

24

“Efecto de la rancidez de lípidos en la digestibilidad aparente del camarón blanco *Penaeus vannamei* (Boone)”

Autor: Pablo Valadez González  
Licenciatura en Biología

“Premio a la mejor tesis 1999”  
Asesor: Dra. L. Elizabeth Cruz Suárez

TL  
SH380  
G61  
c.1

TL

SH380

G61

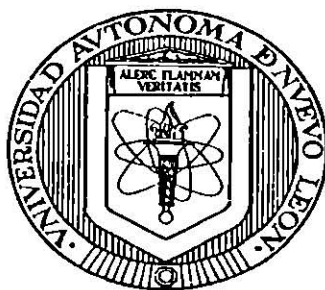
c.1



1080098286

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**EFECTO DE LA RANCIDEZ DE LÍPIDOS EN LA  
DIGESTIBILIDAD APARENTE DEL CAMARÓN BLANCO,  
*PENAEUS VANNAMEI* (BOONE).**

**TESIS**

**QUE EN OPCIÓN AL TÍTULO DE**

**BIOLOGO**

**PRESENTA**

**PABLO GONZALEZ VALADEZ**

**SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N.L.**

**JULIO DE 1998**



T  
SH 380  
1967



## INDICE

<b>INDICE</b> .....	<b>IV</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>VII</b>
<b>INTRODUCCION</b> .....	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>2</b>
<b>I.- DIGESTIBILIDAD APARENTE</b> .....	<b>2</b>
<b>I.1 Métodos para Estimar la Digestibilidad.</b> .....	<b>2</b>
<b>I.1.1 Método Directo o Método Gravimétrico.</b> .....	<b>2</b>
<b>I.1.2 Método Indirecto o con Marcadores.</b> .....	<b>3</b>
<b>I.2 FACTORES QUE AFECTAN LOS COEFICIENTES DE DIGESTION.</b> .....	<b>6</b>
<b>I.3 ASPECTOS DE LIXIVIACION</b> .....	<b>6</b>
<b>II. DIGESTIBILIDAD APARENTE DE PROTEINA</b> .....	<b>6</b>
<b>III . DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LIPIDOS</b> .....	<b>9</b>
<b>III.1 OXIDACION DE LOS ACEITE DE PESCADO</b> .....	<b>10</b>
<b>III.2 FACTORES QUE ORIGINAN OXIDACIÓN</b> .....	<b>13</b>
<b>IMPORTANCIA</b> .....	<b>15</b>
<b>OBJETIVO</b> .....	<b>15</b>
<b>HIPOTESIS</b> .....	<b>15</b>
<b>MATERIAL Y METODO</b> .....	<b>16</b>
<b>I. FORMULACION DE LA DIETA BASE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>16</b>
<b>II. DIETAS EXPERIMENTALES</b> .....	<b>17</b>
<b>III. ANALISIS BROMATOLOGICOS</b> .....	<b>17</b>
<b>IV. SALA DE BIOENSAYO</b> .....	<b>18</b>
<b>V. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS</b> .....	<b>18</b>
<b>VI. ORGANISMOS</b> .....	<b>18</b>
<b>VII. DISTRIBUCION</b> .....	<b>18</b>
<b>VIII. BIOENSAYO DE DIGESTIBILIDAD</b> .....	<b>19</b>
<b>IX. APARATOS UTILIZADOS DURANTE EL TRABAJO DE LABORATORIO</b> .....	<b>20</b>
<b>IX.1 Equipo para la técnica de óxido de cromo y proteína</b> .....	<b>20</b>
<b>IX.2 Equipo para la técnica de determinación lípidos</b> .....	<b>20</b>
<b>IX.3 Reactivos</b> .....	<b>20</b>
<b>X. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÓXIDO DE CROMO Y DE PROTEÍNA EN DIETAS Y HECES</b> .....	<b>21</b>
<b>XI. CURVA STANDARD DE ÓXIDO DE CROMO</b> .....	<b>21</b>
<b>XII. DETERMINACION DE LÍPIDOS</b> .....	<b>23</b>
<b>XIII. ANALISIS ESTADISTICO</b> .....	<b>23</b>

<b>RESULTADOS .....</b>	<b>24</b>
I. ANÁLISIS PROXIMAL .....	24
II. PARAMETROS FISICO--QUIMICOS.....	25
III. DIGESTIBILIDAD APARENTE.....	25
III.1 EFECTO DEL GRADO DE OXIDACIÓN DEL ACEITE DE PESCADO Y DE LA SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E. ....	25
III.1.1 DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA.....	26
III.1.2 DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS.....	28
III.1.3 DIGESTIBILIDAD DE PROTEINA.....	30
III.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN O NO DE VITAMINA E Y DE LA SUPLEMENTACIÓN O NO CON ANTIOXIDANTE SINTÉTICO ETOXIQUIN (ETQ). ....	32
III.2.1 DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA.....	33
III.2.2 DIGESTIBILIDAD DE LIPIDOS.....	35
III.2.3 DIGESTIBILIDAD PROTEICA.....	37
<b>DISCUSIONES .....</b>	<b>39</b>
I. ANALISIS DE LAS DIETAS .....	39
II. METODO PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD APARENTE.....	39
II.1 TÉCNICA DE ÓXIDO DE CROMO .....	39
II.2 METODO BLIGH & DYER.....	40
III. DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA.....	40
IV. DIGESTIBILIDAD DE LIPIDOS.....	41
V. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEINA .....	43
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>44</b>
<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>45</b>

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1.- CUADRO DE COMPOSICION DE LA DIETA BASE .....	16
TABLA 2.- DIETAS EXPERIMENTALES. ....	17
TABLA 3.-VALORES OBTENIDOS PARA LA CURVA ESTÁNDAR DE OXIDO DE CROMO. ....	22
TABLA 4.-ANÁLISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (% BASE SECA) .....	24
TABLA 5.-PARAMETROS FISICO-QUIMICOS .....	25
TABLA 6.-DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
TABLA 7.-RESULTADOS PROMEDIOS DE DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA.	26
TABLA 8.-RESULTADOS PROMEDIOS DE LA DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS.....	28
TABLA 9.-RESULTADOS PROMEDIOS DE LA DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNA ..	30
TABLA 10.-DISEÑO EXPERIMENTAL.....	32
TABLA 11.-RESULTADOS PROMEDIOS DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA. ....	33
TABLA 12.-RESULTADOS PROMEDIOS DE LA DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS.....	35
TABLA 13.-RESULTADOS PROMEDIOS DE LA DIGESTIBILIDAD DE PROTEÍNA.	37

