarón blanco (Penaeus vannamei), el azul (P. stylirostris) y el camarón café (P. californiensis). En la actualidad, el camarón blanco representa el 90% de la producción, el camarón azul el 8% y el 2% restante lo constituye el camarón café (Lobato, 1990).

El cultivo de camarón, se puede dividir en tres grandes etapas, mismas que coinciden con los diferentes estadios de su ciclo vital, y que consisten en: a) la producción o captura de post-larvas, b) mantenimiento en viveros hasta que llegan al estadio juvenil (pre-engorda) y c) la fase de engorda, la cual se logra reproduciendo en estanques de cultivo, los procesos biológicos naturales del camarón (Gamez y De La Lanza, 1992).

a) Producción o captura de post-larvas: La forma más sencilla de producción de post-larvas consiste en la utilización de criaderos o campos nodriza, cuyo funcionamiento se basa en la captura de post-larvas, que después de desovadas en altamar migran hacia lagunas litorales o estuarios, en los que son retenidas mediante la construcción de tanques rústicos o encierros de grandes dimensiones, manteniendo bajas densidades de organismos y agua no tratada. Las larvas permanecen en este tipo de estanques hasta que alcanzan un mayor desarrollo y son trasladadas a otro estanque rústico. Nuestro país y un buen número de países asiáticos emplean esta forma de cultivo, que resulta muy económica y cuya capacidad de producción oscila entre los tres y cinco millones de post-larvas (Gamez y De La Lanza, 1991).

Los laboratorios representan una forma de producción más sofisticada y consisten en locales cubiertos que permiten conservar condiciones propicias para el apareamiento, gestación, eclosión y desarrollo de camarones seleccionados artificialmente. Comparados con los criaderos, los laboratorios resultan más

costosos y utilizan alta tecnología para producir grandes cantidades de larvas o semillas en ambientes controlados en los que se manejan altas densidades, alimentación artificial, tanques pequeños y una fuente de agua con un alto grado de pureza.

b) Pre-engorda: Fase en la cual las post-larvas son trasladadas a los viveros, se recomienda para aquellas granjas en donde se maneja una alta densidad de siembra, permitiendo que las larvas se adapten durante las etapas más críticas de su desarrollo a las condiciones del medio. En general, se recomienda que los tanques de pre-engorda tengan una superficie del 10 al 12% del área destinada para la engorda. En ellos se manejan densidades de 20 a 60 organismos por metro cuadrado (Gamez y De La Lanza, 1992).

c) Etapa de engorda: Una vez que el camarón llega al estadio de juvenil, pueden transcurrir de 3 a 6 meses para que llegue a la talla comercial. En la fase de engorda se pueden presentar varias modalidades, reconociéndose fundamentalmente tres categorías: el sistema extensivo, el semi-intensivo y el intensivo. Las características que señalan las diferencias entre los distintos sistemas de producción están dadas por: origen de la semilla (post-larva), tamaño de los estanques, densidad de siembra de post-larva, tasa o porcentaje de recambio de agua en estanques, nivel de suplementación de alimento y control de parámetros físico-químicos del agua. Todos estos factores se interrelacionan entre sí y el mayor o menor control de uno u

otro define el sistema de producción (Gamez y De La Lanza, 1992).

1.3.1 Cultivo de tipo extensivo: El cultivo extensivo de camarón (baja densidad) se lleva a cabo en los trópicos, en zonas de bajo nivel a lo largo de las bahías y ríos de marea. Los estanques varían en tamaño, desde unas pocas hectáreas hasta más de cien. Cuando se conoce o se sabe que en las aguas locales se tiene una alta densidad de juveniles de camarón, los granjeros abren las puertas de los estanques dejando entrar al camarón silvestre, en donde se desarrollan hasta su madurez. Los pescadores en ocasiones capturan camarón silvestre, el cual venden a las granjas de cultivo extensivo para su cultivo. Las densidades de siembra son bajas, alrededor de 25,000 juveniles por hectárea. Las mareas proveen un recambio de agua de alrededor de 5 a 10% por día. El camarón se alimenta exclusivamente del alimento natural existente en el estanque, aunque se puede enriquecer la producción natural por medio de fertilizantes inorgánicos u orgánicos. Los rendimientos, así como los costos de producción son bajos. Las atarrayas y trampas de bambú producen cosechas de 50 a 500 kgs. de camarón entero por hectárea al año. Los costos de producción varían de \$1.00 a \$3.00 dólares por kilogramo de camarón vivo (Weidner and Rosenberry, 1992). Las tallas de cosecha que se producen en este sistema son de 36/40 y 41/50 camarones por libra [Anónimo (1991), citado por Gamez y De La Lanza (1992)].

1.3.2 Cultivo de tipo semi-intensivo: Usualmente se llevan a cabo sobre la línea de mareas altas. El cultivo semi-intensivo introduce una fase de crianza, un diseño cuidadoso del estanque (2-25 hectáreas), alimentadores y sistema de bombeo. Las bombas efectúan un recambio del 10 al 20% de agua diario. Los costos de construcción varían de \$15,000 a \$20,000 dólares por hectárea. Los juveniles silvestres o de criadero son almacenados a altas densidades en estanques de crianza, hasta que son lo suficientemente grandes para ser almacenados a baja densidad en estanques de engorda o crecimiento. Los índices de siembra que se manejan van de 25,000 a 200,000 juveniles por hectárea. El granjero cosecha con red, bajando el nivel del estanque. Los costos de producción varían de \$3.00 a \$5.00 dólares/ Kg de camarón vivo. Los granjeros usualmente secan y limpian sus estanques entre cosechas. Los valores de producción registrados para este sistema de cultivo oscilan entre 500 y 5,000 kg, de camarón entero por hectárea por año (Rosenberry, 1990), aunque en algunos casos estos valores pueden ser superiores. El tamaño de los camarones cosechados oscila entre 41/50 por libra (Gamez y De La Lanza, 1992).

1.3.3 Cultivo de tipo intensivo: Este tipo de cultivo introduce pequeños encierros (0.1 a 5 hectáreas) y altas densidades de población (más de 200,000 juveniles por hectárea). Requiere de un cuidado intensivo o minucioso, fuerte alimentación, remoción de basura y aireación. La aireación (la adición de aire u oxígeno en el agua) permite densidades y niveles de alimentación mucho más altos. El recambio de agua es de 30% o más diario. Frecuentemente se lleva a cabo en estanques pequeños, también se practica en estanques de corriente rápida y en tanques de concreto, los cuales pueden estar cubiertos o bajo techo. Los costos de construcción varían de \$25,000 a \$100,000 dólares por hectárea. Las técnicas sofisticadas de cosecha permiten una producción casi constante, y la limpieza del estanque es más rápida y fácil que en el caso de granjas de tipo semi-intensivo (Rosenberry, 1990). Los registros de producción bajo este sistema van de 6 a 26 toneladas métricas por hectárea por cosecha y se pueden lograr hasta tres cosechas al año, dependiendo de la ubicación geográfica de las granjas (Gamez y De La Lanza, 1992). Los costos de producción varían de \$5.00 a \$7.00 dólares/kg de camarón vivo (Rosenberry, 1990). En un sistema de cría intensivo se deben multiplicar los controles del medio y de la población para poder asegurar una producción confiable de tipo industrial.

El objetivo principal, en la gran mayoría de los casos, de la actividad acuícola es el crecimiento y engorda de un organismo (Vergara y Garza, 1988), en donde el crecimiento está en función no sólo de la especie, sino del potencial genético del organismo en particular, del medio ambiente natural, de las condiciones de cultivo y de la alimentación (Anónimo, 1991).

En la actualidad se están desarrollando a nivel mundial granjas de **cultivo hiper-intensivo**, con recambio de agua del 300 al 400% diario, densidades de siembra de 80-100 camarones/m² (Flores-Campaña, 1990). La calidad del alimento debe ser excelente y formulado especialmente para las distintas etapas de desarrollo del camarón (Gamez y De La Lanza, 1992). Con este sistema se pueden llegar a producir de 10 a 100 toneladas por hectárea por año (Weidner and Rosenberry, 1992).

1.4 La nutrición acuícola

La nutrición abarca los procesos químicos y fisiológicos por medio de los cuales un animal se provee de nutrientes para su metabolismo basal, mantenimiento, crecimiento y reproducción. Por lo tanto involucra la ingestión, la digestión, la absorción y el transporte de nutrientes, así como la remoción de productos de desecho (Akiyama and Dominy, 1989). La nutrición es uno de los factores más importantes para la acuicultura ya que conforme se intensifica el sistema de cultivo, va cobrando mayor

relevancia la calidad y la cantidad del alimento suministrado. La alimentación puede llegar a representar hasta $\frac{2}{3}$ partes de los costos variables de la producción de las granjas, por lo que un óptimo aprovechamiento de este factor permitirá elevar la eficiencia de la producción. La futura expansión de la acuacultura puede depender en primer lugar de los sistemas de alimentación suplementaria.

Entre los ingredientes más comunmente usados en la elaboración de dietas balanceadas para camarón se encuentran, entre otras, las harinas de pescado, calamar, cabeza de camarón, soya, trigo, maíz, sorgo, y diversas levaduras (New, 1987). En la actualidad existe un decremento en el suministro y un incremento en el costo de las proteínas de origen animal y vegetal.

Un ejemplo de lo anterior son las harinas de pescado (fuentes de proteína que generalmente se utilizan en un mayor porcentaje en las dietas para organismos acuáticos), en donde, la captura mundial de pescado para la producción de harinas está cercana al máximo rendimiento que es posible sostener sin reducir significativamente la población de peces, y sin embargo, la demanda de dichos productos sobrepasa ampliamente la oferta.

La acuacultura consume casi un 10% de la producción mundial de harina de pescado, la cual promedia aproximadamente 6'000,000 toneladas métricas por año (Barlow, 1989). Dicha situación hace necesaria la exploración de nuevas fuentes de proteína, nutritivas y económicas.

Existen un gran número de ingredientes alternativos prometedores, como ejemplos se puede citar la utilización de la grilleta (Pterophylla beltrani) como sustituto de la harina de pescado (Cruz et al., 1990); Tinsley et al. (1984) evaluaron el uso de la mosca doméstica (Musca domestica); García y Jaime (1990) trabajaron con la lombriz de tierra (Eudrilus eugeniae) como ingredientes en alimento para post-larvas, entre otros muchos.

Experimentos realizados recientemente en la División de Biología Marina del Centro de Investigaciones Biológicas, A.C., han demostrado que la harina de langostilla (Pleuroncodes planipes) puede ser incluida con éxito en las dietas para camarón café (Penaeus californiensis) como sustituto parcial de las harinas de soya, pescado y camarón. Van Olst et al. (1975) usaron la harina de langostilla como alimento único y como complemento de una dieta comercial en ensayos de crecimiento con juveniles de la langosta (Homarus americanus).

1.5 La langostilla (Pleuroncodes planipes, Stimpson)

La langostilla (Pleuroncodes planipes) es un crustáceo de la familia Galatheidae (Fig. 4), que en ocasiones llega a representar hasta el 70% de la fauna de acompañamiento en la pesquería de camarón en Baja California. Dicho recurso marino se encuentra distribuido entre Cabo San Lucas y Bahía Sebastián Vizcaíno, en el Pacífico de Baja California (Fig. 5). Cálculos conservadores estiman una abundancia de 205,000 toneladas (Ehrarhdt and Ramirez, 1982), pero estudios realizados en el CIB permiten suponer que puede existir hasta un orden de magnitud mayor (Aurióles, 1992).

La composición proximal de la langostilla es: 77% humedad, 11% proteína, 2.5% lípidos, 6% de cenizas y 5% de quitina (Kato, 1974). Su contenido de carotenoides es elevado (13 μg por 100 gr de materia fresca) y los aminoácidos presentes son adecuados para la alimentación humana (Borgstrom, 1961). Gallardo (1975) llevó a cabo un estudio sobre el uso de concentrados protéicos de langostilla dirigidos al consumo humano y animal. Sin embargo, dicho recurso no se ha destinado al consumo humano debido al reducido tamaño del músculo abdominal, por lo que sólo ha sido empleado como fuente de pigmentos en dietas para algunos organismos acuáticos y tiene un gran potencial dentro del cultivo de salmónidos (Spinelli y Mahnken, 1978) y langosta (Van Olst et al., 1976). Debido a su gran actividad enzimática, la langostilla (García-Carreño, 1992), puede ser utilizada también

como una fuente potencial de enzimas de interés para procesos biotecnológicos.

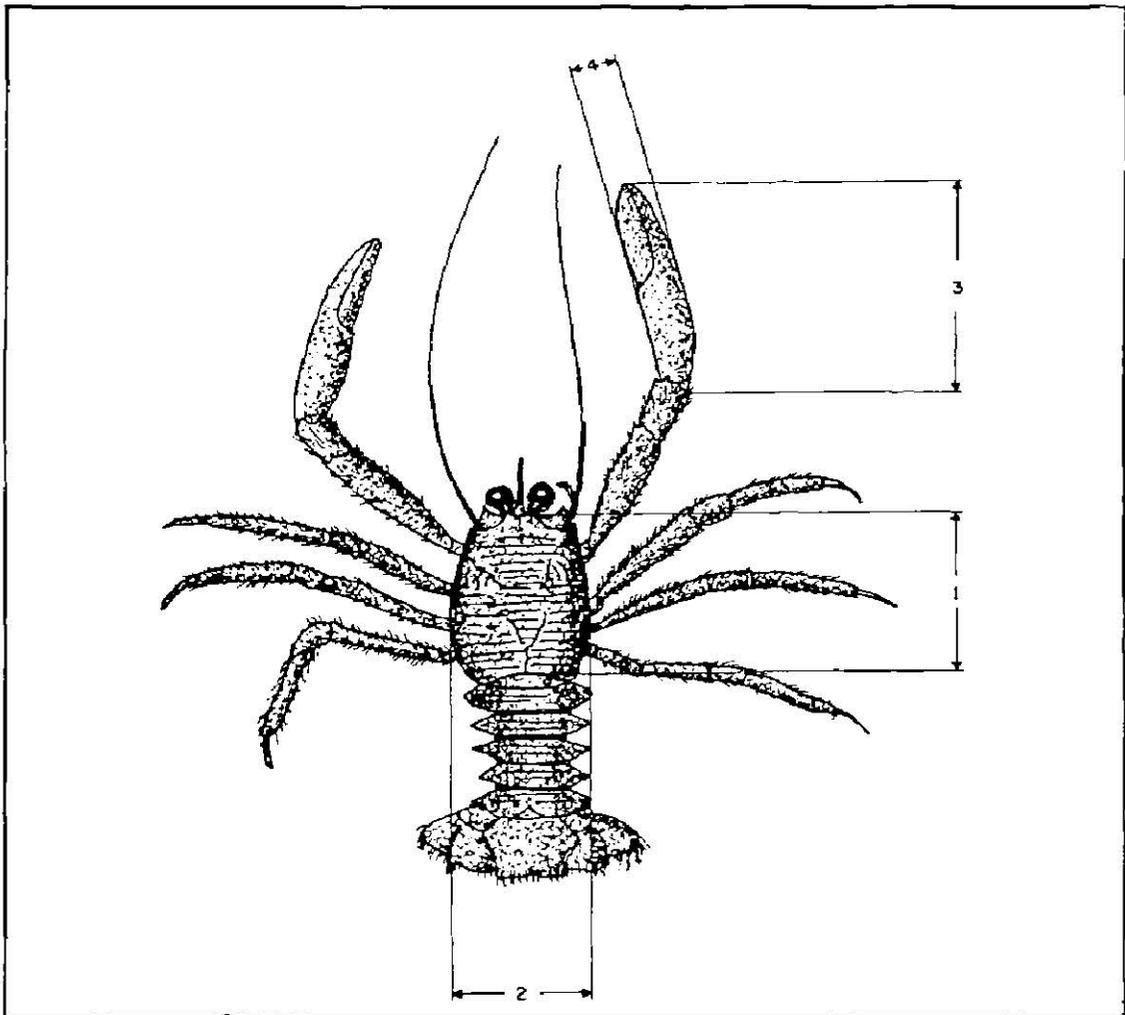


Figura 4. Diagrama de una langostilla (Pleuroncodes planipes)

de 36 mm de longitud estandar del caparazón.

1, longitud estandar del caparazón; 2, anchura del caparazón; 3, longitud de la quela; 4, anchura de la quela.

(Tomada de Serrano y Aurióles, 1992)

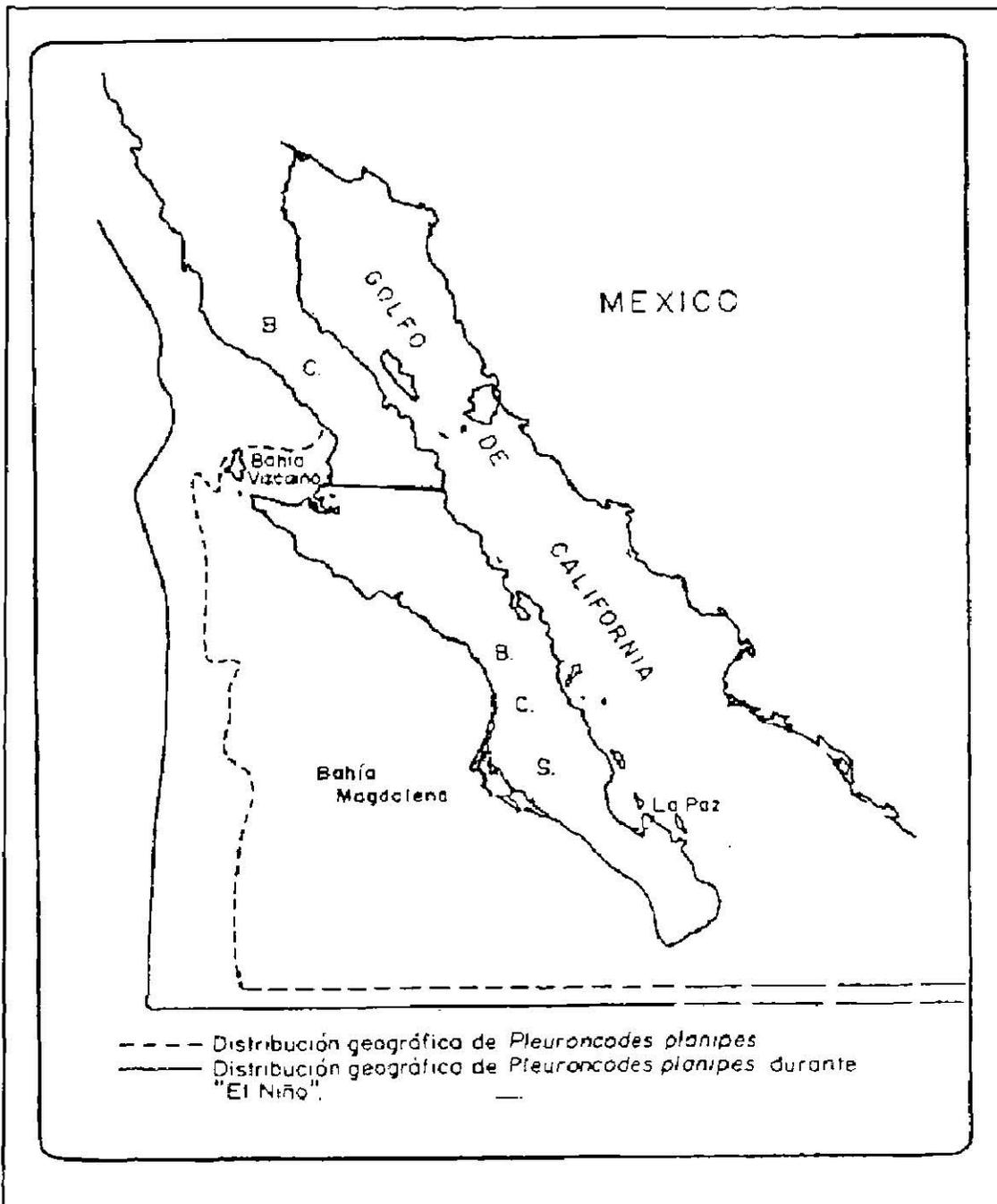


Figura 5. Distribución geográfica de la langostilla *Pleuroncodes planipes* durante un año normal y un año con "El Niño".

(Adaptado de: Kato, 1974; Anónimo, 1988)

1.6 Evaluación de los alimentos

Como se mencionó con anterioridad, a medida que se intensifican los cultivos de organismos acuáticos, la disponibilidad de alimentos naturales es menor y se crea la necesidad de satisfacer sus requerimientos nutritivos con alimentos balanceados de alta calidad. Para cumplir con dicho objetivo, la calidad de los ingredientes juega un papel determinante y debe ser estrictamente vigilada, por lo que es recomendable determinar las características de los ingredientes, tales como:

- a) Composición química: análisis proximal, contenido en aminoácidos y ácidos grasos, calcio, fósforo y energía total.
- b) Toxicidad: análisis de pesticidas, metales pesados, etc.
- c) Disponibilidad y costo.
- d) Capacidad de promover crecimiento mediante pruebas de crecimiento.
- e) Capacidad de proveer energía y proteína para formación de nuevos tejidos, por medio de pruebas de eficiencia de asimilación.

La forma más común para evaluar la calidad nutricional de los ingredientes o los alimentos acuícolas consiste en determinar la tasa de crecimiento (incremento en peso y/o longitud producida en un tiempo determinado), la tasa de conversión alimenticia y la sobrevivencia promovidos por las diferentes dietas. Estos ensayos deben incluir por lo menos un

control o dieta de referencia y deben realizarse bajo condiciones ambientales controladas.

Debido a que se trabaja con organismos vivos que requieren de ciertas condiciones para su desarrollo, es importante tomar en cuenta la especie, la edad, el estado fisiológico y el origen de los animales, así como las condiciones de cultivo, el diseño experimental y la composición, calidad y procesamiento de los alimentos, ya que todos estos factores influyen directamente en el resultado de la investigación.

En los experimentos a nivel laboratorio, el incremento en peso y la sobrevivencia manejados en porcentaje, son buenos índices de la calidad de un alimento. Existen estándares de calidad general que se pueden tomar en cuenta para ayudar a estimar la confiabilidad de los resultados de una investigación y para evaluar los ingredientes y las dietas. Algunos de estos son: las tasas de sobrevivencia y de crecimiento, mismas que no deben ser inferiores al 85% (New 1987; Akiyama, 1992).

Otro criterio utilizado es el factor de conversión alimenticia (F.C.A.), el cual nos indica la relación entre el alimento consumido y el peso ganado por el organismo, esto es, la cantidad de alimento en gramos que necesita consumir el organismo para incrementar en un gramo su peso, por lo que si el F.C.A. es alto, el manejo y/o la calidad del alimento es pobre. Una mala calidad del alimento está probablemente relacionada con la calidad de los ingredientes o las características físicas del alimento. Un valor aceptable de F.C.A. puede variar según la

especie acuática estudiada y el método de cultivo, pero generalmente no debe exceder de 2 (Akiyama, 1991).

Como se mencionó antes, existen varios parámetros que influyen directamente en el resultado del experimento, por lo que Cruz-Suárez (1989) define las siguientes condiciones de un bioensayo.

a) Condiciones experimentales: Cuando se está evaluando la calidad de un alimento resulta indispensable que las condiciones ambientales sean iguales y constantes en cada una de las unidades experimentales (acuarios) y que, de existir algún efecto sobre los organismos, éste pueda ser atribuido al alimento.

Para lograr una uniformidad en las condiciones experimentales es necesario contar con:

- 1) Circuito de abastecimiento de agua en cada unidad experimental.
- 2) Calidad físico-química del agua lo más constante posible.

El agua debe de ser filtrada por lo menos a través de un filtro de arena para evitar la entrada de organismos que puedan competir por el alimento, o bien que sirvan como complemento alimenticio de los organismos experimentales.

La temperatura del agua debe de ser controlada según lo requiera la especie estudiada. La tasa de oxígeno debe ser próxima a la saturación y nunca estar por debajo de 3 partes por mil (ppm).

3) Las unidades experimentales deben estar construídas del mismo tamaño, forma y material, así como diseñadas en función del tamaño y comportamiento de los organismos experimentales.

4) Las condiciones ambientales bajo las cuales se encuentre la infraestructura de experimentación (laboratorio de cultivos) deberán ser uniformes para cada una de las unidades experimentales. De preferencia hay que controlar la iluminación (fotoperíodo) y amortiguar las variaciones en las condiciones meteorológicas.

b) Animales: Es necesario tener conocimiento sobre el origen y la historia de los organismos a utilizar en la evaluación, por lo que resulta conveniente trabajar con poblaciones homogéneas provenientes no sólo del mismo lugar, sino de una misma hembra. Es recomendable no trabajar con organismos que ya hayan sido utilizados en experimentos previos. Cuando esto sucede hay que dejar a los animales en condiciones de re-aclimatación un tiempo determinado, con el fin de eliminar efectos de larga duración que puedan quedar del experimento anterior.

Debido a que pocos nutrientes son utilizados en la forma en la cual son incorporados en la dieta, un análisis químico puede darnos tan sólo una indicación de la composición del alimento, pero no determina la disponibilidad de los nutrientes que contiene. El conocimiento de la eficiencia de asimilación (digestión y absorción de nutrientes) en adición a la información de crecimiento, sobrevivencia, índice de conversión

y análisis químico proximal, puede ayudar en el desarrollo de alimentos para el cultivo de camarón (Smith et al. 1983). La digestión envuelve los mecanismos de ruptura, solubilización y absorción de nutrientes. El perfil nutritivo de un ingrediente puede parecer bueno, pero si estos nutrientes no son digeridos, absorbidos y utilizados, entonces son de poco valor para el animal. La información de digestibilidad es esencial en la evaluación de la calidad nutricional de un ingrediente (Akiyama and Dominy, 1989).

Existen varios métodos para la medición rutinaria de los coeficientes de digestibilidad in vivo, estos son: la colecta total de heces fecales (método directo) y el uso de marcadores (método indirecto). Ambos métodos requieren de la colecta y análisis químico de los alimentos y del material fecal. En el caso de los organismos acuáticos, la medición de la asimilación de los componentes de los alimentos es una tarea difícil de determinar por el método directo, debido a la imposibilidad de cuantificar con precisión la ingestión del alimento y la defecación. El uso de indicadores no digeribles (comunmente óxido crómico, Cr_2O_3) incrementa el trabajo analítico, pero elimina la necesidad de coleccionar la totalidad del material fecal (Shneider & Flatt, 1975).

El coeficiente de utilización digestiva aparente (CUDA) de un nutriente es medido por la diferencia (expresada en porcentaje) entre el nutriente ingerido y el nutriente recobrado en las heces fecales (Spyridakis et al., 1989). La

digestibilidad aparente de materia seca, proteína, lípidos, carbohidratos y minerales en dietas balanceadas para diversas especies de camarón han sido determinadas utilizando un método indirecto con Cr_2O_3 como marcador inerte (Nose, 1964; Lee, 1970; Forster & Gabott, 1971; Colvin, 1976; Fenucci et al., 1982; Teshima & Kanazawa, 1983; Smith et al., 1985; Catacutan, 1991).

1.7 Producción de alimentos

El proceso de elaboración de alimentos determina las características físicas de los alimentos (estabilidad en el agua, textura, tamaño, etc.) e influye en las características químicas como la palatabilidad y la disponibilidad de nutrientes (Tan, 1991).

Los alimentos acuícolas se dividen básicamente en dos grupos: Alimentos secos y alimentos no-secos (New, 1987).

Los alimentos secos son normalmente hechos a partir de ingredientes secos, pero también pueden elaborarse a partir de ingredientes húmedos o mezclas de ingredientes secos y húmedos, pero desecados previamente. Los alimentos secos no están completamente libres de humedad, ya que usualmente ésta se encuentra entre 7 y 13%, dependiendo del medio ambiente.

Los alimentos no-secos se dividen en dos categorías principales: húmedos y semi-húmedos. No existe una línea de demarcación muy clara entre ellos, pero New (1987) los define de la siguiente manera:

Los alimentos húmedos son aquellos elaborados entera o casi enteramente a partir de ingredientes muy húmedos, como son desechos de pescado, productos de desperdicio de mataderos, forraje fresco, etc., y como aquellos que contienen entre 45 y 70% de agua.

Los alimentos semi-húmedos son hechos a partir de mezclas de ingredientes húmedos y secos, o de ingredientes secos a los cuales se les adiciona o eleva el contenido de humedad. Usualmente su humedad varía de 18 a 45%.

Dependiendo del proceso empleado, los alimentos se pueden producir para que se hundan rápidamente hasta el fondo del estanque (tipo de alimento más común) o pueden ser manufacturados con el fin de obtener alimentos flotantes. Estos alimentos flotantes tienen la ventaja, para aquellos organismos que lo ingieren, de facilitar la tarea de cuantificar el alimento consumido. Los camarones aceptan este tipo de alimento flotante, en los estadios larvarios o de post-larva, los cuales tienen hábitos pelágicos, esto es, que la mayor parte del tiempo se encuentran en la columna de agua. Sin embargo, los juveniles y los adultos requieren de alimentos hundibles puesto que sus hábitos son bentónicos.

Una vez seleccionadas las características físicas que debe de tener el alimento, se procede a su formulación, la cual debe de cumplir con los requerimientos nutricionales de la especie en cuestión.

Ya formulado el alimento y pesado las materias primas, se continua con la molienda, proceso fundamental en la elaboración de un alimento de calidad (Botting, 1992). Gracias a esto se logra uniformizar el tamaño de partícula de los diversos ingredientes, se facilita y eficienta los procesos posteriores, y sobre todo, se mejora la consistencia final del producto.

El siguiente paso a seguir en la elaboración de un alimento balanceado es el mezclado de los ingredientes. El mezclado es un paso importante ya que de éste depende en gran medida la perfecta distribución de todos los nutrientes en el alimento, evitándose la posible selección del organismo de algún pelet en específico, en cuyo caso los resultados de la evaluación serían incorrectos.

Una vez que se han mezclado perfectamente todos los insumos se procede a agregar agua. La presencia de humedad ayuda, entre otras cosas, en la gelatinización de almidones (Kearns, 1990). Es importante agregar la cantidad correcta de agua ya que ésta influye directamente en la calidad del producto final. Por ejemplo, niveles bajos de humedad provocan una baja aceptación del alimento, pérdida de vitaminas y destrucción de algunos aminoácidos. Kearns (1990) menciona que el contenido óptimo de humedad de la mezcla de ingredientes para alimentos extruídos debe de ser alrededor de 27%, ya que por debajo de este valor, el costo de operación del extrusor se incrementa exponencialmente y se nivela a partir de esa cifra.

Los alimentos se pueden obtener por tres procesos: peletizado clásico con o sin vapor, peletizado húmedo y extrusión-cocción. La formulación que permite la mejor estabilidad en el agua no es la misma para todos los procesos. En el peletizado clásico, donde la estabilidad es más difícil de obtener, deben utilizarse aglutinantes especiales que pueden o no tener valor nutricional (Cruz-Suárez, 1991). En el peletizado húmedo se requiere generalmente de la incorporación de gluten de trigo. Para la extrusión-cocción la estabilidad puede ser obtenida por texturización de proteínas o por la gelatinización de almidones.

La producción de alimentos balanceados para acuicultura ha registrado progresos importantes en los últimos años, debido a la tendencia actual de los acuacultores a intensificar sus sistemas de cultivo generando con esto una mayor demanda de alimento balanceado. Sin embargo el procesador de alimento balanceado está enfrentando el problema de una escasez y una variabilidad enorme en la calidad nutricional de los insumos necesarios para la elaboración de alimentos de calidad nutritiva, y presentando esto a su vez un gran problema a los acuacultores, quienes enfrentan el problema de una variabilidad en la calidad nutricional de los alimentos, factor esencial para su eficiencia.

Dicha situación hace necesario la exploración de nuevos insumos que vengán a satisfacer estas necesidades (nutricional y escasez). Debido a la abundancia y a la falta de explotación con que cuenta la langostilla (P. planipes) y al importante papel que desempeña el camarón blanco (Penaeus vannamei) en la acuicultura, sobre todo en la del continente Americano, es importante estudiar qué efecto puede tener la utilización de la langostilla como insumo no convencional en la elaboración de dietas balanceadas para éste organismo, así como también tratar de encontrar un nivel óptimo de inclusión de manera tal que favorezca su crecimiento.

Para lograrlo nos planteamos los siguientes objetivos:

2. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el valor nutricional de la harina de langostilla como insumo protéico en alimentos para camarón.

Objetivos específicos

- 1) Medir el crecimiento de juveniles del camarón blanco (Penaeus vannamei), alimentados con diversos niveles de inclusión de harina de langostilla.
- 2) Determinar la digestibilidad aparente in vivo, de dietas experimentales a base de langostilla.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Unidades experimentales

El presente trabajo fue realizado en las instalaciones del bioterio de la División de Biología Experimental del Centro de Investigaciones Biológicas de Baja California Sur, A.C.

Se utilizaron doce acuarios de concreto de 60 lt (0.58 X 0.42 X 0.25 m) con vista frontal de cristal, en los cuales se llevaron a cabo dos experimentos (crecimiento y digestibilidad). El sistema de alimentación de agua (Fig. 6) consistió en un pozo⁽¹⁾, alimentado con agua de mar que pasa a través de un filtro de cama de arena. El agua es impulsada con una bomba de $\frac{3}{4}$ HP⁽²⁾ hacia un aljibe⁽³⁾ con capacidad de 1.5 m³, donde es posible hacer mezcla de aguas (dulce y salada) con el fin de obtener la salinidad deseada. Del aljibe se bombea el agua, pasando por un filtro de cartucho⁽⁴⁾ de 10 μ , hacia un tinaco⁽⁵⁾ de 1 m³, para después ser descargada por gravedad hacia los distintos acuarios⁽⁶⁾, pasando antes por un filtro de luz ultravioleta⁽⁷⁾ (Aquafine^{MR}, mod. PVCL-1).

Cada uno de los acuarios cuenta con tubos de alimentación y de drenaje para mantener un flujo de agua continuo. El agua del sistema se mantuvo a temperatura constante con calentadores sumergibles de 250 W y se oxigenó a través de piedras difusoras alimentadas por un soplador de $\frac{1}{8}$ HP. El fotoperíodo fue controlado con un reloj automático y focos de 25 watts para mantener 12 horas de iluminación por 12 horas de oscuridad.

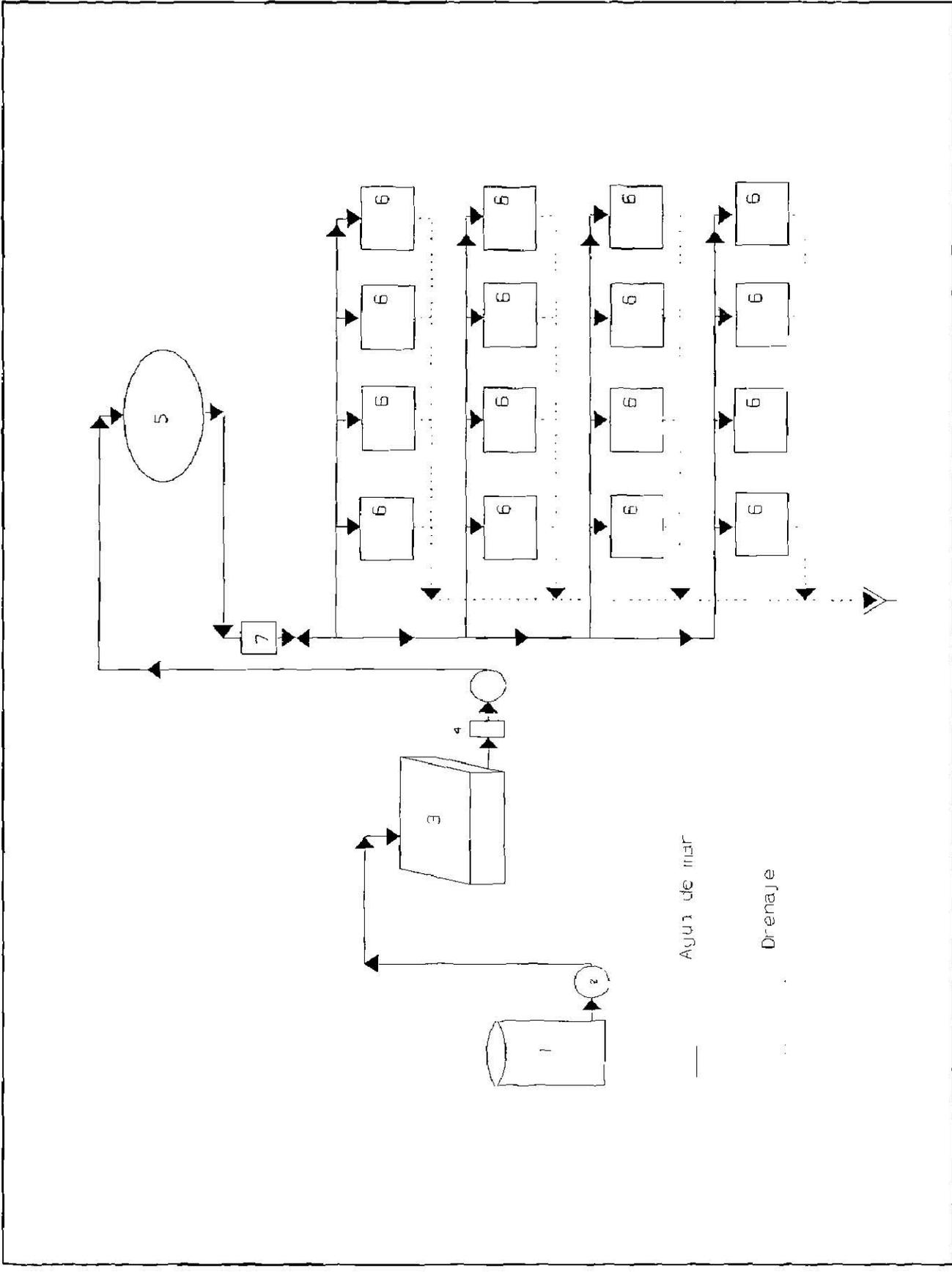


Figura 6. Diagrama del sistema de alimentación de agua de las unidades experimentales

3.2 Organismos experimentales:

3.2.1 Ensayo de crecimiento

Dos mil quinientas post-larvas de treinta días (PL 30) de la especie Penaeus vannamei fueron obtenidas del laboratorio de producción larvaria de una granja comercial (Sociedad Cooperativa de Acuacultores de la Península de La Paz, B.C.S.). Durante 40 días se les alimentó con una combinación calamar fresco/pelet comercial (PIASA 40) y nauplios de Artemia vivos/pelet comercial (PIASA 40), alternando un día cada una de ellas. De éste período de tiempo, 26 días se les mantuvo en cuatro contenedores (taras) de plástico (0.7 X 0.4 X 0.35 m), y al llegar al día 27 se distribuyeron en dos taras más, con el fin de disminuir el posible estres provocado por una alta densidad. Este período sirvió para que los organismos se aclimataran a las condiciones existentes en el laboratorio y crecieran hasta alcanzar el peso deseado.