## INDICE DE FIGURAS

FIGURE 1.-CURVA DE ÓXIDO DE CROMO AJUSTADA.....	22
FIGURE 2.-PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA .....	27
FIGURE 3.-PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS.....	29
FIGURE 4.-PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA .....	31
FIGURE 5.-PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA. ....	34
FIGURE 6.-PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS.....	36
FIGURE 7.-PORCENTAJE DE DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEÍNA .....	38

## INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 DIAGRAMA 1.-TECNICA DE DETERMINACION DE PROTEINA	
DIAGRAMA 2.- TECNICA DE DETERMINACION DE LIPIDOS.....	50
ANEXO 2 SALA DE BIOENSAYO.....	51
ANEXO 3 MATRIZ DE DATOS EN ARCHIVO SPSS .....	51
ANEXO 4 ANALISIS ESTADISTICOS .....	53

## RESUMEN

Se ha demostrado que el grado de oxidación de los aceites de pescado utilizados en dietas para camarón, así como el suplemento de antioxidante, tanto naturales como la Vitamina E o artificiales como el ETQ tienen un efecto sobre el crecimiento y/o sobrevivencia del camarón. Para fines prácticos es importante también conocer el efecto de esos factores sobre la digestibilidad del alimento y de sus principales nutrientes, ya que son datos de importancia para formular dietas eficientes.

En el presente trabajo, se utilizaron 8 dietas conteniendo 1 % de óxido de cromo como marcador. Las variables que diferenciaban esas dietas era el nivel de oxidación del aceite de pescado y la inclusión de Vitamina E y/o Etoxiquin (ETQ). Se realizaron 3 bioensayos de digestibilidad, utilizando postlarvas de *Penaeus vannamei*, seleccionándose 84 camarones para cada replicado en el tiempo, cuyos pesos promedios fueron 1.07, 1.08 y 1.12g, respectivamente, con 7 organismos por tratamiento. El método utilizado para la recolección de heces fue el de sifoneo, por su simplicidad y la corta exposición de las excretas con el agua, evitando su lixiviación.

Las dietas evaluadas se dividieron en 2 grupos para sus análisis estadísticos, en cuyo primer grupo se encontraban las dietas 1, 2, 3, 4, 6 y 8 para los factores grado de oxidación del aceite de pescado (fresco, PV= 6.1meq/Kg; Medio, PV= 50.5 meq/Kg ; alto, PV= 100.3 meq/Kg) y la suplementación con Vitamina E (0 y 100 mg/Kg). En el segundo grupo se encontraban agrupadas las dietas 5, 6, 7 y 8, cuyos factores evaluados en este análisis fueron la presencia de Vitamina E con 2 niveles de inclusión (0 y 100 mg/Kg) y Etoxiquin con 2 niveles de inclusión (0 y 130 mg/Kg). Todas éstas dietas contenían aceite altamente oxidado (PV= 100.3 meq/Kg).

Los valores de materia seca para el primer grupo fueron 91.82%, 91.38%, 91.09%, 92.07%, 92.31% y 90.88%, respectivamente. No encontrando diferencias significativas en el ANOVA de vía simple ( $P=0.648$ ). En tanto para los lípidos el ANOVA de vía simple no detectó diferencias, teniendo digestibilidades de 91.82%, 91.38%, 91.09%, 92.07%, 92.31% y 90.88% respectivamente, aunque el análisis bifactorial sólo detectó diferencias altamente significativas ( $P=0.000$ ) para la interacción de estos factores, muy similar fue el comportamiento de la digestibilidad de la proteína con los lípidos, observándose que no existen diferencias significativas ( $P=0.228$ ) en el ANOVA simple, pero el análisis bifactorial detectó diferencias altamente significativas ( $P=0.000$ ), con digestibilidades en las dietas de 92.32%, 91.36%, 90.99%, 92.51%, 91.82% y 92.18%, respectivamente. Un tercer factor implicado en éste análisis estadístico es el de "replicado", el cual es responsable de las diferencias altamente significativas ( $P=0.000$ ) en los resultados globales tanto para lípidos (93.12%, 91.47% y 90.20%) como para la proteína (92.89%, 91.33% y 91.39%). Los análisis estadísticos no encontraron diferencias significativas ( $P= 0.934$ ) en el ANOVA de vía simple para la materia seca, con digestibilidades promedios de 84.44%, 84.09%, 83.78% y 83.51% para cada dieta. Referente a los lípidos, se observaron diferencias



altamente significativas ( $P=0.008$ ) en el ANOVA de vía simple, detectando que la dieta 5 presentaba la digestibilidad más alta (94.61%) con respecto a las otras dietas (92.31%, 91.06% y 90.88%), así también el análisis trifactorial detecta diferencias altamente significativas cuando actúan de manera conjunta los factores Vitamina E y ETQ, pero también cuando actúan en forma individual. En tanto que para la proteína no hubo diferencia alguna en el ANOVA de vía simple ( $P= 0.688$ ) presentando digestibilidades de 91.74%, 91.82%, 91.16% y 92.18%, respectivamente. Cabe mencionar que el tercer factor también implicado en este grupo fue el de "replicado", presentando diferencias altamente significativas ( $P=0.000$ ) en lípidos y proteínas.

En conclusión ninguno de los factores estudiados afectaron la digestibilidad de las dietas

## INTRODUCCION

Actualmente la acuicultura en México y el resto de América Latina está cobrando mayor importancia. Se espera que para el año 2000 la producción mundial del camarón cultivado alcance 1 millón de toneladas métricas (Rodríguez Marin *et al.* 1996)

La nutrición del camarón es un aspecto muy importante del cultivo, debido a que el alimento está considerado como uno de los costos operacionales más elevados para la mayor parte de las empresas acuícolas, ya que representa hasta el 60 % del costo total de la producción (Rodríguez Marín, 1993)

El conocimiento de la calidad y cantidad óptimas del alimento necesario para el cultivo de los crustáceos es algo incipiente. Dicho conocimiento únicamente puede ser ampliado por medio de la determinación de los requerimientos nutricionales, así como controlando y promoviendo una mejor calidad de los ingredientes (D'Abramo y Sheen, 1996).