Posteriormente se procedió a pesar los organismos, secando cuidadosamente a cada organismo con la ayuda de papel absorbente antes de pesarlo, seleccionando 180 juveniles con un peso promedio individual aproximado de $0.260 \pm 0.02g$ que se distribuyeron aleatoriamente a razón de 15 camarones por cada uno de los acuarios de concreto (densidad equivalente a 62.5 organismos por metro cuadrado).

3.2.2 Ensayo de digestibilidad

Trescientos juveniles de camarón blanco (Penaeus vannamei) fueron capturados de un estanque de engorda de la granja de la Sociedad Cooperativa de Acuacultores de la Península en La Paz B.C.S.

Los organismos se matuvieron en taras de plástico (0.7 X 0.4 X 0.35 m) durante cuatro días antes de empezar el experimento, alimentándolos con una dieta comercial (PIASA 40). Al quinto día, los camarones fueron pesados individualmente, secándolos antes con papel absorbente para eliminar en lo posible el exceso de humedad, y seleccionándose 120 organismos con un peso promedio aproximado de $3.32 \pm 0.01\text{g}$. Estos se distribuyeron al azar en doce acuarios, a razón de diez camarones por acuario (densidad equivalente a 41.6 organismos por metro cuadrado) y se alimentaron con la dieta control. Al siguiente día (segundo día del experimento) se les suministró la dieta correspondiente a cada uno de los acuarios. La colecta de heces fecales se empezó hasta el séptimo día experimental, esto con el fin de asegurar que las muestras fecales fueran producto de los alimentos experimentales (con óxido crómico).

3.3 Monitoreo y condiciones experimentales

3.3.1 Ensayo de crecimiento

Durante los treinta días experimentales se monitorearon la temperatura, la salinidad (con la ayuda de un salinómetro YSI^{MR} modelo 33), y se cuantificaron el número de mudas, el número de muertos y la cantidad de alimento residual.

El primer día del experimento se les suministró el alimento experimental a un 10% del total de la biomasa y a partir del segundo día, se corrigió dicha cantidad tomando como base la estimación aparente (visual) del alimento residual. La alimentación fue ad libitum, dosificada en dos raciones al día (09:00 y 14:00 hrs). La temperatura promedio se mantuvo a $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y la salinidad a 37 ± 0.5 partes por mil. Una vez hecho lo anterior se procedió a retirar los detritos, como exoesqueletos provenientes de mudas, heces, alimento no consumido, etc., los cuales se acumulan en el fondo del acuario mermando la calidad del agua, por lo que es necesario remover el sedimento por medio de sifoneo. El fotoperíodo se mantuvo a 12 h de luz (06:00 a 18:00 h) y 12 h de oscuridad.

La cuantificación de alimento residual en ambientes acuáticos resulta sumamente problemática ya que al tratar de recuperar el material sólido, la fricción ejercida sobre el mismo provoca pérdidas en el agua y además es una operación que lleva mucho tiempo, por lo que para los presentes ensayos se

llevó a cabo una estimación visual utilizando como patrón de referencia cantidades conocidas de alimento en pequeñas bolsas de plástico. Si bien dicho método no es muy preciso, nos permite tener una estimación del alimento aparentemente consumido por los organismos.

Para el cálculo de los diferentes parámetros de evaluación se utilizaron las siguientes fórmulas:

$$\text{Tasa de Crecimiento} = \frac{\text{Peso final} - \text{Peso inicial}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

El factor de conversión alimenticia (F.C.A.) fue corregido en función de la mortalidad observada, de acuerdo a Kitabayashi et al. (1971):

$$\text{F.C.A} = \frac{\text{Alimento total consumido (g)}}{\text{Peso total final} + \frac{1}{2}(\text{peso promedio final} + \text{peso promedio inicial}) \times \text{número de muertos} - \text{peso total inicial}}$$

3.3.2 Ensayo de digestibilidad

Durante éste experimento los organismos fueron alimentados dos veces al día (10:00 y 15:00 h), la alimentación fue ad libitum, corrigiendo la dosificación de acuerdo al alimento residual presente. La temperatura se mantuvo a $28 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$, la salinidad a 34.0 ± 0.5 partes por mil y el oxígeno disuelto a 5.5 ± 0.5 partes por mil.

Durante cuarenta y cinco días se monitoreó diariamente la temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto (con la ayuda de un oxímetro YSI^{MR} modelo 57), y se contaron el número de mudas y el número de muertos.

Después del monitoreo diario se procedió al mantenimiento de los acuarios (retirando todos los detritos), para posteriormente suministrar la primera dosis del alimento. Una vez hecho esto, se dejó que los camarones se alimentaran por un período de tres horas, al final del cual se procedió a la recolección de las heces fecales con la ayuda de una pipeta eppendorf. Una vez colectada la mayor cantidad posible de heces por cada acuario, estas se lavaron con agua destilada y se congelaron a -50°C . Después de 45 días de colecta, las heces fecales se liofilizaron para conservarlas hasta el momento de su análisis.

Cuando se quiere medir la digestibilidad en organismos acuáticos, se presentan una serie de dificultades como lo es la colecta cuantitativa del material fecal, por lo que se hace necesario el empleo de técnicas alternativas. El método más ampliamente utilizado por los nutriólogos es la estimación indirecta de la digestibilidad, a través del uso de marcadores inertes, con los que se mide la digestibilidad aparente. Carlow y Fletcher (1982) mencionan las condiciones que debe reunir un marcador externo, estas son: 1) El marcador debe estar presente de una manera uniforme en el alimento; 2) No debe interferir en la tasa de ingestión del alimento; 3) Debe atravesar el tracto digestivo a la misma velocidad que los demás nutrientes; 4) No debe ser absorbido por el organismo; 5) La pérdida de marcador en el alimento y en las heces por lixiviación debe de ser inexistente o muy reducida.

Comparando diferentes marcadores externos para la estimación de la digestibilidad aparente en trucha arco-iris, Tacon y Rodriguez (1984) encontraron que con el óxido crómico o la fibra cruda, se obtienen los resultados más confiables en términos de reproductibilidad de los coeficientes de digestibilidad dentro y entre tratamientos individuales. También existe un gran número de publicaciones donde se utiliza el óxido crómico como marcador externo para estudios de nutrición de crustáceos, entre otros podemos citar: Nose, 1964; Lee, 1970; Forster & Gabott, 1971; Colvin, 1976; Fenucci et al, 1982; Teshima & Kanazawa, 1983; Smith et al, 1985, Catacutan, 1991,

etc. En base a los anteriormente expuesto, consideramos que el óxido crómico fue un marcador adecuado para realizar nuestro bioensayo de digestibilidad.

Otra de las dificultades más importantes en la determinación de la digestibilidad aparente es la pérdida potencial de nutrientes del alimento antes de su ingestión, así como de las heces antes de su colecta (Goldblatt et al. 1980). Fenucci et al. (1982), al analizar estos puntos encontró que la pérdida de nutrientes de la dieta y de las heces expuestas al agua hasta seis horas se puede considerar como insignificante, y por lo tanto, no influyen en el resultado de las evaluaciones.

La colecta de las heces fecales en el medio acuático es técnicamente difícil de llevar a cabo sin que exista pérdida de compuestos solubles. Treinta por ciento o más del nitrógeno fecal es altamente soluble en agua (Possompes, 1973; Lied et al. 1982). Por lo tanto, las técnicas de muestreo pueden afectar sensiblemente los resultados de digestibilidad. Spyridakis et al. (1989), evaluando diferentes métodos de colecta de muestras para medir la digestibilidad aparente de un pez (Dicentrarchus labrax), encontró que la colecta de heces por "pipeteo" resulta ser una de las técnicas que provee los datos más exactos. Con el fin de limitar al máximo los errores inducidos por el método de colecta y la frecuencia de la misma, en el presente trabajo se optó por pipetear las heces fecales tres horas después de que los organismos eran alimentados.

El cálculo de la digestibilidad aparente de los diferentes nutrientes se llevó a cabo según la fórmula reportada por Teshima y Kanasawa (1983):

$$D. A. = 100 - \left[\frac{(\% Cr_2O_3 \text{ en alimento})}{(\% Cr_2O_3 \text{ en heces})} \times \frac{(\% \text{ Nutriente en heces})}{(\% \text{ Nutriente en alimento})} \right] \times 100$$

(%)

3.4 Análisis químicos

a) Análisis de humedad: Se determinó basado en la metodología que describe la A.O.A.C. (1984): deshidratación en estufa a 70°C por 24 horas, hasta obtener peso constante.

b) Análisis de proteínas: Se utilizó el método de microkjeldhal (A.O.A.C., 1984). Se trata de un análisis indirecto de proteína, ya que con él realmente lo que se cuantifica es el contenido de nitrógeno presente en la muestra. Esto se logra gracias a una digestión ácida de la muestra, seguida por un destilación del amoníaco y titulación del mismo.

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{(V2 - V1) (N) (Me)}{W} \times 100$$

En donde:

V1 = ml de HCl gastados en el blanco

V2 = ml de HCl gastados en la muestra problema

N = Normalidad del HCl utilizado

Me = Mili-equivalente del HCl

W = Peso en gramos de la muestra

$$\% \text{Proteína} = \% \text{Nitrógeno} \times 6.25$$

c) Análisis de lípidos:

Debido a la diferencia en la cantidad de muestra existente entre los ensayos de crecimiento y de digestibilidad, la determinación de lípidos se llevó a cabo por dos metodologías distintas, estas son:

-Método de Soxhlet (A.O.A.C. 1984). Este método se utilizó para determinar los lípidos de los alimentos del ensayo de crecimiento; el cual consiste en una extracción de reflujo continuo con éter durante 18 horas.

-Extracción metanol-cloroformo: Extracción en frío por medio de solventes orgánicos. Utilizada con los alimentos y heces fecales del ensayo de digestibilidad.

d) Análisis de fibra cruda: Hidrólisis sucesiva con la ayuda de ácido sulfúrico al 1.25% y NaOH al 1.25% para después calcinar (A.O.A.C., 1984).

e) Determinación de energía: Se utilizó un calorímetro adiabático marca PARR, en el cual se colocó la muestra, en forma de pastilla comprimida y de peso conocido, dentro de la cámara calorimétrica a la cual se le inyectó oxígeno para que se llevara a cabo la ignición.

f) Análisis de cenizas: Se llevó a cabo siguiendo el método descrito por la A.O.A.C (1984): calcinación en mufla a 550°C.

g) Análisis de Extracto libre de nitrógeno: Por diferencia a 100% de los valores anteriores a excepción de energía.

h) Análisis de óxido crómico: Digestión del óxido crómico con ácido perclórico en presencia de permanganato, según la técnica descrita por Bolin et. al., (1952).

NOTA: Las diferentes metodologías utilizadas en estos ensayos, se encuentran descritas en el Apendice I.

3.5 Obtención y preparación de ingredientes

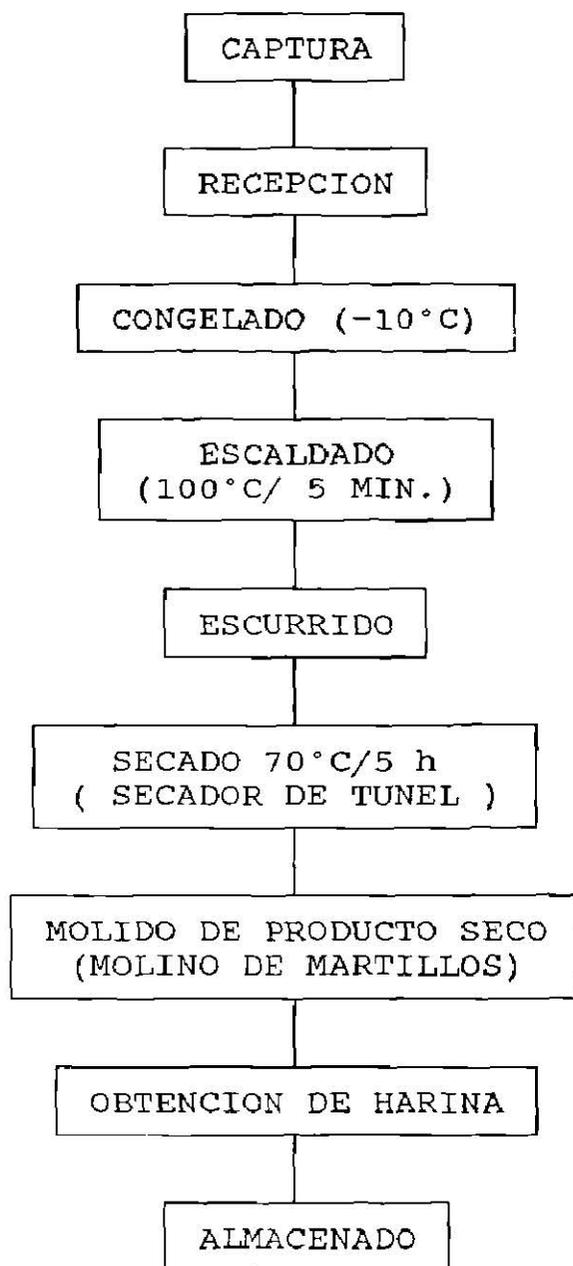
La harina de cabeza de camarón y la harina de langostilla fueron preparadas en nuestro laboratorio siguiendo los pasos que se muestran en la Figura 7, mientras que los demás ingredientes fueron comprados o donados por casas comerciales.

Las harinas de cabeza de camarón y de langostilla fueron preparadas en la planta de alimentos del Centro de Investigaciones Biológicas (C.I.B.). La langostilla fué capturada en la costa de Bahía Magdalena y transportada en hielo hasta el C.I.B., en donde fue congelada (-10°C) hasta su tratamiento para elaborar la harina, mientras que las cabezas de camarón fueron obtenidas el mismo día que se efectuó el descabezado de camarón de una granja comercial (Sociedad Cooperativa de Acuacultores de la Península), dichas cabezas fueron transportadas en bolsas de plástico y se congelaron (-10°C) hasta su posterior utilización.

Como primer paso en la elaboración de las harinas, se sometió la materia prima a un escaldado en agua de mar a 100°C durante cinco minutos. Una vez terminado el cocimiento, se dejó escurrir el producto eliminando con esto el exceso de agua para acelerar el proceso de secado, mismo que se llevó a cabo durante 5 horas en un secador de túnel con flujo de aire continuo a 75°C y con una humedad de 70%. El producto seco se trituró en un molino de martillos con una malla de 2 mm de diámetro. Las harinas obtenidas fueron almacenadas en bolsas de plástico,

dentro de cubetas con tapadera de cierre hermético, hasta su utilización.

Figura 7. Diagrama de flujo seguido en la elaboración de las harinas de langostilla y de cabeza de camarón.



3.6 Diseño y elaboración de las dietas experimentales

3.6.1 Diseño de las dietas experimentales

Para el ensayo de crecimiento se formularon cuatro dietas que fueran isoprotéicas, isocalóricas e isolipídicas entre ellas, esto es, que el porcentaje de proteínas, energía y de lípidos respectivamente, fuera similar en los cuatro alimentos, de manera tal que cubrieran los requerimientos nutricionales descritos por Akiyama, (1989) para Penaeus vannamei (Ver Tabla 1 y 2). Los ingredientes presentados en las tablas 1 y 2 son comunmente usados en la elaboración de alimentos peletizados para camarón, excepto la harina de langostilla. Para fines del presente trabajo, la harina de pescado fue sustituida con 5, 10 y 15% de harina de langostilla.

Para el balanceo de la dietas se tomó como punto de partida los resultados obtenidos en los análisis químicos de las materias primas (Sección 5.1.1, Tabla 3) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de } (\%) \text{ nutriente en el insumo} \times (\%) \text{ inclusión del insumo} \\ \text{nutriente en} = \frac{\text{-----}}{\text{la dieta} \qquad \qquad \qquad 100}$$

Debido a la diferencia en el contenido protéico de la harina de pescado (57.3 %) y la de harina de langostilla (37 %), la sustitución de las harinas fue hecha en base al porcentaje de proteína aportado a la dieta y no en base al porcentaje en peso incluido. Es decir, que la inclusión de 5, 10 y 15% de harina de langostilla sustituyó en realidad el 12.75, 24.8 y 37.58% de la proteína aportada por la harina de pescado, respectivamente.

Para el ensayo de digestibilidad se usaron las mismas formulaciones, salvo que se incluyó (0.5%) de óxido crómico (compuesto empleado como marcador inerte) y se disminuyó el contenido de harina de sorgo en la dieta para ajustar al 100%. La Tabla 2 muestra el contenido de los diferentes alimentos.

Tabla 1. Composición porcentual de las dietas utilizadas en el ensayo de crecimiento.