Con base a lo anterior se requiere de una mayor investigación sobre la digestibilidad de nutrientes en ingredientes de dietas prácticas para formular dietas efectivas, en cuanto a costo y seguras en cuanto a nutrición (Brunson y Romaine, 1996).

La harina y el aceite de pescado son los principales ingredientes en los alimentos balanceados para los peces y camarones en cultivo, ya que representan unas de las fuentes nutritivas más importantes. La harina de pescado es la principal fuente de proteína en dietas para organismos acuáticos, por presentar un alto contenido de proteínas, adecuado balance de aminoácidos, siendo particularmente rica en lisina y aminoácidos sulfurados, aunado a su buena digestibilidad. Por otro lado, los aceites de pescado aportan lípidos alimenticios y ácidos grasos esenciales, los cuales son una fuente concentrada y altamente digerible de energía.

Estos 2 ingredientes son susceptibles a la degradación oxidativa de las grasas y aceites que producen la formación de peróxidos, hidroperóxidos, radicales libres, etc. que disminuyen el valor nutritivo de los alimentos, reducen la palatabilidad, la eficiencia alimenticia y el crecimiento.

Es por ello que en el proceso de producción de estas materias primas es necesario utilizar antioxidantes para proteger los lípidos altamente insaturados, pero también los alimentos terminados deben estabilizarse y asimismo deben tener un nivel adecuado de Vitamina E, que actúe como antioxidante tisular.

En este estudio se evaluará la digestibilidad de aceites de pescado con diferentes niveles de oxidación, incluidos en dietas balanceadas.

## ANTECEDENTES

### I.- DIGESTIBILIDAD APARENTE

Se puede considerar que hasta el momento los alimentos para organismos acuáticos han sido generalmente evaluados en términos de crecimiento y de composición corporal de los animales confiriendo poca atención a la digestibilidad de los ingredientes o de las dietas compuestas (Akiyama et al 1989).

La digestibilidad aparente de un alimento corresponde a la fracción del alimento ingerido que no es encontrado en las heces (NRC, 1983; Maynard, *et al.* 1981; Manriquez, 1994; Schneider and Flatt citado por Leavitt, 1985; Lee and Lawrence, 1997), e involucra procesos tales como la masticación, solubilización y absorción de los nutrientes del alimento. Asimismo se puede expresar la digestibilidad aparente de un nutriente como la cantidad de nutriente ingerido no encontrado en las heces, se da en porciento de la cantidad de nutriente ingerido.

$$\text{Digestibilidad aparente del nutriente N (\%)} = \frac{Na - Nh}{Na} \times 100 \quad (1)$$

en donde Na es el peso de nutriente en el alimento ingerido y Nh en las heces

#### I.1 Métodos para Estimar la Digestibilidad

La digestibilidad de un nutriente puede ser estimada por 2 métodos:

##### I.1.1 Método Directo o Gravimétrico

En este método la cantidad del nutriente en el alimento ingerido (Ni) y en las heces (Nh) se calculan a partir del peso total del alimento ingerido (A) y de las heces (H):

$$Na = \frac{A \times \%Na}{100} \quad (2), \quad (3), \quad Nh = \frac{H \times \%Nh}{100}$$

%Na y %Nh son las concentraciones del nutriente estudiado en el alimento ingerido y en las heces respectivamente.

Este método implica obtener una estimación precisa de la cantidad total de alimento ingerido (A), la colecta cuantitativa del total de las deyecciones (H) y el análisis de ambos con respecto al nutriente estudiado (%Na y %Nh).

### I.1.2 Método Indirecto o con Marcadores

Para evitar las difíciles tareas de determinar con precisión las cantidades de alimento ingerido (A) y de heces (H), se pueden calcular usando un marcador inerte (M), no digerible, simplemente midiendo sus concentraciones en muestras representativas del alimento y de las heces (% Ma y % Mh, respectivamente), las cuales se relacionan con A y H mediante las ecuaciones siguientes :

$$Ma = \frac{A \times \%Ma}{100} \Leftrightarrow A = \frac{Ma \times 100}{\%Ma}$$

$$Mh = \frac{H \times \%Mh}{100} \Leftrightarrow H = \frac{Mh \times 100}{\%Mh}$$

De esta manera, A y H se expresan en función de %Ma y %Mh, que se pueden medir por análisis de las muestras de alimento y heces, y de Ma y Mh, o sea las cantidades totales de marcador ingerido en el alimento y eliminado en las heces; esas cantidades totales no son conocidas pero son precisamente idénticas ya que se trata de un marcador no digerible :  $M_i = M_h = M$ , y por lo tanto, se van a poder eliminar de la expresión final de la digestibilidad aparente, como se demuestra a continuación.

Al reemplazar A y H por su expresión en función de M en las ecuaciones (2) y (3) tenemos lo siguiente:

$$Na = \frac{M \times \%Na}{\%Ma} \quad (4)$$

$$Nh = \frac{M \times \%Nh}{\%Mh} \quad (5)$$

y finalmente al reemplazar Na y Nh en la ecuación (1), obtenemos lo siguiente:

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \frac{\frac{M \times \%Na}{\%Ma} - \frac{M \times \%Nh}{\%Mh}}{\frac{M \times \%Na}{\%Ma}} \times 100$$

en donde el termino M se simplifica, obteniendo lo siguiente

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \left(1 - \frac{\frac{\%Nh}{\%Mh}}{\frac{\%Na}{\%Ma}}\right) \times 100 \quad (6)$$

lo que es equivalente a :  $\text{Digestibilidad (\%)} = \left(1 - \frac{\%Nh}{\%Mh} \times \frac{\%Ma}{\%Na}\right) \times 100 \quad (7)$

o: es decir

$$\text{Digestibilidad (\%)} = \left(1 - \frac{\% \text{ Marcador en alimento}}{\% \text{ Marcador en heces}} \times \frac{\% \text{ Nutriente en heces}}{\% \text{ Nutriente en alimento}}\right) \times 100 \quad (8)$$

Esta última fórmula es la que se usa practicamente (Maynard, *et al* 1981; NRC, 1983). Algunos autores utilizan el término de Coeficiente de Digestibilidad Aparente o Coeficiente de Utilización Digestiva Aparente (Guillaume, 1991 in Manriquez, 1994) y en estos casos se omite el factor 100 a la fórmula y se obtiene un valor decimal inferior a 1.

En la fórmula (6), aparece claramente que el método directo de determinación de digestibilidad de nutrientes esta basado en la relación del cociente Nutriente/Marcador en las heces al cociente Nutriente/Marcador en el alimento. Para que los resultados sean confiables es necesario que el cociente Nutriente/Marcador en las heces sea constante durante toda la fase de evacuación de las heces, siendo así importante que el nutriente estudiado y el marcador se muevan con iguales velocidades en el tracto digestivo. Por ejemplo, Leavitt, (1985) reportó que el óxido de cromo incorporado al 1% en la dieta es inapropiado como marcador para el estudio de digestibilidad en *Homarus americanus* porque no se distribuye de manera homogénea en las heces. También Tacon y Rodriguez (1984) detectaron una sobreestimación de la digestibilidad de nutriente en trucha cuando usaron el óxido de cromo al 7% en la dieta, y lo atribuyen a una aceleración de la velocidad de transito del óxido de cromo usado a este nivel con respecto a niveles de 0.5 a 1%. Asimismo Austreng (1978), Windell *et al.* (1978) y Rodriguez *et al.* (1993) mencionan que se incluye el óxido de cromo en las dietas en porcentajes que van de 0.5 a 1 para que no influya en la digestión ni en la velocidad de transito.

Por otro lado Ishikawa *et al* (1996) hicieron una comparación entre marcadores utilizando óxido de cromo y 5 $\alpha$  colestano, para estimar el tiempo de evacuación de estos 2 marcadores en el tracto digestivo de *Penaeus japonicus*, además de comparar coeficientes de correlación entre los niveles de nutrientes y de marcadores en las heces a diferentes



tiempos de comida, encontraron que la evacuación de ambos marcadores en las heces inició entre 1-3 hrs después de ser alimentados, y más de la mitad de los marcadores ingeridos se excretaba dentro de las 12 hrs, excretándose más rápido el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  que el colestano. También encontraron que cerca del 100% del colestano ingerido se recobraba en las heces y en el agua marina en 96 hrs, mientras que el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  se detectó en heces hasta 24 hrs, recobrándose el 90 %. Y en cuanto a los coeficientes de correlación, encontraron correlaciones positivas entre la concentración del colestano y algunos nutrientes tales como el colesterol ( $r=0.97$ ), proteína ( $r = 0.77$ ) y carbohidratos ( $r = 0.68$ ), y para el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en colesterol ( $r =0.41$ ), proteína ( $r = 0.83$ ) y carbohidratos ( $r = 0.32$ ). Estos autores mencionan que una alta correlación indica movimiento similar del marcador (colestano) con el nutriente (colesterol) en el tracto digestivo de *P. japonicus*. En este estudio se mostró la superioridad del colestano sobre el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  como marcador en estudios de digestibilidad en lípidos dietéticos, por las siguientes razones : 1) Alta recuperación de colestano. 2) Muy baja absorción en el intestino. 3) Alta correlación en la cinética de aparición del colestano y colesterol en heces. 4) Un largo tiempo de retención en el intestino de los camarones. Por consiguiente el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  puede ser un buen marcador para estudios de digestibilidad en proteína en peneidos, pero no así para los lípidos. Por lo que una selección apropiada de un marcador puede ser de importante consideración en estudios de digestibilidad de un nutriente en particular

Otro estudio similar realizado por Sigurgisladottir *et al* (1990) en el salmón del Atlántico *Salmo salar*, mencionan también que el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  al no ser liposoluble es inapropiado para estudios de digestibilidad en lípidos. Mientras que el colestano es un marcador standard interno apropiado para determinar digestibilidades de ácidos grasos, debido a la ventaja de que puede ser medido al mismo tiempo que los ácidos grasos, distinto al  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , el cual debe ser determinado separadamente.

Mientras D' Abramo y Castell (1996) indican que antes de iniciar estudios de digestibilidad, es necesario tomar la precaución de determinar si la concentración del indicador de digestibilidad en el material fecal aumenta en el tiempo. Si es así, la colección total de heces sería el método más preciso para determinar la digestibilidad. Y que los estudios de digestibilidad deberían probablemente consistir en una evaluación tanto del marcador así como de los métodos de colecta total de las heces para asegurar el nivel de dependencia de los resultados con respecto al método.

Con respecto a los métodos de colecta Nieto (1995) evaluó la eficiencia de tres métodos de colecta de heces (Sifoneo, Filtración y Decantación ) en *Penaeus vannamei*, encontrando que en el método de decantación era muy difícil colectar las heces debido al hábito alimenticio de los camarones ya que empiezan a defecar antes de haberse terminado el alimento, por otra parte es difícil de separar las heces del alimento debido a que la densidad en ambos es muy similar. Mientras que por el Método de Sifoneo y Filtración se obtuvieron fácil y rápidamente una buena cantidad de heces, siendo ambos métodos aceptables, aunque en el método de filtración algunas heces se quedaban pegadas a la pared del cono, aumentando el tiempo de exposición de las heces en el agua, determinando así que el método de sifoneo era el más eficiente y más fácil de llevarse a cabo por las siguientes

razones : se contaba con las instalaciones adecuadas y el tiempo de tránsito intestinal del alimento en camarones de 1g es menor (1 hr) que en peces.

## **I.2 FACTORES QUE AFECTAN LOS COEFICIENTES DE DIGESTION**

Windell *et al* (1978) reportan que factores tales como temperatura del agua, talla, ración de alimento y niveles de nutrientes en la dieta pueden afectar los coeficientes de digestión.

Los valores de digestibilidad son afectados diversamente por los efectos asociativos de los constituyentes de la dieta y no por el porcentaje de cada constituyente (Schneider and Flatt, 1975 citados por Akiyama, 1986).

## **I.3 ASPECTOS DE LIXIVIACION**

Datos obtenidos por Windell *et al* (1978) indican que la lixiviación de nutrientes de las heces es mayor durante la primera hora en agua, y hasta la cuarta hora hay un incremento gradual de lixiviación de nutrientes.