INGREDIENTE	CONTROL	CIB 5	CIB 10	CIB 15
H. PESCADO ^a	25.5	22	19	16
H. LANGOSTILLA	0	5	10	15
H. CAMARON	10	10	10	10
H. SOYA	29	29	29	29
H. TRIGO	15	15	15	15
H. SORGO	10	8.5	6.5	4.5
MEZCLA DE VITAMINAS ^b	0.2	0.2	0.2	0.2
VIT. C	0.3	0.3	0.3	0.3
MEZCLA MINERALES ^c	3	3	3	3
GRENETINA	4	4	4	4
ACEITE DE PESCADO	1.5	1.5	1.5	1.5
LECITINA	1.5	1.5	1.5	1.5

Tabla 2. Composición porcentual de las dietas utilizadas en el ensayo de digestibilidad.

INGREDIENTE	CONTROL	CIB 5	CIB 10	CIB 15
H. PESCADO ^a	26	22.7	19.5	16.2
H. LANGOSTILLA	0	5	10	15
H. CAMARON	10	10	10	10
H. SOYA	28	28	28	28
H. TRIGO	15	15	15	15
H. SORGO	9.5	7.8	6	4.3
MEZCLA VITAMINICA ^b	0.2	0.2	0.2	0.2
VITAMINA C	0.3	0.3	0.3	0.3
MEZCLA MINERALES ^c	3.5	3.5	3.5	3.5
GRENETINA	4	4	4	4
ACEITE PESCADO	1.5	1.5	1.5	1.5
LECITINA	1.5	1.5	1.5	1.5
OXIDO CROMICO	0.5	0.5	0.5	0.5

^aHarina de pescado: Desechos de atún (PROPEPAZ)

^bMezcla vitamínica (g/kg alimento): Vit. A 15,000 μ i; Vit. D₃ 7,500 μ i; Vit. E 400 mg; Vit. K₃ 20 mg; Tiamina 150 mg; Riboflavina 100 mg; Piridoxina 50 mg; Ac. pantoténico 100 mg; Niacina 300 mg; Biotina 1 mg; Inositol 500 mg; Colina 400 mg; Ac. fólico 20 mg; Cianocobalamina 0.1 mg.

^cMezcla de minerales (gr/100gr alimento): KCl 0.5; MgSO₄.4H₂O 0.5; ZnSO₄.7H₂O 0.09; MnCl₂.4H₂O 0.0234; CuCl₂.2H₂O 0.005; KI 0.05; CoCl₂.6H₂O .0025; Na₂HPO₄ 2.37.

3.6.2 Elaboración de los alimentos experimentales.

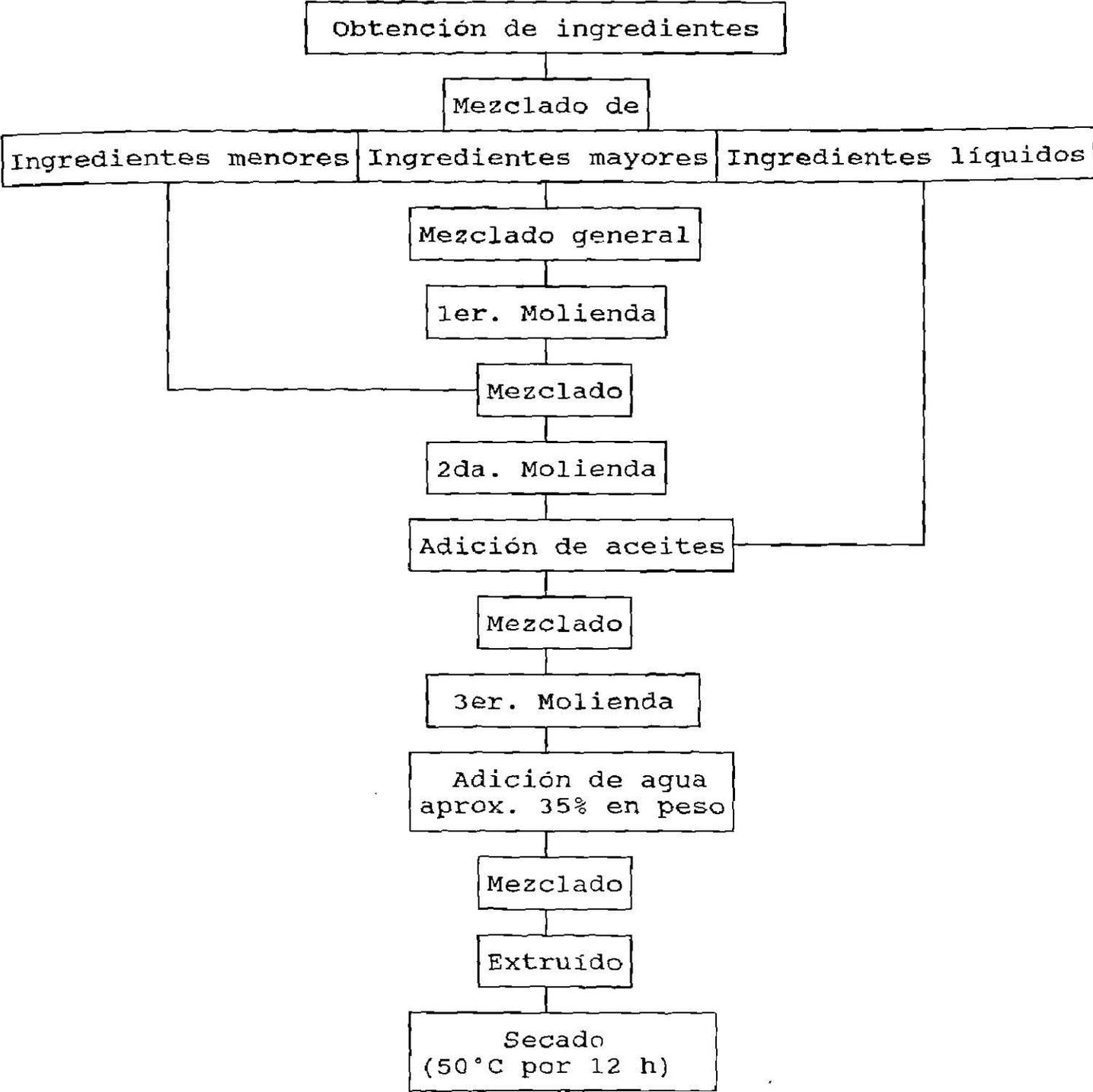
En la figura 8 se muestran los pasos seguidos en la elaboración de las dietas peletizadas. Primero se molieron todos los ingredientes hasta tener un tamaño de partícula muy fino y homogéneo, con el fin de uniformizar el tamaño de partícula de cada uno de los ingredientes. Posteriormente se procedió a mezclar los ingredientes por lotes, esto es, en un primer lote se mezclaron los ingredientes mayores como son las harinas de camarón, pescado, langostilla, soya, trigo y sorgo, y la grenetina. Mientras que en el segundo lote se mezclaron los ingredientes menores (mezcla vitamínica, vitamina C, mezcla de minerales y óxido crómico en el ensayo de digestibilidad). En un último lote se mezclaron el aceite de pescado y la lecitina de soya hasta formar una emulsión.

Una vez mezclados estos tres lotes por separado, se procedió a mezclar los dos primeros (ingredientes sólidos), añadiendo los ingredientes mayores en pequeñas porciones a los ingredientes menores con la ayuda de una batidora (Spatula Smart^{MR} mixer, Black & Decker) de uso doméstico, hasta obtener una mezcla homogénea. Una vez conseguido esto, se le adicionó el tercer lote (emulsión aceite-lecitina) y se prosiguió mezclando. Ya distribuida lo más homogéneamente posible esta triple mezcla, se molió en un molino para café (Moulinex^{MR}, tipo 518) de capacidad pequeña, con el fin de homogenizar aún más el tamaño

de partícula presente en la mezcla ya que la emulsión aceite-
lecitina forma pequeños grumos indeseables, mismos que
impedirían una distribución uniforme de los nutrientes. A la
mezcla obtenida, se le agregó 35% de agua con respecto al peso
seco, mezclándola intensamente hasta obtener una pasta
homogénea. La pasta resultante fue pasada rápidamente por un
molino de carne (TOR-REY^{MR}, mod. 22) con un dado de $1/8''$ de
tamaño de orificio, con el fin de mezclar y empezar el proceso
de gelificación. El producto obtenido fueron pelets muy húmedos
y de una textura rugosa (porosa) y una consistencia blanda, por
lo que se volvieron a pasar muy lentamente por el molino,
obteniendo de esta manera espaguetis (pelets largos) con
consistencia firme y textura lisa, así como de apariencia
brillante. Los pelet fueron cortados (aprox. 0.5 cm de longitud)
y secados a 50°C durante 12 horas. Posteriormente fueron
refrigerados a 5°C hasta su utilización.

El alto contenido de lípidos encontrado en la dietas
destinadas al experimento de crecimiento (12%), pudo ser a causa
de una adición errónea de las principales fuentes de lípidos,
como lo son el aceite de pescado y la lecitina de soya. Sin
embargo, esto no tuvo consecuencias debido a que dichos niveles
son superiores al mínimo recomendado por Akiyama y Dominy (1989)
para Penaeus vannamei (7.5%) y al mismo tiempo se encuentran por
debajo del 15%, nivel reportado como nocivo para el crecimiento
del camarón Penaeus monodon (Bautista, 1986).

Figura 8. Diagrama de flujo seguido en la elaboración de alimento peletizado para camarón



3.7 Análisis estadístico de los resultados.

Los análisis estadísticos de las tasas de crecimiento, factor de conversión alimenticia y digestibilidad se realizaron utilizando el paquete de computación STATGRAPHICS^{MR}. El análisis de varianza (one-way) se usó para determinar si existían o no diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Dietas Control, CIB 5, CIB 10 y CIB 15). La prueba múltiple de rangos se utilizó con el fin de identificar a los tratamientos que pudieran ser significativamente diferentes. Para el cálculo de intervalos entre medias se utilizó el análisis de Tukey de este mismo paquete. Se realizaron también análisis de regresión para observar la correlación entre los diferentes parámetros medidos (% proteína, lípidos, energía, tasa de crecimiento, alimento ingerido, factor de conversión alimenticia, número de mudas, digestibilidad aparente de proteínas, lípidos y energía).

4. RESULTADOS:

4.1 Análisis químicos de insumos y alimentos

4.1.1 Composición de la harina de langostilla

Se encontró que la harina de langostilla contiene un porcentaje de proteína menor que la harina de pescado (Tabla 3), según los resultados obtenidos en el análisis químico reportados en porcentaje de base seca.

Tabla 3. Resultados del análisis químico de los insumos utilizados en la elaboración de alimento peletizado para camarón

MUESTRA	%HUM	% PROT	% LIP	% CEN	% F.C. ¹	%E.L.N ²
HARINA DE SOYA	8.05	45.90	0.70	17.33	3.79	42.27
SORGO	8.23	10.49	4.79	1.72	1.41	81.59
H.PESCADO ³	4.70	57.30	7.31	26.80	1.10	7.47
TRIGO	8.55	14.78	3.31	1.68	1.81	78.42
H. DE LAN- GOSTILLA	2.20	37.01	9.18	31.78	4.01	18.02
H. DE CABEZA DE CAMARON	2.83	50.88	10.40	23.34	5.28	10.10

¹Fibra Cruda

²Extracto libre de nitrógeno

³Harina de desechos de atún (PROPEPAZ)

4.1.2 Composición de los alimentos experimentales

Los alimentos destinados al experimento de crecimiento presentaron un contenido protéico que varió de 42.22% (CIB 15) a 44.46% (Control) destacándose un ligero decremento en proteína conforme se aumentaba langostilla (Tabla 4). El porcentaje de lípidos se encontró en el rango de 12.0 a 12.6%, siendo estos valores superiores a los calculados al formular las dietas. La fibra cruda presente varió de 3.29 a 3.56%, mientras que el contenido de cenizas tiende a aumentar conforme se añade más langostilla a la dieta, variando de 14.49% (Control) a 16.41% (CIB15). El contenido en extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) fue similar en todos los alimentos (aprox. 25.5%).

Los resultados del análisis químico de los alimentos destinados al experimento de digestibilidad son mostrados en la Tabla 4, donde se puede apreciar que el contenido de carbohidratos disminuye conforme aumenta el porcentaje de inclusión de la harina de langostilla, mientras el contenido de cenizas aumenta.

Tabla 4. Resultado del análisis químico de los alimentos experimentales utilizados en los ensayos de crecimiento y de digestibilidad

	CONTROL	CIB 5	CIB 10	CIB 15
CRECIMIENTO:				
HUMEDAD	4.50	3.67	4.21	3.36
PROTEINA	44.46	43.87	43.76	42.22
LIPIDOS ¹	12.00	12.50	12.30	12.60
CENIZAS	14.49	14.51	15.28	16.41
FIBRA CRUDA	3.37	3.56	3.32	3.29
E.L.N. ²	25.70	25.60	25.30	25.50
ENERGIA (cal/g)	4181.70	4234.00	4231.90	4213.80
DIGESTIBILIDAD:				
HUMEDAD	4.35	5.07	3.51	3.85
PROTEINA	42.00	40.68	40.68	40.79
LIPIDOS ³	4.84	6.00	5.78	6.02
CENIZAS	14.39	15.27	15.94	16.43
FIBRA CRUDA	3.98	4.04	4.25	4.01
E.L.N. ²	34.79	34.01	33.35	32.75
ENERGIA (cal/g)	4198.00	4145.00	4162.00	4170.00
OXIDO CROMICO	0.43	0.38	0.40	0.42

LIPIDOS¹ Método de Soxhlet
LIPIDOS² Método metanol-cloroformo
E.L.N.³ Extracto libre de nitrógeno

4.2 Ensayo de crecimiento

Diseño experimental del ensayo de crecimiento

Especie: <u>Penaeus vannamei</u>	Temperatura: 28 ± 1°C
Peso inicial: 0.260 ± 0.002 g	Salinidad: 37 ± 1 ppmil
Acuarios: 60 lts. (.58 X .42 X .25m)	Alimentación: <u>Ad libitum</u>
Densidad: 62.5 camarones/m ²	dos veces por día
Duración: 30 días	Fotoperíodo: 12 h luz/12 h
Recambio de agua: Flujo continuo	oscuridad
Diseño: 15 camarones/ acuario; 3 acuarios/ tratamiento	

Después de treinta días del experimento la sobrevivencia obtenida con los cuatro alimentos fue superior al 95% (Tabla 5). No se observó ningún efecto adverso en el crecimiento de los camarones alimentados con las dietas que contenían harina de langostilla (Tabla 5 y Fig. 9). Los camarones alimentados con la dieta CIB 15 (15% de harina de langostilla) mostraron una tasa de crecimiento significativamente mayor ($P < 0.05$) a las otras tres dietas evaluadas (Control, CIB 5 y CIB 10; Fig. 10). A pesar de que no se encontraron diferencias de peso significativas ($P > 0.05$) entre los animales alimentados con las dietas control, CIB 5 y CIB 10, tanto el peso final, como la tasa de crecimiento tienden a aumentar conforme se incrementa el contenido de langostilla en el alimento (Figuras 9 y 10).

Con las cuatro dietas se obtuvieron excelentes factores de conversión alimenticia (F.C.A.), sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre ellas. A pesar de que no hubo una buena correlación entre el factor de conversión alimenticia y el porcentaje de inclusión de la harina de langostilla, el alimento CIB 15 es el que presentó la mejor tasa de conversión (1.41) y fue el alimento que se consumió en mayor cantidad (Fig. 11).

Tabla 5. Resultados del ensayo de crecimiento alimentando dos veces al día a camarones *P. vannamei* con dietas de diferente contenido de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) durante 30 días con una temperatura promedio del agua de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y una salinidad de 37 ± 1 partes por mil

DIETA	SOBRE- VIVENCIA (%)	PESO PROMEDIO INICIAL (g)	PESO PROMEDIO FINAL (g)	TASA DE CRECIMIENTO (%)	CONVERSION ALIMENTICIA	MUDAS TOTALES APARENTE
Control	100	0.261 ^a ±0.004	1.396 ^b ±0.04	435.83 ^b ± 6.55	1.54 ^a ±0.02	54 ^b
CIB 5	100	0.259 ^a ±0.004	1.408 ^b ±0.04	443.62 ^b ± 9.53	1.50 ^a ±0.09	32 ^b
CIB 10	98	0.260 ^a ±0.004	1.424 ^b ±0.05	449.42 ^b ± 31.23	1.57 ^a ±0.15	49 ^b
CIB 15	100	0.260 ^a ±0.004	1.678 ^a ±0.06	544.11 ^a ± 13.65	1.41 ^a ±0.05	95 ^a

(t) Desviación estandar

* Los valores con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

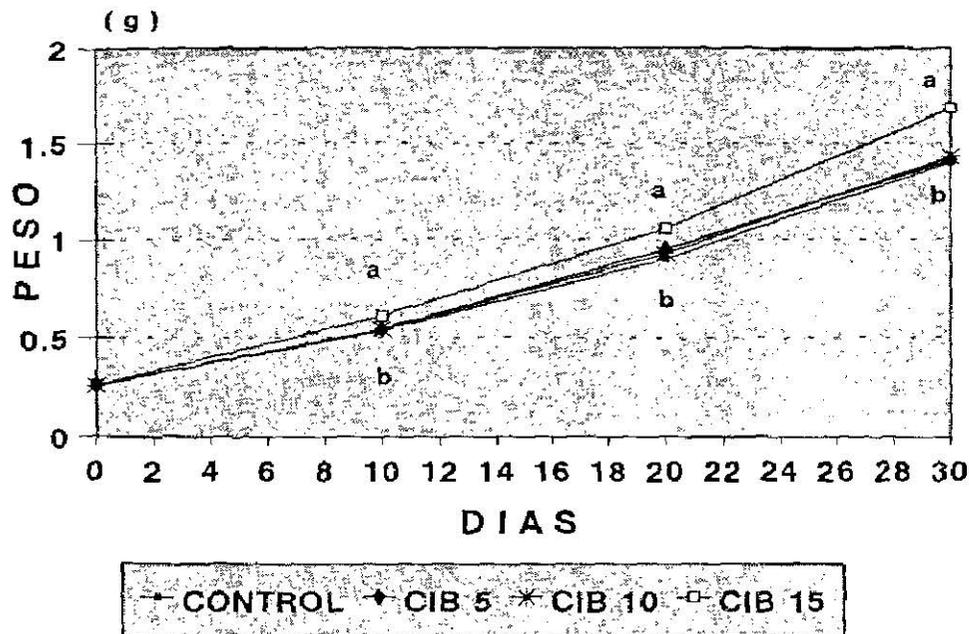


Figura 9. Curva de crecimiento del camarón *P. vannamei* alimentado con dietas de diferente contenido de H. de langostilla

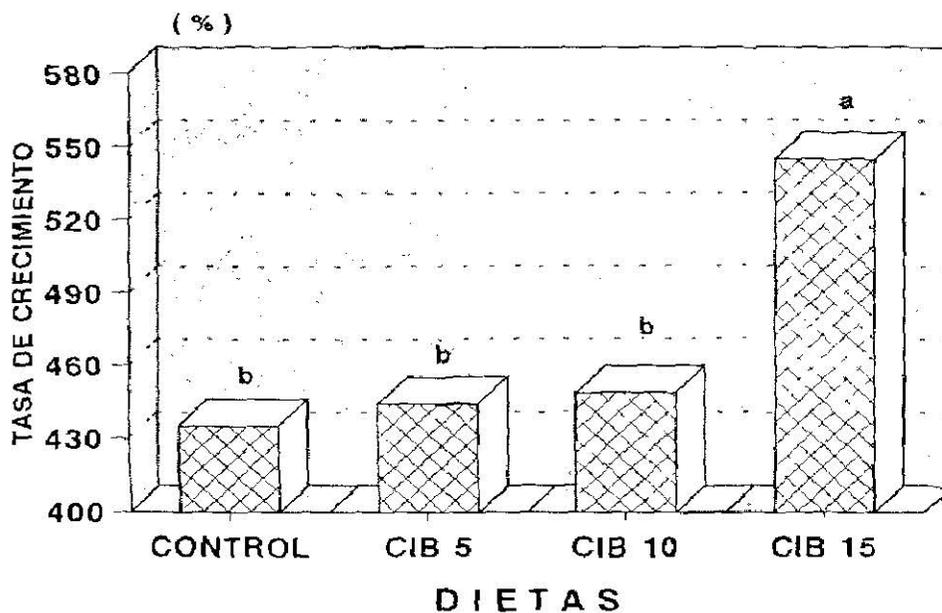


Figura 10. Tasa de crecimiento del camarón *P. vannamei* alimentado con dietas de diferente contenido en H. de langostilla

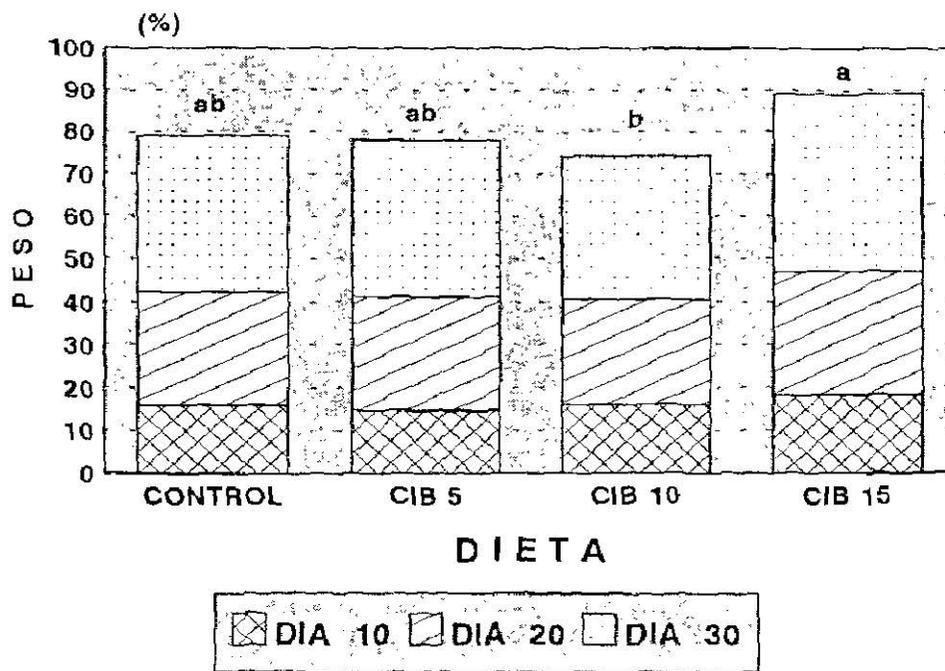


Figura 11. Alimento total consumido por el camarón *P. vannamei* a los 10, 20 y 30 días de ensayo.

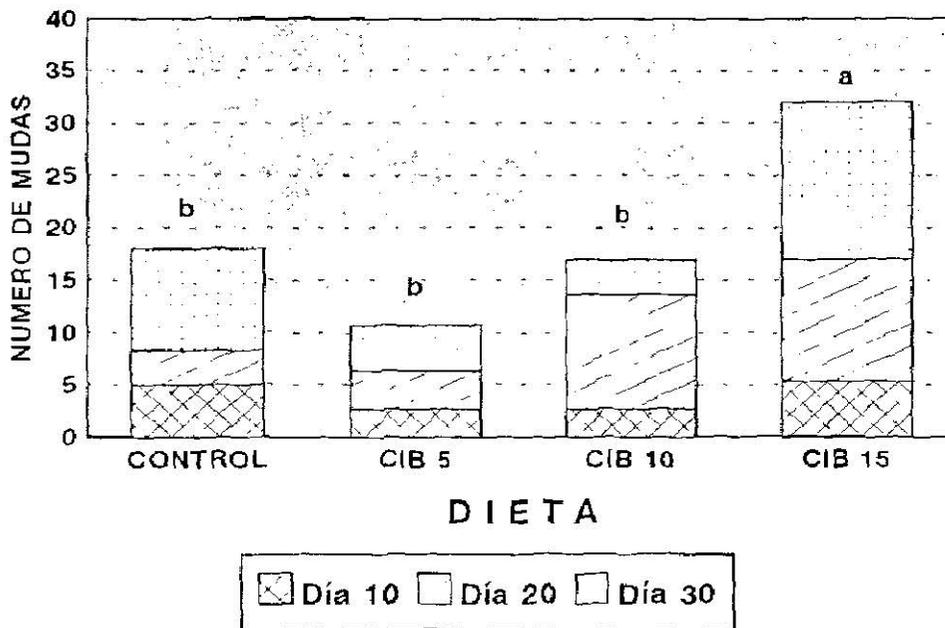


Figura 12. Número total de mudas del camarón *P. vannamei* encontradas a los 10, 20 y 30 días de ensayo

El alimento CIB 15 aceleró la frecuencia de muda de los organismos (Fig. 12), ya que el número total de mudas registrado fue significativamente mayor ($P < 0.05$) al encontrado con los otros alimentos, observándose una tendencia a aumentar conforme aumentamos la cantidad de langostilla en el alimento.

4.3 Ensayo de digestibilidad

Diseño experimental del ensayo de digestibilidad

Especie: <u>Penaeus vannamei</u>	Temperatura: 28.06 ± 0.4°C
Peso inicial: 3.32 ± 0.01 g	Salinidad: 34.53 ± 1.5ppmil
Acuarios: 60 lts. (.58 X .42 X .25m)	Alimentación: <u>Ad libitum</u> ,
Densidad: 41.6 camarones/m ²	dos veces por día
Duración: 45 días	Fotoperíodo: 12 h luz/12 h
Recambio de agua: 200 % por día	oscuridad
Oxígeno disuelto: 5.5 ± 0.4 ppmil	
Diseño: 10 camarones/ acuario; 3 acuarios/ tratamiento	

La sobrevivencia obtenida fue alta y no se vió afectada por la inclusión de la harina de langostilla o por la presencia de óxido crómico en las dietas (Tabla 6). No se detectaron diferencias significativas entre las tasas de crecimiento obtenidas con los diferentes tratamientos ($P > 0.05$) (Tabla 6; Figuras 13 y 14). La cantidad total de mudas guarda una fuerte correlación con el porcentaje de inclusión de harina de langostilla en la dieta ($r = 0.816$) presentando la dieta CIB 15 el mayor número de ellas (Tabla 6; Fig. 15).

Tabla 6. Resultados zootécnicos del ensayo de digestibilidad alimentando dos veces al día a camarones *P. vannamei* con dietas de diferente contenido de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) durante 45 días con una temperatura promedio de $28 \pm 1^\circ\text{C}$ y una salinidad de 35 ± 1 partes por mil

DIETA	SOBREVIVENCIA (%)	PESO PROMEDIO INICIAL (g)	PESO PROMEDIO FINAL (g)	TASA DE CRECIMIENTO (%)	MUDAS TOTALES APARENTE
Control	100	3.317 ^a	7.32 ^a	120.74 ^a	71 ^b
CIB 5	100	3.320 ^a	7.39 ^a	122.80 ^a	76 ^b
CIB 10	100	3.307 ^a	7.55 ^a	128.33 ^a	108 ^{ab}
CIB 15	100	3.328 ^a	7.58 ^a	128.01 ^a	136 ^a

* Los valores con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes ($P > 0.05$).

La digestibilidad de proteínas varió de 79.7 a 84.0 %, siendo significativamente menor ($P < 0.05$) la encontrada con la dieta control (Tabla 7 y Fig. 16). A pesar de que no se encontraron diferencias significativas entre las dietas (5, 10 y 15), existió un ligero aumento en la digestibilidad conforme se aumentó el porcentaje de inclusión de harina de langostilla.

La digestibilidad de los lípidos del alimento CIB 15 fue significativamente superior ($P < 0.05$) a la de las dietas control y CIB 5, y ligeramente mayor a la de la dieta CIB 10 (Tabla 7; Fig. 16). La D.A.L. aumentó conforme se incrementó el nivel de inclusión de harina de langostilla ($r = 0.844$).

La digestibilidad aparente de energía fue muy elevada (90%) y no varió de un tratamiento al otro (Tabla 7).

TABLA 7. Resultados de digestibilidad aparente de proteínas, lípidos y energía de dietas que contenían diferentes niveles de harina de langostilla (0, 5, 10 y 15%) en el camarón blanco (*P. vannamei*)

DIETA	PROTEINA	LÍPIDOS	ENERGIA
Control	79.68 ^b ± 0.32	78.87 ^c ± 0.86	90.24 ^a ± 1.57
CIB 5	82.80 ^a ± 0.57	80.44 ^{bc} ± 1.55	90.10 ^a ± 1.31
CIB 10	83.56 ^a ± 0.18	82.72 ^{ab} ± 1.24	90.15 ^a ± 0.20
CIB 15	84.02 ^a ± 1.40	84.37 ^a ± 0.66	90.13 ^a ± 0.29

(±) Desviación estandar

* Los valores con la misma letra en cada columna no son significativamente diferentes (P>0.05).

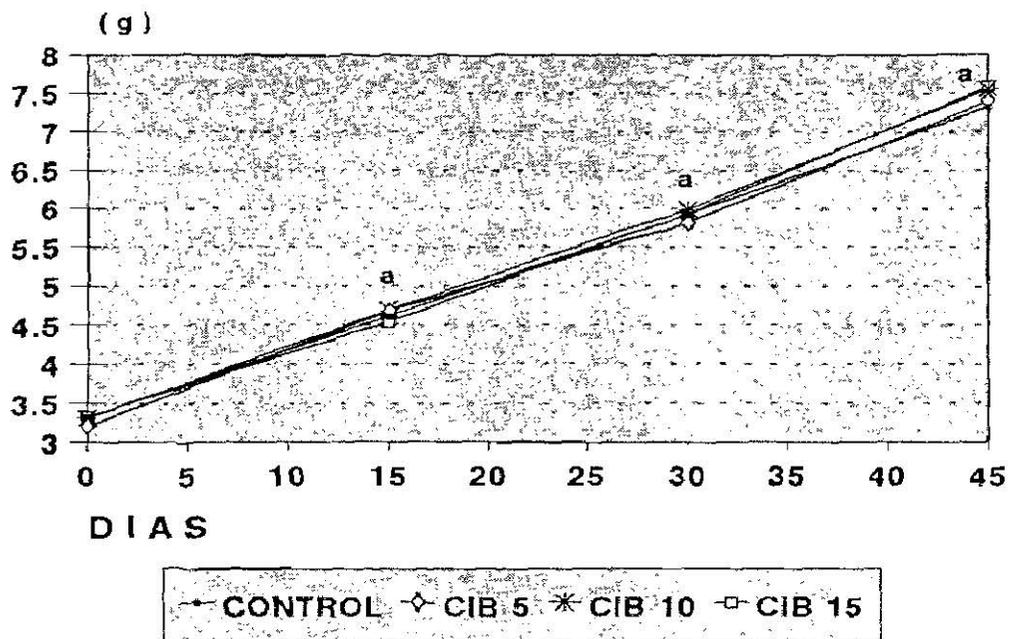


Figura 13. Curva de crecimiento del camarón *P. vannamei* alimentado con dietas de diferente contenido de H. de langostilla

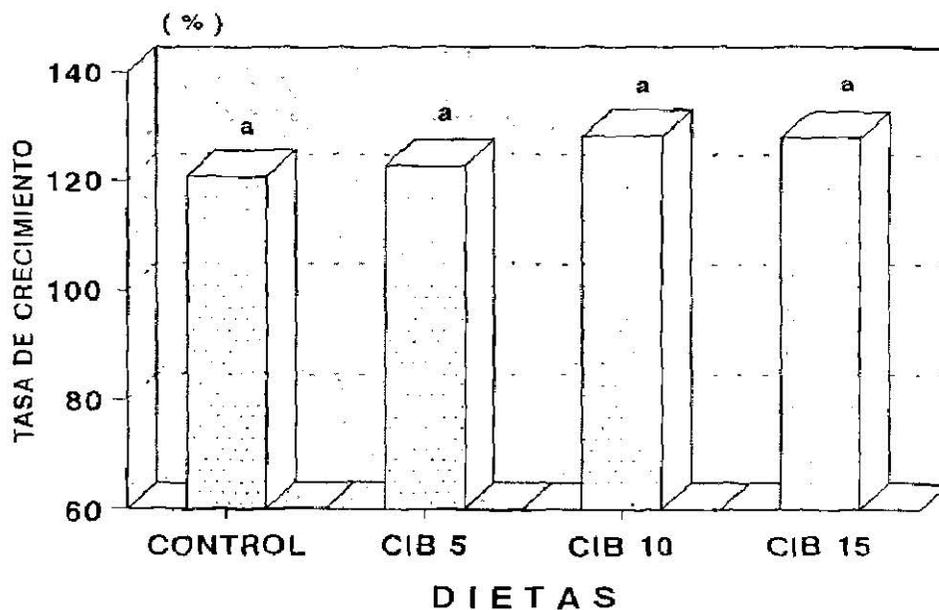


Figura 14. Tasa de crecimiento del camarón *P. vannamei* alimentado con dietas de diferente contenido de H. de langostilla

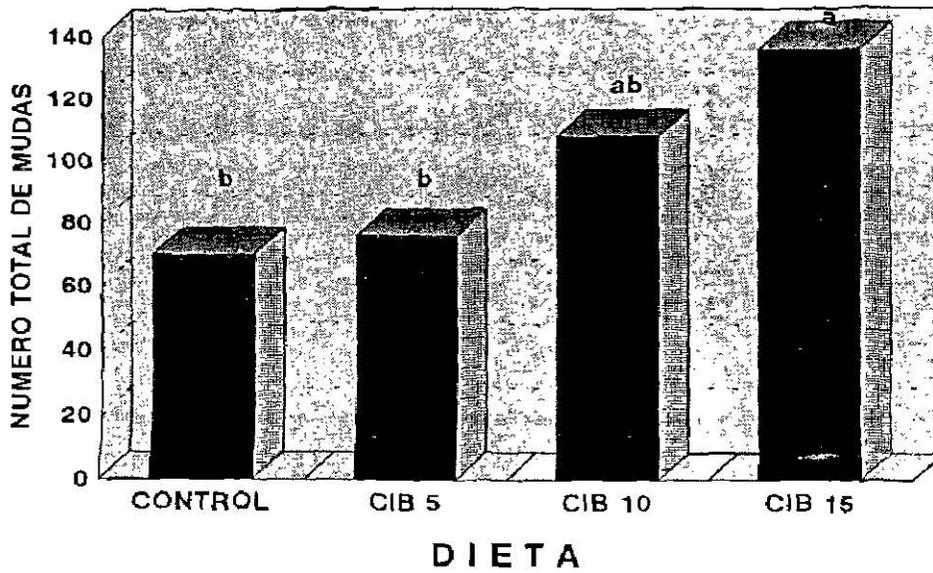


Figura 15. Número total de mudas del camarón *P. vannamei* a los 45 días de ensayo

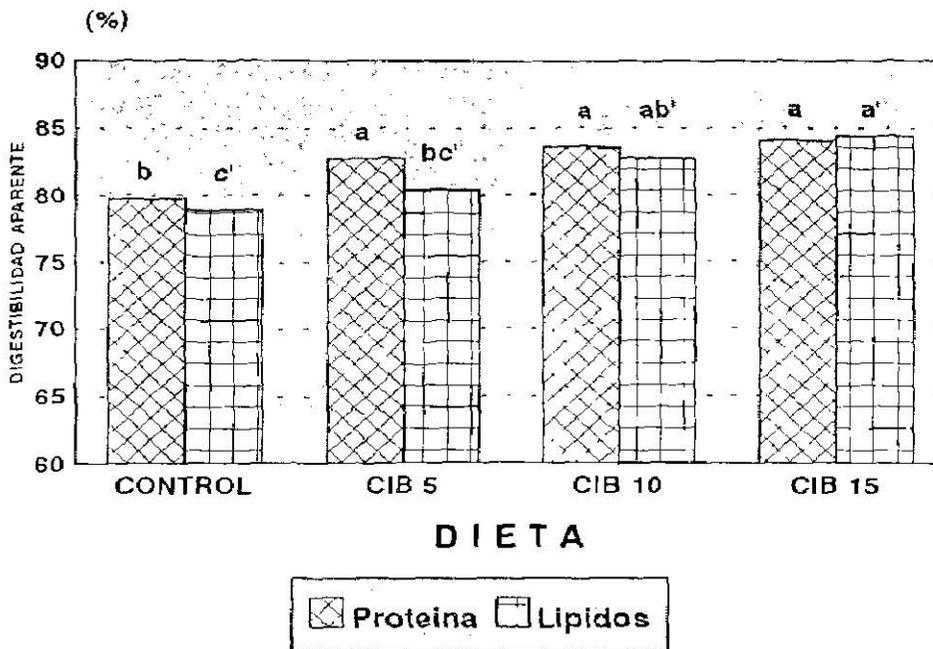


Figura 16. Digestibilidad aparente de proteínas y lípidos de dietas con diferente contenido de *H. langostilla*.