Un problema asociado con la determinación de la digestibilidad aparente en ambientes acuáticos, es la lixiviación potencial de nutrientes a la previa ingestión del alimento y a la colección de heces, aunque Fenucci (1981) y Coehlo (1984) (citados por Clark, 1993) establecen que la lixiviación no tiene efectos de significancia en estudios de nutrición en camarón cuando el alimento o heces están expuestos al agua salada por menos de 2 horas. Parece que la lixiviación si puede tener un efecto sobre la cantidad de nutriente ingerido, sobre todo cuando se trata de nutrientes solubles. En el caso de nutrientes como proteína o lípidos cuya solubilidad es inferior, no se considera la lixiviación en los calculos de digestibilidad aparente

En tanto que Goldblatt *et al* (1979) (citados por D' Abramo y Castell ,1996) investigaron la lixiviación de nutrientes en dietas para crustáceos, evaluando la pérdida de materia seca total de riboflavina, Vitamina C, colina, potasio y aminoácidos libres en dietas agitadas en agua deionizada, observando una pérdida de 20 a 70 % de los diferentes nutrientes solubles en agua dentro de los primeros 20 minutos de exposición. Controlando la lixiviación cuando los pellets fueron recubiertos en una cápsula compuesta de 30 % de lípidos y 70 % de etil celulosa.

## **II. DIGESTIBILIDAD APARENTE DE PROTEINA**

Los coeficientes de digestión determinados para las muestras de heces colectadas por el método de sifoneo en *Salmo gardneri* fueron 7, 13 y 35 puntos porcentuales menos para la materia seca, proteína cruda y lípidos crudos respectivamente, que las obtenidas por la técnica de disección y succión anal (Windell *et al* ,1978).

En el estudio realizado por Rychly and Spannhof (1979) para estimar coeficientes de digestión en tres dietas experimentales con varios niveles de proteína y carbohidratos (inclusión de Proteína : 74, 58, 32% , para Carbohidratos : 9, 26 y 53% respectivamente en cada una de las dietas) en *Salmo gairdneri*, utilizando óxido de cromo como marcador inerte, encontraron que las digestibilidades aparentes proteicas, en todas las dietas fueron excelentes, presentando valores por arriba de 97.2 %, no así para la digestibilidad de la dieta total ya que disminuía con el incremento de carbohidratos y la disminución en el nivel de proteína en la dieta.

Cho y Slinger (1979) midieron coeficientes de digestibilidad de proteína y materia seca en trucha arcoiris *Salmo gairdneri* , utilizando dos métodos de colecta: Sistema Guelph y el Método de Sifoneo. Los ingredientes utilizados en este estudio fueron harina de arenque, harina de soya y la dieta de referencia. Los resultados mostraron que el sistema Guelph obtuvo coeficientes de digestibilidad de proteína de 91.2 %, 95.9% y 88.6% para cada ingrediente, mientras que para el método de sifoneo fueron de 88.2%, 91.9% y 83.7% respectivamente. En lo referente a materia seca por el sistema Guelph, la harina de arenque obtuvo 94.5% de digestibilidad, seguida de la harina de soya con 81.9% y 64.3 % para la dieta de referencia, mientras que para el método de sifoneo las digestibilidades de estos ingredientes estuvieron en 10.4, 4.3 y 10.6 puntos porcentuales por abajo.

Algunos tipos de carbohidratos reducen la digestibilidad/absorción de proteínas y aminoácidos. Storebakken (1985) así como Storebakken y Austreng (1987), reportaron que los alginatos y la goma de guar reducen la digestibilidad de proteína y grasa en trucha arco iris. Por otro lado Shiau y Peng (1992), comparando el valor nutricional de diferentes carbohidratos, observan que la glucosa alimenticia reduce la digestibilidad aparente de proteína y de materia seca de las dietas experimentales en *Penaeus monodon* (citados por D' Abramo y Castell, 1996).

Nielsen *et al* (1985) demostraron que la calidad de la proteína puede ser reducida cuando reacciona con lípidos oxidándose, especialmente con elevada actividad de agua y en presencia de un exceso de oxígeno. La reducción en la calidad de la proteína bajo cualquier condición representa una pérdida en el aprovechamiento de aminoácidos esenciales y una reducción en la digestibilidad.

La oxidación de la metionina, cistina y cisteína se lleva a cabo con los productos primarios de la oxidación de grasas y también pueden dar lugar más adelante a cambios organolépticos. La metionina es fácilmente convertida a sulfóxido por la oxidación de lípidos. Aunque la formación de este compuesto no se considera nutricionalmente importante. En tanto que la oxidación de cistina produce compuestos no disponibles y pueden ser nutricionalmente significativos (Nielsen *et al*, 1985).

La lisina y los aminoácidos sulfurados son frecuentemente los primeros en limitar el aprovechamiento de las proteínas alimenticias (Food and Agriculture Organization, 1970, citado por Nielsen *et al.* 1985) y cualquier reducción en su contenido reduce la calidad nutricional de la proteína (Nielsen *et al.* 1985).

Los rangos obtenidos en la digestibilidades de proteínas, lípidos y dieta total, en tres tipos de tallas de *P. vannamei* son los siguientes : 78.6-85.8, 45.1-64.8 y 43.9-53.8% (para los de talla chica); 80.7-84.5, 52.8-63.8 y 46.9-53.0% (para los de talla mediana); 78.7-85.4, 49.2-63.2 y 41.8-58.4% (para los de talla grande). Se encontró que la digestibilidad de la proteína para camarones de talla chica fue fuertemente correlacionada con el nivel de la proteína en la dieta, y solamente los camarones de talla chica mostraron una fuerte correlación entre la digestibilidad de la proteína y el crecimiento, en tanto que no se exhibió ninguna relación entre el crecimiento y la digestibilidad de lípidos o dieta total (Smith *et al*, 1985).

Brown *et al* (1986), evaluaron dos métodos para determinar coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca y proteína, en *Procambarus clarkii*. Los ingredientes que se utilizaron en las dietas fueron salvado de arroz, salvado de trigo, harina de soya, de pescado y de camarón, quitina, gluten de trigo y proteína de soya. Los coeficientes de digestibilidad de materia seca por el método de colección total de heces, indican que los ingredientes de origen vegetal fueron los más digeridos (78.7 %↑) y los coeficientes de digestibilidad proteína por el mismo método arrojaron resultados similares en los ingredientes de origen vegetal (91.8 % ↑) con excepción de la caseína (95.4 %). Mientras que en el método del indicador ( $Cr_2O_3$ ) los coeficientes de digestibilidad tanto de materia seca como de proteína fueron negativos debido a que la concentración de cromo en las heces fue menor que la concentración en el alimento.