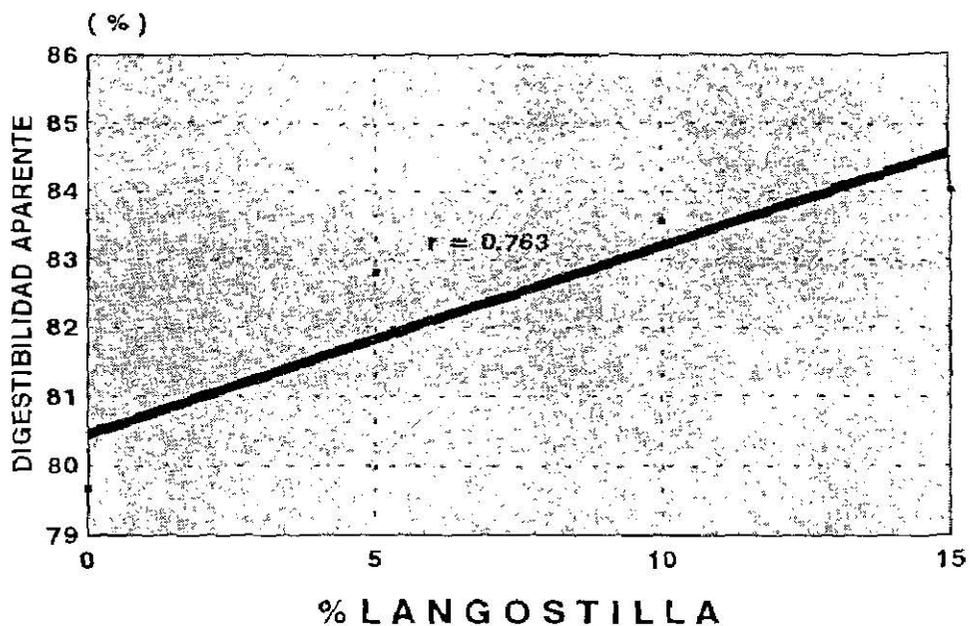


Figura 17. Relación entre la digestibilidad de proteínas y el % de inclusión de harina de langostilla en la dieta

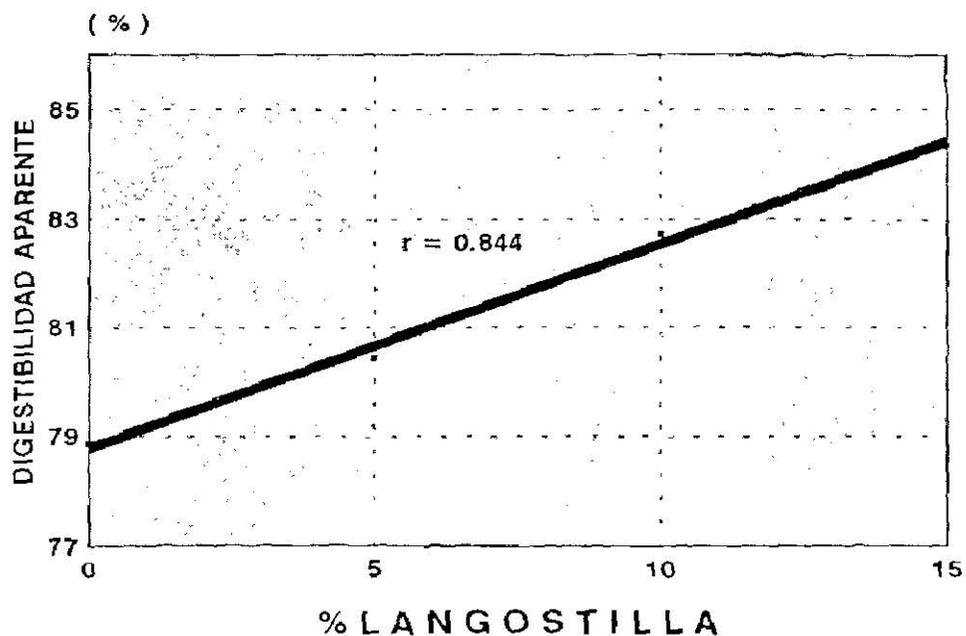


Figura 18. Relación entre la Digestibilidad aparente de lípidos y el % de inclusión de langostilla en la dieta.

5. DISCUSION

5.1 Composición y elaboración de la harina de langostilla y de los alimentos

5.1.1 Harina de langostilla:

La langostilla presenta un perfil de aminoácidos (Millán, 1992) y ácidos grasos (Pierce et al., 1969) de alta calidad (Anexo 2), ya que incluye aquellos considerados como esenciales para el camarón (Akiyama and Dominy, 1989). Wilkie (1972) reporta un contenido de 8.3 a 9.9 mg de pigmentos (β -caroteno, ésteres de astaxantina y astaxantina libre) obtenidos en 100g de langostilla entera, lo cual nos indica que también es una fuente rica de pigmentos, importantes no solo para pigmentación, sino también para el mantenimiento del crecimiento y la fertilidad (Latscha, 1990). El porcentaje de cenizas presente nos permite pensar que también puede ser una fuente importante de minerales.

El alto porcentaje de cenizas obtenido en la harina de langostilla fabricada para nuestros ensayos (31.8%), resulta un tanto lógico, por dos razones: 1) El escaldado se llevó a cabo en agua de mar y 2) la proporción de músculo con respecto a exoesqueleto es muy baja, siendo el exoesqueleto una fuente muy importante de minerales y de quitina. Esto último también se ve reflejado en el mayor porcentaje de carbohidratos en la harina (18 %). Pierce et al. (1969) encontraron que la langostilla

(Pleuroncodes planipes) tenía un contenido de 10.9 % de quitina en base seca, lo que significa que puede aportar un 0.75% de nitrógeno no protéico. En el caso de nuestra muestra, el contenido de nitrógeno aportado por la quitina no fue cuantificado, pero no debe ser muy distinto al reportado por dichos autores.

Trabajos realizados por Fox (1993) con juveniles de Penaeus monodon alimentados con dietas semi-purificadas con distintos niveles de quitina (entre 0 y 16%), mostraron que la presencia de quitina a estos niveles, no afecta significativamente a la tasa de crecimiento, el factor de conversión alimenticia o a la sobrevivencia. Sin embargo, encontró que los niveles de actividad de la enzima quitinasa disminuyen conforme se incrementa el nivel de quitina en la dieta, lo cual trae como consecuencia un menor aprovechamiento de la quitina aportada por la dieta. Pero si bien la quitina no puede ser aprovechada eficientemente como tal, las proteínas, los lípidos y los minerales asociados a ella pueden ser aprovechados por el camarón (Clark et al. 1993). Por lo que éste recurso tiene un gran potencial de utilización en la industria alimentaria y la acuicultura.

Debido a la diferencia en el contenido protéico de la harina de pescado (57.3 %) y la de harina de langostilla (37 %), la sustitución de las harinas fue hecha en base al porcentaje de proteína aportado a la dieta y no en base al porcentaje en peso incluido. Es decir, que la inclusión de 5, 10 y 15% de harina de

langostilla sustituyó en realidad el 12.75, 24.8 y 37.58% de la proteína aportada por la harina de pescado, respectivamente.

5.1.2 Elaboración de los alimentos:

La producción consistente de alimentos de buena calidad depende de la calidad de los ingredientes, la tecnología de procesamiento, y de la composición nutricional en la cual se fundamentó su formulación (Akiyama and Dominy, 1989). Para el presente trabajo se utilizaron alimentos de tipo hundible y diseñados para especies de alimentación lenta que habitan en el fondo, como es el caso del camarón. Una de las características de estos alimentos es que no deben desintegrarse en el agua antes de 2 a 4 horas para que puedan ser consumidos (Kearns, 1990). Sin embargo, es importante hacer notar que no por tratar de obtener un alimento muy estable, se deben fabricar pelets demasiado duros que el camarón no podrá consumir satisfactoriamente.

Por apreciación visual notamos que nuestros alimentos permanecían estables en el agua durante seis horas aproximadamente, lo que nos permite asegurar que los organismos experimentales tuvieron tiempo suficiente para consumir un alimento de muy buena calidad.

Las dietas utilizadas en ambos experimentos, tuvieron características isoprotéicas, isolipídicas e isocalóricas. Debido al aumento en el porcentaje de langostilla y al alto

contenido de cenizas en la misma, resulta lógico que en las dietas aumente el contenido de cenizas, sin embargo, este factor parece no haber tenido ningún efecto adverso o nefasto sobre la eficiencia de los alimentos.

5.2 Ensayo de crecimiento

Un requisito para intensificar un cultivo de camarón a nivel comercial, es contar con un alimento adecuado, esto es, que sea nutritivo y económico (Smith et al. 1983). Por ello, es de gran importancia evaluar diferentes fuentes de nutrientes con la finalidad de mejorar los alimentos ya existentes en el mercado o bien, elaborar alimentos nuevos utilizando ingredientes no convencionales (Brand and Colvin, 1977; Tinsley et al. 1984; Higuera, 1985; Casillas y Magallón, 1988; Dominy and Ako, 1988; Penaflorida, 1989; Cruz et al. 1990; Villarreal et al. 1990). El nutriente principal, por su costo y por el importante papel que desempeña en el crecimiento del camarón, es la fuente protéica (New, 1976). Uno de los parámetros que con mayor frecuencia es utilizado para la evaluación de la calidad nutricional de un alimento, es la medición del crecimiento (tasa de crecimiento), el cual generalmente va acompañado de la medición de sobrevivencia, frecuencia de muda y factor de conversión alimenticia.

En el presente trabajo, al disminuir la cantidad de

proteína aportada por la harina de pescado y sustituirla por proteína de la harina de langostilla se observa un incremento en la tasa de crecimiento de los organismos, siendo significativamente mayor ($P < 0.05$) cuando se alcanzó el 15% de inclusión de harina de langostilla en la dieta. Tomando en cuenta que la proteína es el principal nutriente al cual recurre el camarón para la formación de tejidos durante su desarrollo (Tacon, 1990), y basándonos en las diferencias encontradas aquí en las tasas de crecimiento, podemos suponer que se está mejorando la calidad en el aporte protéico de la dieta, mientras que los demás nutrientes son utilizados como fuente de energía para los diversos procesos o funciones metabólicas involucrados en el desarrollo normal del camarón.

Van Olst et al. (1975) trabajando con la langosta americana (Homarus americanus) obtuvieron excelentes crecimientos cuando los juveniles son alimentados con langostilla sola y cuando es utilizada como complemento de dietas comerciales. Mientras que Villarreal et al. (1990), trabajando con post-larvas y juveniles de Penaeus californiensis, encontraron que al sustituir parcialmente las harinas de pescado, camarón y/o soya con harina de langostilla se obtiene un crecimiento similar. En otro trabajo, Villarreal y Castro (1992) observaron una mejor tasa de crecimiento en P. vannamei al comparar varios alimentos comerciales contra nuestra dieta con 10% de harina de langostilla.

Todos estos trabajos vienen a reforzar la hipótesis sobre el mejoramiento en la calidad protéica del alimento originada por la adición de la langostilla, por lo que sería conveniente investigar el efecto de inclusiones más elevadas de harina de langostilla en la dieta, para verificar si el 15% de inclusión resulta o no el nivel óptimo. Al respecto, se están llevando a cabo estudios preliminares en el CIB, mismos que indican que el nivel óptimo de inclusión de harina de langostilla se sitúa entre 33 y 66%. Simultáneamente, se está trabajando sobre la elaboración de concentrados proteicos de langostilla con el fin de evaluar su valor nutricional como fuente de proteína (Civera, com. pers., 1993)

El crecimiento de crustáceos no es un proceso continuo ya que cambios marcados ocurren durante el ciclo de muda. Dichos cambios pueden ser divididos en dos etapas: 1) incremento del tamaño corporal en la muda; 2) frecuencia de muda (Choe, 1971). No siempre una alta frecuencia de muda va acompañada de una alta tasa de crecimiento. El camarón cuenta con diversas glándulas dentro de las cuales se encuentra un órgano llamado "órgano X", el cual produce una hormona que es inhibidora de la muda (MIH). También cuenta con la "glándula Y" la cual segrega la hormona responsable de la iniciación del proceso de muda (Fenucci, 1988). En nuestro trabajo, los organismos alimentados con harina de langostilla tienden a mudar más frecuentemente conforme se aumenta la inclusión de la harina de langostilla, lo que permite pensar que la harina de langostilla provee algún factor, tal

que, reduce la actividad de la hormona (MIH), o bien, incrementa la actividad de la hormona del órgano Y, logrando con esto un aumento en la frecuencia de muda y un crecimiento más rápido. Estas hipótesis no pueden ser comprobadas a partir de los datos obtenidos en este trabajo, pero representan un tema de estudio muy interesante.

El incremento en la frecuencia de muda puede resultar perjudicial cuando se trata de un cultivo masivo, ya que durante el tiempo en el cual el camarón regenera o endurece su nueva cutícula, es muy susceptible al ataque de depredadores, con la consecuente disminución en la tasa de sobrevivencia. Sin embargo, esta situación no siempre ocurre y además al tenerse una mayor velocidad de crecimiento, el período de cultivo de "engorda" es menor, lo que tiene una repercusión muy benéfica sobre los costos de producción.

Por otra parte, durante la fase de maduración una frecuencia de muda mayor pudiera resultar favorable con un posible incremento en la vitelogenénesis (maduración), ya que uno de los métodos comunmente utilizados para acelerar el proceso de maduración en crustáceos es la ablación ocular, mismo que está estrechamente relacionado con la inducción de la muda. (Trece and Yates, 1990; CICTUS, 1986; Teshima and Kanazawa, 1976).

Tomando en cuenta la cantidad de alimento consumido como medida indirecta de la palatabilidad del alimento (Holland and Borski, 1993; Lim and Dominy, 1990), podemos considerar que la dieta CIB 15 es la más apetitosa para el camarón. Debido al importante papel que desempeñan los aminoácidos y los ácidos grasos como factores de palatabilidad de los alimentos, nos inclinamos a pensar que al adicionar langostilla a la dieta, estamos enriqueciendo el contenido de aminoácidos y ácidos grasos de la misma, con lo que logramos obtener un incremento en su palatabilidad. En ocasiones, un incremento en el consumo de alimento puede estar relacionado con una deficiencia nutricional en el alimento o en el organismo, pero al observar las respuestas de crecimiento en nuestros experimentos, descartamos esta idea.

No siempre el alimento más consumido resulta ser el mejor, pero en nuestro caso la dieta CIB 15 es la que presenta un factor de conversión alimenticia menor (1.4), y dado que dicho factor indica la relación entre el alimento consumido y el peso ganado, un valor bajo nos indica que fue más eficientemente utilizado por el camarón. Deshimaru y Shigeno (1972) mencionan que un alimento con un factor de conversión alimenticia entre 2 y 4 puede producir una rápida tasa de crecimiento. En el presente trabajo, los valores de F.C.A. fueron muy buenos ya que son inferiores a 1.6.

5.3 Ensayo de digestibilidad

Además de la evaluación de crecimiento (sobrevivencia, frecuencia de muda y factor de conversión alimenticia), el conocimiento sobre la eficiencia de asimilación de nutrientes resulta de gran ayuda en la formulación, evaluación y elaboración de alimentos balanceados para camarón.

En el ensayo de digestibilidad realizado, intencionalmente se midió el crecimiento de los organismos con el fin de saber si se podían medir simultáneamente ambos parámetros y corroborar los resultados del primer ensayo. De ser posible esto, se podría ahorrar mucho tiempo y esfuerzo en futuras investigaciones para determinar la calidad nutricional de ingredientes y alimentos diversos, ya que con un solo experimento se podría medir el crecimiento, la digestibilidad in vivo y la actividad enzimática in vitro.

A pesar de que en el ensayo de digestibilidad las diferencias en el crecimiento no fueron tan marcadas como en el primer ensayo, si existe una tendencia a obtenerse un mayor crecimiento conforme aumenta el nivel de inclusión de langostilla en la dieta. Estos resultados no son sorprendentes, ya que en este último experimento no existieron las condiciones óptimas para el crecimiento de los camarones, es decir, de antemano sabíamos que los organismos serían sometidos a un estrés al momento de la colecta de heces fecales, y que la densidad en los acuarios (biomasa/m²) sería muy elevada al final

del experimento, lo que normalmente se traduce en una reducción en la velocidad de crecimiento. Los datos generados aquí permiten sugerir que los experimentos pueden ser realizados simultáneamente si se elimina el efecto nocivo de la densidad, para lo cual se recomienda trabajar con organismos más pequeños o con acuarios más grandes.

Los valores de Digestibilidad Aparente de Proteína (D.A.P.) obtenidos, explican y confirman lo observado en el experimento de crecimiento, pues demuestran que la calidad nutricional de la proteína presente en la harina de langostilla resulta mejor que la aportada por la harina de pescado. Conforme se sustituye la harina de pescado se incrementa la D.A.P., alcanzando su máximo con la dieta CIB 15 (84.02%).

Akiyama et al. (1991) al evaluar distintos ingredientes comúnmente utilizados y considerados como excelentes para el crecimiento del camarón Penaeus vannamei, obtiene valores de D.A.P. menores a los encontrados aquí con la adición de la harina de langostilla (harina de calamar, 79.7%; harina de pescado, 80.7%; harina de camarón, 74.6%). Cabe hacer la aclaración de que los organismos utilizados en el ensayo de crecimiento fueron de un peso inferior a los utilizados en el de digestibilidad, pero de manera similar, Smith et al. (1985) utilizando camarones Penaeus vannamei de diferentes tamaños y alimentándolos con dietas de diferentes niveles de proteína, no encontraron diferencias significativas en la digestibilidad aparente de proteínas entre los diferentes tamaños de camarón.

De la misma manera, Fenucci (1981) citado por Lee et al. (1985) investigó el efecto de diferentes dietas sobre la digestibilidad de proteína de varios tamaños de Penaeus vannamei (7 a 14g y 8 a 22 g respectivamente), encontrando que esta especie digiere la proteína con la misma eficiencia entre los tamaños de 7 a 22 g, por lo que podemos inferir que la digestibilidad aparente de proteínas de los organismos utilizados en nuestros ensayos no debe diferir sensiblemente.

Debido al alto porcentaje de cenizas encontrado en las dietas, es lógico pensar en un aporte importante de minerales (componentes esenciales de enzimas, vitaminas, hormonas y pigmentos), el cual pudiera estar influyendo en el incremento en la digestibilidad aparente de las proteínas y de los lípidos. Vega-Villasante (com. per., 1992), trabajando con el sistema digestivo de los camarones utilizados en nuestro ensayo, encontró una tendencia a aumentar la actividad de proteasas conforme se incrementaba la harina de langostilla en la dieta. Este fenómeno puede ser atribuido al incremento en el contenido de minerales en la dieta, los cuales pueden actuar como activadores de las proteasas digestivas (Chun y Sun, 1993). El incremento en la actividad de proteasas se traduce en una mayor digestibilidad de las proteínas, y por lo tanto, en un mayor crecimiento.

La harina de langostilla no solo es una fuente rica en proteína, sino que también tiene un aporte considerable de lípidos de calidad para el camarón, como lo demuestran los resultados de digestibilidad aparente de lípidos (D.A.L.) obtenidos en este experimento. Los lípidos sirven como vehículo de vitaminas liposolubles y proveen otros compuestos como esteroides y fosfolípidos, mismos que son esenciales para la función metabólica normal del camarón, permitiendo con esto un mejor aprovechamiento de las proteínas para la formación de tejidos (Tacon, 1990). Se sabe que los crustáceos utilizan generalmente bien las grasas como fuente de energía, aunque se ha reportado que un contenido de lípidos en la dieta mayor al 15%, produce un retardo en el crecimiento de P. monodon (Bautista, 1986).

Condrey et al. (1972) encontraron que P. setiferus y P. aztecus asimilaban mejor los lípidos de dietas naturales (86-99%) que cuando se trataba de dietas artificiales (75-78%). Generalmente la digestibilidad de lípidos es menor que la de las proteínas (Fenucci et al. 1982; Smith et al. 1983; Akiyama y Dominy, 1989). En nuestro caso los lípidos fueron igualmente bien asimilados que las proteínas, por lo que podemos inferir los lípidos de la dieta son de buena calidad y que sirven como fuente de energía para el trabajo mecánico (actividad muscular), mientras que la proteína se utilizó principalmente para el crecimiento (formación de nuevos tejidos).

Los resultados obtenidos en este trabajo nos hacen pensar en varias hipótesis respecto a la D.A.L.: una de ellas es que al ir aumentando el porcentaje de langostilla en la dieta aumentamos también el contenido de quitina (poco digerible por el camarón), por lo que el contenido de carbohidratos digeribles debe ser menor y como consecuencia hay una disminución en el aporte de energía. Sin embargo, al existir una buena fuente de lípidos (langostilla, aceite de pescado y lecitina), estos pueden ser utilizados como fuente de energía. Los valores obtenidos de digestibilidad aparente de energía (D.A.E.), nos indican que el camarón está aprovechando, casi en su totalidad, la energía aportada por el alimento, implicando que la composición química de los alimentos fue adecuada para los juveniles de Penaeus vannamei. El hecho de que no exista diferencia entre los valores de D.A.E. entre las dietas y al sí haberla a nivel de los lípidos, apoya la hipótesis de que los lípidos están sustituyendo parcialmente a los carbohidratos como fuente de energía.

Otra hipótesis es que los lípidos, además de ser bien digeridos, estén siendo almacenados en el hepatopáncreas del organismo, por lo que no son utilizados inmediatamente para el desarrollo del organismo y pueden servir como fuente de reserva para su uso posterior. Teshima y Kanazawa (1976) reportan que los lípidos probablemente son acumulados en el hepatopáncreas como lípidos neutros y en otros tejidos como lípidos polares durante la formación del nuevo exoesqueleto (después de la

muda). Los lípidos almacenados son utilizados como fuente de energía para los siguientes procesos de muda y como constituyentes de los nuevos tejidos. Sin embargo, esta hipótesis no puede ser comprobada con los datos aquí generados debido a que en nuestro estudio no se determinó el contenido en lípidos de los organismos. Lo cierto es que al añadir harina de langostilla a la dieta mejoramos la calidad de los ácidos grasos del alimento y por ello observamos una mejor digestibilidad de los lípidos.

Respecto al número de mudas, en el experimento de digestibilidad se observa el mismo comportamiento que en el ensayo de crecimiento, esto es, con el alimento CIB 15 se obtuvo el mayor número de mudas y su valor aumenta conforme se incrementa el porcentaje de harina de langostilla en la dieta. O'Connor y Gilbert (1968 y 1969) citados por Teshima y Kanazawa (1976) reportan que al extirpar el pedúnculo ocular (lugar en donde se encuentra el órgano X), se induce un incremento en el contenido de lípidos en el hepatopáncreas. Teshima y Kanazawa (1976) indican que el metabolismo de lípidos en los crustáceos es regulado por una o varias hormonas y que el hepatopáncreas juega un papel importante en el metabolismo de los lípidos durante el proceso de muda. En nuestro estudio encontramos una relación positiva entre la D.A.L. y el número de mudas, por lo que pensamos que los lípidos presentes en la dieta pueden tener algún tipo de ingerencia sobre la frecuencia de muda, que aún queda por estudiarse con mayor profundidad.

Desde el punto de vista de la nutrición, principal objetivo de este trabajo, los resultados aquí obtenidos demuestran que la harina de langostilla es un excelente sustituto parcial de la harina de pescado en alimentos para camarón, ya que promueve una mejor utilización de la energía y la proteína requeridas para el desarrollo del camarón. Además, la correlación positiva encontrada entre la asimilación de proteína y lípidos con la tasa de crecimiento, enfatiza la importancia de la calidad nutritiva de ambos nutrientes. Por tanto, es necesario investigar niveles de inclusión más elevados con el fin de determinar el nivel óptimo de sustitución de la harina de pescado, al igual que evaluar el efecto de la sustitución de otros insumos como las harinas de camarón y de soya.

En vista del gran potencial que presenta la langostilla como ingrediente para alimentos acuícolas, fuente de pigmentos, etc. resulta de suma importancia llevar a cabo estudios de factibilidad económica de la explotación y comercialización de este recurso, con lo cual se enriquecería en mucho los resultados aquí obtenidos y se podría resolver parcialmente uno de los cuellos de botella que afronta la industria de la alimentación de animales acuáticos.

6. CONCLUSIONES

Las altas tasas de sobrevivencia y de crecimiento obtenidas en los experimentos realizados son indicadores de que las condiciones de cultivo fueron las adecuadas para los organismos, por lo tanto, los resultados reflejan el efecto de las dietas sobre el desarrollo de los camarones.

Los datos obtenidos en esta investigación nos permite afirmar que la inclusión de la harina de langostilla (Pleuroncodes planipes) en los alimentos, no produce ningún efecto adverso sobre la sobrevivencia, crecimiento y digestibilidad en juveniles del camarón blanco (Penaeus vannamei).

La sustitución parcial de la harina de pescado con harina de langostilla resulta benéfica para los juveniles de camarón ya que aumenta la palatabilidad y el consumo del alimento, sin afectar con esto la tasa de conversión alimenticia.

Tanto la frecuencia de muda como la tasa de crecimiento de los organismos se ven incrementadas conforme se aumenta el contenido de langostilla en el alimento, indicando que, bajo las condiciones de cultivo empleadas, la harina de langostilla es un buen sustituto de la harina de pescado.

La inclusión de 15% de harina de langostilla favorece de manera significativa la digestibilidad aparente de las proteínas y de los lípidos, mismo que se traduce en un mejor aprovechamiento de los nutrientes del alimento y un crecimiento más rápido.

En base a todo lo anterior, consideramos que la harina de langostilla es un excelente complemento alimenticio para camarón, ya que resultó ser no solo una buena fuente de proteína, sino también de lípidos, por lo que se promueve el desarrollo de los camarones a través de un mejor aprovechamiento de la proteína y la energía disponibles en el alimento, elementos necesarios para las síntesis de tejidos corporales y la actividad metabólica de los organismos.

Más estudios serán necesarios para conocer el valor nutricional de los diversos nutrientes presentes en la langostilla, tales como proteína, lípidos, pigmentos, etc., así como para determinar el nivel óptimo de inclusión en las dietas y su efecto sobre los mecanismos digestivos. Dicha información permitirá sentar las bases técnicas para llevar acabo una explotación integral de éste valioso recurso marino.

7. BIBLIOGRAFIA

-Akiyama, D.M. 1991. Future considerations for the aquaculture feed industry. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Thailand and Indonesia. September 19-25, 1991. 5-9

-Akiyama, D.M. 1992. Future considerations for shrimp nutrition and the aquaculture feed industry. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Orlando, Florida. May 22-25, 1992. Ed. James Wyban. 198-205.

-Akiyama, D.M. y Dominy, W.G. 1989. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. In: "Texas Shrimp farming Manual, Vol.1: Grow-out technology". Texas Agricultural Extension Service and Texas A&M University, Sea Grant College Program. 50p.

-Anónimo, 1988. Estudio biológico pesquero del camarón de la costa occidental de Baja California Sur. Reporte interno CONACYT No. PCECCNA-040558.

-Anónimo, 1991. Secretaria de Pesca. 1991. Dirección General de Acuacultura. Serie: Camarón; Título: Especies susceptibles para el cultivo de camarón en México. No. 1. Programa Nacional del Cultivo de Camarón. Revisó: Dr. Jose Luis Arredondo. 8p.

- A.O.A.C., 1984. Official Methods of Analysis. Assoc. Off. Anal. Chem., Washington. 14 Ed. Arlington, V.A. 1141 p.
- Ashmore, S.B., Stanley, R.W., Moore, C.B. y Malecha, S.R. 1985. Effect on growth and apparent digestibility of diets varying in grain source and protein level. J. World Maricult. Soc., 16: 205-216
- Aurióles-Gamboa, D. 1992. Inshore-offshore movements of pelagic red crabs Pleuroncodes planipes (Decapoda, anomura, galatheidae) off the pacific coast of Baja California Sur, México. Crustaceana, 62 (1): 71-84.
- Baduia-Dergal, Salvador. 1981. Química de los alimentos. Capítulo 3: Proteínas. Ed. Alhambra mexicana. 430 p.
- Barlow, S. 1989. Fishmeal-World outlook to the year 2000. Fish Farmer, October 1989, 40-43.
- Bautista, M.N. 1986. The response on Penaeus monodon juveniles to varying protein/energy rations in test diets. Abstrac. Aquaculture; Vol. 53, No. 3-4: 229-242.
- Bolin, D.W., King, R.P. y Klosterman, E.W. 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr₂O₃) when used as an index substance. Science, December 5, 116: 634-635.

- Borgstrom, G. 1961. Fish as food. Vol. II. Nutrition, sanitation and utilization. Academic Press. London.
- Botting-Charles, C. 1992. Extrusion technology in aquaculture feed processing. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Thailand and Indonesia. September 19-25, 1991. 129-137.
- Brand, C.W y Colvin, L.B. 1977. The use of single cell protein in compounded diets for early post-larval penaeid shrimp. Proceedings of the Eighth Annual Workshop World Mariculture Society. San José, Costa Rica, 811-820.
- Carlow, P. y Fletcher, C.R. 1972. A new radiotracer technique involving ^{14}C and ^{51}Cr , for estimating the assimilation efficiencies of aquatic primary consumers. *Oecologia*, 9:155-170
- Casillas, H.R. y Magallón, B.F. 1988. Substitución de insumos tradicionales en las dietas para la engorda del camarón. Informe Interno. Centro de Investigaciones Biológicas de B.C.S., México.
- Catacutan, Mae R. 1991. Apparent digestibility of diets with various carbohydrate levels and the growth response of Penaeus monodon. *Aquaculture*, 95:89-96

-Choe, S. 1971. Body increases during molt and molting cycle of the oriental brown shrimp Penaeus japonicus. Marine Biology 9: 31-37.

-Chun, C.L. y Sun, P.B. 1993. In-vitro digestibility simulating the proteolysis of feed protein in the midgut gland of grass shrimp (P. monodon). Aquaculture, 109: 59-70.

-CICTUS. 1986. El cultivo del camarón azul (Penaeus stylirostris, Stimpson). Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora. 126 p.

-Civera-Cerecedo, Roberto. 1989. Effets du phytate de sodium sur la croissance et la mineralisation de divers tissus de crevettes Peneides (Crustacea: Decapoda). Role de ce composant en tant que source de phosphore et d'inositol. Tesis de Doctorado de la Universidad de Bretaña Occidental, Francia. 153 p.

-Clark, D.J., Lawrence, A.L. y Swakon, D.H.D. 1993. Apparent chitin digestibility in penaeid shrimp. Aquaculture, 109: 51-57.

-Colvin, P. 1976. Nutritional studies on penaeid prawns: protein requirements in compounded diets for juvenile Penaeus indicus (Milne Edwards). Aquaculture, 7: 315-326.

- Condrey-Richard, E., Gosselink-James, G., y Bennett-Harry, J. 1972. Comparison of the assimilation of different diet by Penaeus setiferus and P. aztecus. Fishery Bulletin Vol. 70: 1281-1292.
- Cruz-Suárez, L.E. 1991. Nutrición y alimentación del camarón. Acuavisión. Revista Mexicana de Acuicultura. pp. 32-34. -- --
- Cruz-Suárez, L.E., Alonso-Martínez, G., y Rique, D. 1990. Utilization of cricket meal (Petophylla beltrani) as a protein source for shrimp feeds. The Crustacean Nutrition Newsletter, Vol. 6. No.1 March 16. Editors: John D. Castell y Kenneth E. Corpron, 5-7.
- Cruz-Suárez, L.E., Robledo-De León, R. y Rique, D. 1992. Evaluation of tuna by-products meal as a protein source for Penaeus vannamei shrimp feed in a controlled environment. Abstract Aquaculture'92, Orlando, Florida May 21-25, 1992.
- Deshimaru, O. y Shigeno, K. 1972. Introduction to the artificial diet for prawn Penaeus japonicus. Aquaculture 1: 115-133.
- Dominy, W.G. y Ako, H. 1988. The utilization of blood meal as a protein ingredient in the diet of the marine shrimp Penaeus vannamei. Aquaculture. Vol. 70, No. 3, pp. 289-299.

-Ehrarhdt, N.E. y Ramirez, P. 1982. Evaluación de los recursos demersales accesibles y redes de arrastre de fondo en la Península de Baja California, México durante 1979 y 1980. INP. Serie Científica 23:10-46.

-Ellis, J.N. 1979. The use of natural and synthetic carotenoids in the diet to color the flesh of salmonids. Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Vol. II: 353-364.

-Fenucci, J.L. 1988. Manual para la cría de camaranos Penéidos. Programa Cooperativo Gubernamental. FAO-ITALIA. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil. 88 p.

-Fenucci, J.L., Casal de Fenucci, A., Lawrence, A.l. y Zein-Eldin, Z. 1982. The assimilation of protein and carbohydrate from prepared diets by the shrimp, Penaeus stylirostris. J. World Mariculture, Vol.13, 134-145.

-Flores-Campaña, L.M. 1990. La problemática del cultivo de camarón en Sinaloa. INTER Coordinación General de Investigación y Postgrado, U.A.S. Año 1, Vol. 1, No. 1. Agosto, 11-17.

-Forster, J.R.M. y Gabbott, P.A. 1971. The assimilation of nutrients from compounded diets by the prawns Palaemon serratus and Pandalus platyceros. J. Mar. Biol. Ass., UK, 51: 943-961.

-Fox, C.J. 1993. The effect of dietary chitin on the growth, survival and chitinase levels in the digestive gland of juvenile Penaeus monodon (Fab.). *Aquaculture*, 109: 39-49.

-Gallardo-Navarro, Y. 1975. Aprovechamiento integral de la "Langostina" Pleuroncodes planipes. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México, D.F. 127 p.

-Gamez-Eternod, S. y de la Lanza E., Guadalupe. 1992. Análisis del estado de la camaronicultura en México hasta el año de 1991.

-García-Carreño, F.L. 1992. The digestive proteases of langostilla (Pleuroncodes planipes, Decapoda): Their partial characterization and the effect of feed on their composition. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 103B, No. 3, pp. 575-578.

-García, T. y Jaime, B. 1990. Utilización de la harina de lombriz de tierra (Eudrilus eugeniae) en la alimentación de post-larvas del camarón blanco, Penaeus shmitti. *Revista de Investigaciones Marinas. Universidad de la Habana.* Vol. XI, No. 2, pp. 147-155.

-Goldblatt, M.J., Conklin, D.E. y Brown, W.D.; 1980. Nutrient leaching from coated crustacean rations. *Aquaculture*, 19: 383-388.

-Higuera de la, M. 1985. Fuentes de proteína y de energía alternativas en acuicultura. Seminario sobre Avances Tecnológicos y Necesidades en Acuicultura. Asociación Americana de la Soya. Madrid. 1-8.

-Holland, K.N. y Borski, R.J. 1993. A palatability bioassay for determining ingestive stimuli in the marine shrimp Penaeus vannamei. Aquaculture, 109:105-164.

-Kanazawa, A., Shimaya, M., Kawashi, M. y Kashiwada, K. 1970. Nutritional requirements of prawn. I. Feeding on artificial diets. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 36:949-954.

-Kato, S. 1974. Development of the Pelagic Red Crab (Galatheididae, Pleuroncodes planipes) fishery in the Eastern Pacific Ocean. Marine Fisheries Review, Vol. 36 No.11: 1-9.

-Kearns, J.P. 1990. Método Wenger para la extrusión de alimentos acuícolas. Memorias del seminario: Extrusión en alimentos balanceados. Guadalajara, Jalisco Méx. pp. 56-89.

-Kitabayashi, K., Kurata, H., Shudo, K., Nakamura, K. y Ishikawa, S. 1971. Studies of formula feed for kuruma prawn I: On the relationship among glucosamine, phosphorus and calcium. Bulletin of Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, 65: 91-107.

-Latscha, T. 1990. The role of astaxanthin in shrimp pigmentation. Abstract. Advances in tropical aquaculture; Workshop held in Tahiti, French Polynesia, February 20 - March 4, 1989. pp. 319-325; Actes Colloques. IFREMER., No. 9.

-Lee, D. 1970. Study on digestion and absorption of protein in artificial feeds by four species of shrimps. China Fish. Monthly, 208: 2-4.

-Lee, G. Phillip y Lawrence L. Addison. 1985. Effects of diet and size on growth, feed digestibility and digestive enzyme activities of the marine shrimp, Penaeus setiferus Linnaeus. J. World Maricul. Soc. 16:275-287.

-Lied, E., Julshamn, K. y Braekkan, O.R. 1982. Determination of protein digestibility in atlantic cod (Gadus morhua) with internal and external indicators. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39:854-861.

-Lim, c. y Dominy, W. 1990. Evaluation of soybean meal as a replacement for marine animal protein in diets for shrimp. Aquaculture, 87:53-63.

-Lobato, G.P. 1990. Estudios de caso sobre los aspectos sociales que inciden en la difusión, asimilación y desarrollo de las tecnologías de cultivo de ostión en el Golfo de México, y de cultivo de camarón, en el estado de Sinaloa. Proyecto SEPESCA/FAO/PNUD/MEX/87/018, 15 p.

-Millán-Martínez, A.A. 1992. Efecto de la sustitución de las harina de camarón pescado y soya por harina de langostilla (Pleuroncodes planipes) en el crecimiento y supervivencia de post-larvas de Penaeus californiensis (Holmes, 1900) (DECAPODA: PENAEIDAE). Tesis para obtener el título de Biólogo. Univesidad Simón Bolívar. México, D.F. 104 p.

-New, M.B. 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture*, 9: 101-144.

-New, M.B. 1987. Feed and feeding of fish and shrimp. A manual of the preparation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture. FAO., Rome, 275 p.

-Nose, T. 1964. Protein digestibility of several diet in cray and prawn fish. *Bull. Freshwater Fish Res. Lab. (Tokyo)*, 14:23-28.