En la investigación realizada por Akiyama *et al* (1989) para determinar la digestibilidad de los ingredientes de las dietas experimentales en *Penaeus vannamei*, determinaron las digestibilidades aparentes de proteínas y materia seca, obteniendo rangos de 99.1 a 3.0% y 91.4 a -21.4% respectivamente. Los porcentajes más altos corresponden a los ingredientes purificados seguidos por los ingredientes prácticos con porcentajes intermedios y por último el relleno de la dieta con los porcentajes más bajos. Esto indica que los ingredientes purificados de las dietas son más eficientemente digeridos que los ingredientes prácticos.

Por otro lado, Nieto (1995) midió coeficientes de digestibilidad de proteína y materia seca en *Penaeus vannamei*, al experimentar con tres métodos de colecta (Sifoneo, Filtración y Decantación) cuya alimentación se basó en una dieta que cumplía con los requerimientos nutricionales para el camarón, encontrando digestibilidades de 90.69, 79.48 %; 78.92, 77.28 % y 84.93, 71.87 %, respectivamente.

Mientras que Dominguez (1995) también en *Penaeus vannamei* determinó coeficientes de digestibilidad de materia seca en sus dietas de 79.62, 81.98 y 82.99 %.

En tanto que Tapia (1996) evaluó 4 dietas que contenían 30 % de harina de pescado con un rango de score biotóxico de 0.1 a 2.3, en *Penaeus vannamei* (2.5g), encontrando un rango de digestibilidad proteica desde 80.5 a 85.4 %.



### III . DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LIPIDOS

Pocos trabajos se han realizado sobre digestión y absorción de lípidos en crustáceos. En 1974, Teshima *et al.*, estudiaron la absorción de esteroides y ésteres de colesterol en *Penaeus japonicus* utilizando óxido de cromo como marcador, obteniendo digestibilidad aparente de 60.8 a 90.8% y de 67 a 87% respectivamente.

Teshima y Kanazawa (1983) evaluaron la digestibilidad aparente de diferentes fuentes de lípidos ( triglicéridos, ácidos grasos y fosfolípidos ) y colesterol en *Penaeus japonicus*, usando óxido de cromo. Los camarones asimilaban efectivamente el aceite de hígado de abadejo, de hígado de calamar, el de soya, el oleico, el palmítico, la lecitina de huevo de pollo, la tripalmitina y los aceites hidrogenados de pescado. La digestibilidad de estos lípidos fue de 80% cuando las dietas contenían niveles de 8% de estos lípidos. Las digestibilidades del ácido palmítico, tripalmitina y lecitina de huevo no fueron afectadas marcadamente por sus niveles en las dietas. La coexistencia de lípidos como el ácido palmítico, tripalmitina o lecitina, mejoró la absorción de colesterol, indicando ser necesario para la asimilación efectiva del mismo. Mientras que en otro estudio (Kanazawa *et al* , 1977a, citado por D' Abramo y Castell, 1996) mencionan que el crecimiento en *P. japonicus* mejoró substancialmente al adicionar aceites ricos en ácidos grasos altamente insaturados en dietas artificiales, e identifican niveles óptimos de aproximadamente 1 % para juveniles en los siguientes ácidos grasos : 18:2w-6, 18:3w-3, 20:5w-6 y 22:6w-3.

La información obtenida en estudios de digestibilidad de lípidos no muestra una diferencia consistente entre la digestibilidad de lípidos de harina y aceite de pescado en aves, cerdos y rumiantes, a pesar de que existe una tendencia a que el aceite de pescado sea más digerible que los lípidos de las harinas de pescado que se podría explicar por una oxidación de estos últimos. Sin embargo, estos lípidos tienen digestibilidades reales de 90 % o más en todos los animales estudiados, incluyendo visón y trucha (Opstvedt, 1985).

Se ha demostrado además, (Takeuchi *et al*, 1979 citado por Opstvedt, 1985) que el efecto negativo de la hidrogenación sobre la digestibilidad de los lípidos en pescado disminuye a medida que se reduce la temperatura del agua y es mayor en peces pequeños que en aquellos más grandes. Por otro lado, la digestibilidad de los ácidos grasos disminuye al aumentar la longitud de la cadena y se eleva al aumentar la insaturación, y al parecer los ácidos grasos polietilénicos (20:5 y 22:6) son altamente digeribles en todas las especies.

Merican y Shim (1994) evaluaron la absorción de ácidos grasos de diferentes aceites ( Sardina, Calamar refinado, Calamar, EPA, Hígado de bacalao, Soya, Palma, pescado, Atun y Maíz) en *Penaeus monodon*, utilizando óxido de cromo al 1%, como marcador . Encontraron en las heces bajos porcentajes de ésteres de colesterol, mono y diacilglicéridos (19.17%, calamar; 0.83%, sardina; 3.39%, calamar refinado, respectivamente) indicando que existe una gran asimilación de estos lípidos. También los ácidos grasos altamente insaturados tales como el EPA Y DHA fueron bien absorbidos obteniendo coeficientes de digestibilidad de 90.30% --- 96.92% (atún, hígado de bacalao, respectivamente) y 88.45% --



- 96.56% (pescado, sardina, respectivamente). En tanto que los valores de digestibilidad de los ácidos grasos saturados disminuyeron cuando la cadena era mayor de 18 carbonos. Con excepción del aceite de pescado, los ácidos grasos poliinsaturados fueron selectivamente mejor digeridos. Sugieren que el valor de los aceites como lípidos dietarios está relacionado al contenido de ácidos grasos libres, y la composición de ácidos grasos saturados y ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

Por otro lado, Domínguez (1995) evaluó la digestibilidad de lípidos en *Penaeus vannamei* utilizando tres dietas que contenían tres niveles de lecitina líquida (0, 1 y 2 %) con un nivel de inclusión de lípidos en la dieta del 9%, utilizando el óxido de cromo como marcador, encontrando en aquellos camarones alimentados con la dieta control coeficientes de digestión del 92.53 %, siendo significativamente diferente a la dieta tres ( 88.42%), la cual contenía 2 % de lecitina, no así para la dieta dos (91.70%) con 1% de lecitina.