-Penaflores, V. 1989. An evaluation of indigenous protein sources as potential component in the diet formulation for tiger prawn, Penaeus monodon, using essential amino acid index (EAAI). Abstrac. Aquaculture. Vol. 83, No. 3-4: 319-330.

-Pierce, W. R., Van der Veen, J. y Olcott, H.S. 1969. Proximate and lipid analyses of Krill (Euphausia species) and Red Crab (Pleuroncodes planipes). J. Agr. Food Chem. Vol. 17, No. 2, Mar-Apr., pp 367-369.

-Possompes, B.P. 1973. Influence de la température sur les besoins en protéines, le transit alimentaire et la digestibilité chez la truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri R). Thèse de 3e cycle, Université de Paris, 70p.

-Rosenberry, B. 1990. World Shrimp Farming. About Shrimp Farming. Published by Aquaculture Digest. January 1991. Pag. 2-3.

-Ruiz de la Rosa, G. y Tapia Verduzco, V. 1991. Camarón que no madruga. Panorama Pesquero Vol.1 No. 4 y 5, Pags. 33-37.

-Serrano-Padilla, A.V. y Aurióles-Gamboa, D. 1992. Dimorfismo sexual de la langostilla Pleuroncodes planipes Stimpson, 1860 (Crustacea: Decapoda: Galatheididae). Proceedings of the San Diego Society of Natural History. No. 13:1-5.

- Smith, L.L., Lee, P.G., Lawrence, A.L., Strawn, K. 1983. Influence of Protein and Source on Growth and Assimilation Efficiency by Penaeus vannamei Boone. 11st. International Conference on Warm Water Aquaculture Crustacea. February 9-11, 1983. 459-470.
- Smith, L.L., Lee, P.G., Lawrence, A.L., y Strawn, K. 1985. Growth and digestibility by three sizes of Penaeus vannamei Boone: effects of dietary protein level and protein source. *Aquaculture*, 46: 85-96.
- Spinelli, J. y Mahnken, C. 1978. Carotenoid deposition in pen-reared salmonids fed diets containing oil extracts of red crab (Pleuroncodes planipes). *Aquaculture* 13:213-223.
- Spyridakis, P., Metaller, R., Gabaudan, J. y Riaza, A. 1989. Studies on Nutrient Digestibility in European Sea Bass (Dicentrarchus labrax) 1. Methodological Aspects Concerning Faeces Collection. *Aquaculture*, 77:61-70.
- Tacon, G.J.A. 1990. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Argent Laboratories Press. Redmond, Washington, U.S.A. 454 p.

- Tan, R.K.H. 1991. Pelletinf of shrimp feeds. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, Thailand and Indonesia. September 19-25, 1991. 138-148.
- Teshima, S. y Kanazawa, A. 1976. Variation in Lipid Classes during the molting cycle of a shrimp. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 42(10): 1129-1135.
- Teshima, S. y Kanazawa, A. 1983. Digestibility of dietary lipids in the prawn. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49: 963-966.
- Tinsley, A.M., Soifer, N.L., Kern, J.M. y Weber, C.W. 1984. Housefly meal as a protein source for controlled environment aquaculture shrimp. Nutrition Reports International. Vol.29 (2): 405-410.
- Treece, G.D. y Yates M.E. 1990. Laboratory manual for the culture of penaeid shrimp larvae. Texas A&M University, Sea Grant College Program. 95 p.
- Van Olst, J.C., Ford, R.F., Carlberg, J.M. y Durban, W.R. 1976. Use of thermal effluent in culturing the american lobster. Power Plant Heat Waste Utilization in Aquaculture-Workshop I 1976. 71-100.

-Vergara-Castillo, V. y de la Garza-Montaño, C. 1988. La Nutrición en la producción acuícola. Acuavisión, Revista Mexicana de Acuicultura. No. 14 Mayo-Junio. 29-31.

-Villarreal, H. y Castro, M.P. 1992. Preliminary studies on the effect of protein content on the growth of Penaeus vannamei at marine salinities. Abstract publicado en Aquaculture'92, Orlando, Fla. May 21-25, 1992.

-Villarreal, H., Rivera, M.C. y Millán, A. 1990. Effect of the substitution of shrimp meal, fish meal and soy meal for red crab (Pleuroncodes palnipes) meal in the growth of post-larvae and juvenile Penaeus californiensis. The Crustacean Nutrition Newsletter, Vo. 6. No.1, March 16. Editors: John D. Castelly, Kenneth E. Corpron, 9-19.

-Waterman, T.H. y Chaco, F.A. Jr., 1960. General Crustacean Biology. In the Physiology of Crustacea, Edited by T.H. Waterman, New York, Academic Press. Vol. 1: 33-37.

-Weiner, D. y Rosenberry, B. 1992. World shrimp farming. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Orlando, Florida. May 22-25, 1992. Ed. James Wyban. 1-21.

-Wheaton, F.W. 1977. Aquaculture Engineering. John Wiley and Sons, New York. 708p.

-Wilkie, W.D. 1972. The carotenoid pigmentation of Pleuroncodes planipes Stimpson (Crustacea:Decapoda:Galatheidae). Short Communication. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 42B, 731-734.

-Wortman, B. y Wheaton, F. 1991. Temperature effects on biodrum nitrification. Aquacultural Engineering 10:183-205.

1. APENDICE

1. Determinación de humedad

Método de diferencia de peso

- 1) Pesar con exactitud de 2 a 5g de muestra en una cápsula de porcelana previamente puesta a peso constante
- 2) Colocar la cápsula con su contenido en la estufa a 105°C y desecar durante cuatro horas
- 3) Retirar la cápsula y enfriar en un desecador por treinta minutos y pesar
- 4) Volver a colocar la cápsula en la estufa y desecar nuevamente otros treinta minutos, enfriar y pesar
- 5) Continuar la desecación hasta alcanzar un peso constante

$$(A - B)$$

$$\% \text{ Humedad} = \text{-----} \times 100$$

A

En donde:

A = Peso inicial de la muestra (g)

B = Peso final de la muestra (g)

2. Determinación de proteína total

Método de micro-Kjeldhal (A.O.A.C. 1984)

- 1) Pesar 0.1g de muestra seca, o bien, 5ml de muestra líquida
- 2) Pesar 2.55g de sulfato de potasio
- 3) Pesar 0.05g de óxido de mercurio
- 4) Agregar a la muestra 2.5 ml de ácido sulfúrico concentrado
(a razón de 0.1ml/ 20mg utilizados a partir de 15mg)
- 5) Digerir la muestra en la parrilla de calentamiento
- 6) Una vez que se a cristalizado la muestra digerida, mantener la perilla de temperatura durante treinta minutos
- 7) Llevar a destilar la muestra en el aparato de destilación, en donde:
 - a) Vaciar la muestra por el embudo (lavar con agua dos veces con 2ml cada vez)
 - b) Agregar 15ml de NaOH-Tiosulfato de sodio
 - c) Recibir la muestra destilada en ácido bórico al 5%
 - d) Titular con HCl 0.02 N

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(V_1 - V_0) \times (N) \times (0.014)}{M} \times 100$$

V_1 = Volúmen gastado de HCl en la titulación de la muestra (ml)

V_0 = " " " " " del blanco (ml)

N = Normalidad del ácido utilizado

W = Peso de la muestra (g ó ml)

$$\% \text{ PROTEINA} = (\% \text{ Nitrógeno}) (6.25)$$

3. Determinación de extracto etéreo

Método de Soxhlet

Para este método es recomendable usar la muestra seca ya que al tener agua también sería extraído junto con sustancias hidrosolubles alterando considerablemente el resultado.

- a) Pesar de 1 a 2 gramos de muestra seca en un cartucho de papel filtro.
- b) Colocar el cartucho con su contenido en la cámara central con sifón del aparato de Soxhlet.
- c) Sacar de la estufa un matraz de cuello esmerilado de 250ml de capacidad (previamente seco durante 2 hr a una temperatura de 100-110°C) y después de enfriarlo en desecador, pesarlo.
- d) Poner en el matraz 40ml de éter de petróleo y 40ml de éter etílico y ensamblar en la columna del soxhlet
- e) Extraer a reflujo durante 5 horas
- f) Secar el cartucho con la muestra en la estufa
- g) Pesar

determinación de lípidos Extracción metanol-cloroformo (2:1)

- 1) Pesar 0.5g de muestra
- 2) Adicionar 2ml de metanol y 1ml de cloroformo
- 3) Agitar perfectamente con la ayuda de un vortex
- 4) Guardar durante 24 horas a 5°C
- 5) Centrifugar a 2500rpm a 5°C durante 10 minutos
- 6) Separar la pastilla del sobrenadante. Guardar el sobrenadante
- 7) Lavar la pastilla con una mezcla metanol-cloroformo (2:1)
- 8) Agitar perfectamente con la ayuda de un vortex
- 9) Separar la pastilla del sobrenadante. Guardar el sobrenadante junto con el obtenido en el paso 6.
- 10) Repertir los pasos 6 al 9 hasta que el sobrenadante sea una mezcla incolora.
- 11) Agregar agua al sobrenadante acumulado, a razón de 1:2
- 12) Agitar con la ayuda de un vortex
- 13) Centrifugar a 2500rpm a 5°C durante 10 minutos
- 14) Separar el cloroformo (introduciendo la pipeta burbujeante al fondo y tomar los lípidos)
- 15) Lavar el residuo con cloroformo
- 16) Agitar bien con la ayuda de vortex
- 17) Centrifugar a 2500rpm a 5°C durante 10 minutos
- 18) Repetir los pasos 15 a 17 hasta obtener al cloroformo incoloro

- 19) Tomar los sobrenadantes acumulados y agregarles sulfato de sodio para atrapar el agua restante
- 20) Filtrar (En papel filtro poner Na_2SO_4)
- 21) Hacer lavados con cloroformo. Cuidar que el filtrado no contenga agua ni sulfato de sodio, en caso de estar presente cualquiera de los dos, volver a filtrar
- 22) Evaporar en rotavapor
- 23) Recuperar el concentrado con el menor volúmen de cloroformo posible
- 24) Pasar la muestra a un vial
- 25) Secar con nitrógeno
- 26) Pesarse la muestra seca

4. Determinación de fibra cruda

Fibra cruda es el residuo orgánico combustible e insoluble que queda después de que la muestra se ha tratado en condiciones determinadas (Análisis Químico de Alimentos, Capítulo 2. Métodos Químicos Generales).

- a) Tomar la muestra del extracto etéreo o desgrasarla (2 gr). De lo que quedó después de desgrasar la muestra en el Soxhlet.
- b) Transferir a un matraz balón (evitar la contaminación con la fibra de papel o algodón)
- c) Agregarle al matraz 200 ml de ac. sulfúrico 1.25% (0.255 N) y unas gotas de octanol (antiespumante)
- d) Colocar en la parrilla y dejar hervir 30 min. Girar periódicamente para evitar que los sólidos se adhieran a las paredes del matraz.
- e) Quitar el matraz y filtrar a vacío en caliente
- f) Enjuagar ahí mismo con agua caliente (50-70 ml)
- g) Lavar el residuo tantas veces sea necesario hasta que las aguas tengan un pH igual al del agua destilada
- h) Transferir el residuo al matraz balón con ayuda de 200 ml de NaOH 1.25% hirviendo y dejar hervir 30 min. igual que al principio.
- i) Quitar el matraz y filtrar a vacío con papel # 40 de peso conocido y cenizas conocidas.
- j) Lavar con agua caliente

k) Transferir el residuo con todo y papel a un crisol o cápsula a peso constante y secar a 130°C durante 2 hr.

- Enfriar y pesar cápsula y papel con muestra por separado
- Calcinar al mechero y después se mete a la mufla por 4 horas
- Enfriar y pesar

$$\% \text{ F.C.} = (P_s - P_p) - (P_c - P_{cp}) \times 100 / M$$

P_s = Peso en gramos del residuo seco a 130°C

P_p = " del papel filtro

P_c = " de las cenizas

P_{cp} = " de las cenizas y el papel

M = " de la muestra

5. Determinación de energía

El valor calórico del material ecológico se reportó en base al material seco, esto es, el número de calorías que contiene cada gramo del material analizado libre de humedad.

Debido a la pequeña cantidad de heces fecales fue necesario utilizar un "vehículo" combustible con la muestra, ya que de otro modo no podrá quemarse en la bomba calorimétrica. Obviamente debe conocerse tanto el valor calórico como la cantidad de "vehículo añadido a la muestra para posteriormente hacer la corrección que permita obtener el valor calórico exclusivo de la muestra. Se empleó como "vehículo" al ácido salicílico, el cual tiene un valor calórico de aproximadamente 5.235 kcal/g.

El método a seguir es el siguiente:

- a) Moler la muestra finamente en un mortero y secarla durante 24 horas a 65°C, para luego pasarla a un desecador mientras se enfría;
- b) Pesar alrededor de 1.2 gramos de la muestra desecada;
- c) Añadir alrededor de 3 gramos de ácido salicílico previamente secados y pesados con exactitud;
- d) Hacer la mezcla de los dos ingredientes hasta obtener un polvo homogéneo;

- e) Hacer 3 pesadas de la mezcla muestra-ácido salicílico y 2 del ácido salicílico puro, de alrededor de 1 gramo cada una y pastillarlas;
- f) Secar las pastillas durante 24 horas a 65°C y luego pasarlas a un desecador donde se conservan hasta el momento de su uso.

Determinación del Contenido Calórico.

Para hacer estas determinaciones se empleo un Calorímetro Adiabático marca PARR, junto con una unidad que permite su funcionamiento automático llamada Master Control Unit de la misma marca.

Para la determinación del contenido calórico de las muestras se siguieron los pasos descritos en el manual del usuario del Calorímetro Adiabático marca PARR.

Valor calórico de la mezcla (Em) = cal/g

Valor calórico del vehículo (Ev) = cal/g

Contribución del vehículo en Em :

$$(Ev) (\text{Fracción de ácido en la mezcla [fv]}) = \text{cal/g}$$

Contribución de la muestra en Em :

$$Em - (Ev) (fv) = \text{cal/g}$$

Valor calórico de la muestra (Es) :

$$Em - (Ev) (fv)$$

$$Es = \frac{\text{Em - (Ev) (fv)}}{\text{Fracción de muestra en la mezcla}} = \text{cal/g peso seco}$$

Fracción de muestra en la mezcla

6. Determinación de cenizas

Se denomina así al residuo fijo, seco, que queda después de calcinar a 550°C en mufla, una muestra de cualquier material alimenticio, que representa el material mineral contenido en la misma (durante la incineración se eliminan todas las sustancias orgánicas contenidas en el alimento) y que al final queda con una coloración gris o blanco. A más de 600°C hay volatización de algunos componentes minerales tales como los cloruros.

Procedimiento:

1. Pesar 5 g de muestra sólida o tomar 25 ml de muestra líquida (puede servir el residuo al que se le ha determinado humedad en estufa), en una cápsula de evaporación de porcelana previamente puesta a peso constante a 500°C.
2. Si la muestra es de naturaleza líquida evaporar el agua sobre baño maría. Añadir 1 ml de solución de etanol-glicerol 1:1.
3. Carbonizar sobre llama de mechero bunsen, gradualmente hasta obtener una masa carbonosa.
4. Incinerar a 550-570°C (para quemar completamente el carbón) durante 1 hora.
5. Retirar la cápsula, colocarla durante 30 minutos en la estufa (para bajar la temperatura) y enfriar en un desecador durante otros 30 minutos. Pesar.
6. Incinerar durante otros 15 minutos y volver a pesar después de enfriar. Repetir si se observa una disminución significativa de peso.

$$\% \text{ Cenizas} = (D - B) / m \times 100$$

B = Peso de la cápsula en gramos

D = " cápsula más cenizas en gramos

m = " muestra en gramos o mililitros según sea el
caso.

7. Determinación de óxido crómico.

Método simplificado para determinar óxido crómico.

Donald W. Bolin, Richard P. King and Earle W. Klosterman
Science, Vol. 116, 1952

Preparación del reactivo oxidante:

Disolver 10g de molibdato de sodio en 150 ml de agua destilada. Adicionarle lentamente 150 ml de ácido sulfúrico concentrado. Enfriar y adicionar 200ml de ácido perclórico (70-72%) y mezclar profusamente.

Procedimiento analítico:

Transferir 100-500mg de muestra conteniendo de 1 a 5% de óxido crómico, la cual se tamiza a través de un tamiz de malla 40, a un matraz Kjeldhal de 100ml (calibrado a 100 ó 110 ml). Añadir 5ml del reactivo oxidante, de manera tal que lave cualquier partícula adherida a los lados del matraz. Calentar el matraz en el digestor. La oxidación empieza en 1 o 2 minutos. Dejar digerir la muestra hasta obtener una mezcla clara. En la oxidación de algunas muestras, partículas negras se adhieren al cuello y lados del matraz. En estos casos, girar el matraz 180°, seguir digiriendo la muestra por dos o tres minutos más. Apague el digestor y adicione 2ml de ácido perclórico (70-72%) a la mezcla y vuelva a calentar. Enfriar lentamente y adicionar 50ml de agua destilada. Enfriar a temperatura ambiente y aforar el

matraz Kjeldahl a su volumen calibrado. Transferir la solución del matraz Kjeldahl a un tubo colorimétrico y leer en espectrofotómetro a 440μ .

Preparar una curva estandar por oxidación de una cantidad conocida de óxido crómico, la cual se puede usar como sustancia de referencia. Diluir el contenido a un volumen definido con agua destilada. Tomar diferentes alícuotas de esta solución y diluir con agua destilada para obtener diferentes concentraciones de óxido crómico.

APENDICE II

Tabla 8. Composición de ácidos grasos y aminoácidos presentes en la langostilla

Ac. grasos*		Aminoácidos#	
Longitud de cadena	(%)	g a.ac./100 g muestra	(%)
14 : 0	3.4	Acido aspártico	2.0
15 : 0	0.8	Tirosina	1.6
16 : 0	18.2	Serina	1.0
16 : 1	2.8	Acido glutámico	3.1
17 : 0	0.6	Prolina	1.7
18 : 0	3.9	Glicina	2.8
18 : 1	16.4	Alanina	1.8
18 : 2	2.3 @	Cisteina	0.3
18 : 3	1.6 @	Valina	2.5 @
20 : 0	Tr	Metionina	1.2 @
20 : 5	17.4 @	Isoleucina	2.5 @
22 : 1	3.2	Leucina	3.6 @
22 : 6	28.4 @	Fenilalanina	1.8 @
		Histidina	1.8 @
		Treonina	1.1 @
		Lisina	4.0 @
		Arginina	2.5 @
		Triptofano	0.4 @

* Fuente: Pierce et al. (1969).
Fuente: Millán (1992).
@ Esenciales para camarones penéidos (Akiyama y Dominy, 1989).
Tr Traza, menor de 0.5%