### III.1 OXIDACION DE LOS ACEITE DE PESCADO

Los principales problemas por la oxidación de los ácidos grasos de los lípidos de pescado son: disminución del valor nutricional de los lípidos, debido a que los ácidos grasos poliinsaturados cumplen funciones de ácidos grasos esenciales y su disponibilidad se ve disminuida, destrucción de vitaminas liposolubles, especialmente E y A, generación de hidroperóxidos, sustancias reactivas que causan degradación de proteína y aminoácidos ( Ricque *et al*,1994).

Se sabe que los aceites de pescado son ingredientes importantes en los alimentos balanceados para la mayoría de peces y camarones en cultivo, ya que son ricos en ácidos grasos esenciales que se requieren para el desarrollo y crecimiento, además pueden contribuir a la palatabilidad de la dieta. De la familia de los ácidos grasos n3, los ácidos eicosapentaenoico 20:5w6 (EPA) y docosahexaenoico 22:6w3 (DHA) se encuentran en altas proporciones en varios aceites de pescado. Pero el contenido elevado de EPA, DHA y de otros ácidos grasos insaturados, hace que el aceite de pescado sea más susceptible a la oxidación (Kaitaranta, 1992). Estos aceites son susceptibles durante el almacenamiento a cambios de los cuales resulta la producción de sabor y olor desagradable. Se dice entonces que estos aceites se han enranciado (Abdo *et al* ,1993). La consecuencia de este proceso se centra en sus productos ya que no tienen valor nutricional, también reaccionan con ciertos aminoácidos disminuyendo su digestibilidad como lo indica Nielsen *et al* (1985) y con proteínas disminuyendo su biodisponibilidad. Por lo que este proceso afecta directa o indirectamente a la digestibilidad.

Los ingredientes a base de subproductos, tales como la harina de pescado, el aceite de pescado y harinas de subproductos avícolas son altamente susceptibles a la oxidación durante el procesamiento ya que la materia prima es sujeta a un cocimiento en altas temperaturas y un secado, lo cual causa peroxidación produciendo pérdida de palatabilidad, del valor nutricional de los lípidos y de energía digestible, y afecta la utilización protéica. La oxidación se prolonga durante el almacenamiento. De aquí que deban ser estabilizados

durante su procesamiento para retener sus valores nutritivos, y solamente ingredientes estabilizados deben ser utilizados en la producción de alimento (Pike, 1994; Subramanyan, 1994).

El efecto del aceite oxidado de pescado en la alimentación de bagres de canal *Ictalurus punctatus* fue estudiado por Murai y Andrews (1974). En un experimento diseñado factorialmente, el aceite de pescado oxidado a un valor peróxido de 60 meq/Kg de aceite, fue agregado en niveles de 0, 1.0 o 10.0% a las dietas semi-puras que contenían niveles variables de acetato de alfa-tocoferol (0, 25 y 100 mg/Kg) o etoxiquina (0 y 125 mg/Kg). Los bagres alimentados con aceite oxidado de pescado, hasta en una tasa de 1%, sin acetato alfa-tocoferol o etoxiquina, presentaron una reducción del ritmo de crecimiento, eficiencia en la conversión de alimentos, aumento de la mortalidad y exhibieron síntomas de deficiencias de vitamina E.

Otro estudio similar realizado por Hung *et al.* (1980) utilizando aceite de arenque con tres niveles de oxidación : aceite fresco (VP= 6 meq/Kg) , ligeramente oxidado (VP= 25 meq/Kg) y moderadamente oxidado (VP= 50 meq/Kg) incluido en la dieta a un nivel de 7.5 %, y suplementadas con tres niveles de acetato  $\alpha$  de tocoferol (33, 66 y 99 mg/Kg de dieta), alimentando a truchas arco iris *Salmo gairdneri* durante 24 semanas. Al termino del experimento no se encontraron diferencias significativas en el incremento de peso vivo, conversión alimenticia, composición de la carcasa, contenido de lípidos y proteína cruda en la carcasa, y en la actividad de la glutatión peroxidasa. Sin embargo, la concentración de  $\alpha$ -tocoferol en el hígado se incremento por la suplementación de DL  $\alpha$ - acetato de tocoferol. Por otro lado el nivel de  $\alpha$  tocoferol endógeno disminuyó por el aceite moderadamente oxidado y por el período de almacenamiento (24 semanas).

El efecto de aceites oxidados de pescado en carpas *Cyprinus carpio*, ha sido estudiado en Japón. Watanabe *et al.*, 1967 (citado por Opstvedt, 1985) alimentaron carpas (3g a 5g) con 10% de aceite oxidado (valor peróxido  $\leq$  150 meq/Kg) de pescado con y sin acetato de tocoferol o antioxidantes sintéticos en dietas bajas en grasas, durante 120 días. Las carpas alimentadas con el aceite oxidado sin adición de acetato de alfa-tocoferol, presentaron un ritmo de crecimiento reducido y mortalidad aumentada, lo que fue contrarrestado con la adición de 25 mg de acetato de alfa-tocoferol por Kg de dieta, pero no con antioxidante sintético. Parecería que los lípidos de pescado que están oxidados (valor peróxido mayor a 50 meq/Kg lípido) son tóxicos para los peces aún en niveles bajos en las dietas que no contienen acetato de alfa-tocoferol.

He y Lawrence (1993) evaluaron el requerimiento de vitamina E y examinaron la efectividad de la vitamina y el BHT (antioxidante) en la prevención de la oxidación de lípidos en dietas y en tejidos de *Penaeus vannamei* (0.14 g), alimentándolos por 8 semanas con 7 dietas conteniendo diferentes niveles de vitamina E ( 0, 25, 50, 100, 200, 400 y 600 mg/Kg de dieta) y una dieta con 16 mg de BHT/Kg. En los resultados encontraron que en aquellas dietas que tenían de 0 a 100 mg/Kg de vitamina, los camarones exhibieron un incremento en el peso, sin embargo no hubo diferencias en peso en las dietas con 100 a 600 mg/Kg de vitamina E, e indican que el requerimiento de vitamina E es de 99 mg/Kg de dieta

para juveniles de *P. vannamei*. En tanto con BHT en la dieta se obtuvo un peso final mayor con respecto a las dietas suplementadas con un nivel de vitamina E inferior al requerimiento. Por otro lado, la suplementación mayor de 25 mg de vitamina E es requerida para suprimir la peroxidación de lípidos estimulada por el ácido ascórbico en membranas microsomales y mitocondriales del hepatopáncreas, mientras que en el tejido muscular son necesarios 100 mg de vitamina E. En la peroxidación de lípidos en las dietas al ser expuestas a una temperatura de 60 °C (72 hrs) el nivel de hidroperóxidos disminuía conforme la inclusión de vitamina E aumentaba en las dietas.

En 1995, Stéphan *et al* estudiaron la relación entre la fuente de lípidos dietéticos la vitamina E y las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS), así como la aparición de los TBARS y la desaparición de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en *Scophthalmus maximus*, utilizando seis dietas (3 dietas con aceite de cacahuete y 3 dietas con aceite de hígado de bacalao) incluidos al 5 % en las dietas y tres niveles de acetato  $\alpha$  tocoferol (20, 70, 320 mg/Kg de dieta). Después de 32 semanas de alimentación, encontraron que el efecto de los dos factores nutricionales sobre el TBARS fue significativo ( $P < 0.01$ ). Los TBARS fueron menores cuando los peces eran alimentados con el aceite de cacahuete, cuando se comparaban con las dietas que tenían aceite de arenque. También fueron menores en el hígado cuando eran suplementadas con acetato  $\alpha$  tocoferol en el caso del aceite de hígado de bacalao (interacción  $< 0.01$ ). En cuanto a la desaparición de los PUFA durante la peroxidación *in vitro*, está depende de la naturaleza de cada ácido graso y es marcadamente influenciada por los dos factores nutricionales. El suministro de acetato  $\alpha$  tocoferol dietético claramente retrasa la desaparición de los ácidos grasos.

Por otro lado, San Martín Del Angel (1995) al utilizar aceite de pescado (Menhaden) con tres grados de oxidación: aceite fresco (VP= 6.1meq/Kg), aceite moderadamente oxidado (VP = 50.5meq/Kg), aceite altamente oxidado (VP = 100.3meq/Kg), incluidos en las dietas a un nivel de 7.5 %, dietas que a su vez fueron suplementadas con dos niveles de Vitamina E (0, 100 mg/Kg) y Etoxiquin (0, 130 mg/Kg), encontró alta mortalidad y menor tamaño de los hepatopáncreas en aquellos camarones alimentados con las dietas libres de vitamina E, y observando una mortalidad más temprana y menor tamaño del hepatopáncreas en los organismos que consumieron la dieta deficiente en etoxiquin y vitamina E. El grado de oxidación de los aceites no tuvo un efecto sobre la sobrevivencia, y solo actuó sobre el crecimiento por medio de un consumo inferior; la tasa de conversión no fue afectada por el grado de oxidación del aceite.

Petersen *et al* (1997) al estudiar la oxidación de lípidos en alimento, utilizando 2 dietas con harina y aceite de macarela (60 % y 20 % de inclusión respectivamente) cuya diferencia era la inclusión de etoxiquin, encontraron mediante el valor TOTOX y el índice de Quimioluminiscencia, que la harina de pescado no estabilizada era oxidada durante el procesamiento, además el antioxidante estabiliza la grasa del alimento. Aunque los valores TOTOX producidos por los aceites de pescado no fueron afectados significativamente por el antioxidante, y después de 6 meses de almacenamiento, el valor TOTOX indica que el aceite sin etoxiquin fue menos oxidado que el aceite de pescado tratado con etoxiquin i.e. El etoxiquin no tiene efecto antioxidante en el aceite.

### III.2 FACTORES QUE ORIGINAN OXIDACIÓN

Los siguientes factores juegan un rol importante en reacciones de oxidación en peces (Ke et al. 1977, citado por Khayat y Schwall, 1983).

1.- Naturaleza de la grasa : tipo de ácido graso, grado de insaturación y proporción de fosfolípidos.

2.- Distribución de la grasa en el cuerpo.

3.- Presencia o ausencia de otros compuestos químicos en los tejidos, los cuales pueden actuar como aceleradores o inhibidores de reacciones de rancidez, sujeto a otros factores como pH, ambiente químico, etc.

4.- Factores externos, tales como calor, luz y rayos UV, los cuales tienden a cambiar el equilibrio de los compuestos del tejido. La principal razón de la oxidación de grasa de peces congelados es la deshidratación de tejidos durante el almacenamiento y la exposición de oxígeno atmosférico.

Takama *et al.* (1972 citado por Khayat y Schwall ,1983) almacenaron carne desmenuzada de 5 especies de pescado a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 100-120 días y determinaron las siguientes tasas de producción de ácidos grasos libres en término de  $\mu\text{moles/día}/100\text{g}$  : *Alaska pollock* 12.0, macarela 8.0, *yellowtail* 3.1, *Northern blenny* 2.0 y *flying squid* 2.0. Ellos atribuyen el cambio de la degradación de los lípidos a la hidrólisis y oxidación.

Tsukuda, 1976 (citado por Khayat y Schwall , 1983) estudió el cambio en lípidos de *skipjack tuna* durante el congelamiento a  $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$  y  $-30^{\circ}\text{C}$  por 80-140 días de almacenamiento. Los resultados mostraron que los triglicéridos disminuyeron rápidamente en el período inicial de almacenamiento. Después de 80 días a  $-10^{\circ}\text{C}$  el contenido de ácidos grasos libres se incrementó de 151 a 1,950 mg en el musculo negro, y de 79 a 38 en el musculo ordinario. Después de 40 días a  $-10^{\circ}\text{C}$  la pérdida de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina alcanzó 56 - 70 % en ambos tipos de tejido. Después de 140 días a  $-30^{\circ}\text{C}$  la pérdida alcanzó 10 - 15 % en ambos tipos de musculo. El incremento en el contenido de ácidos grasos libres fue debido a la hidrólisis de fosfolípidos y triglicéridos. En el musculo negro, los ácidos grasos fueron derivados de los triglicéridos, pero en el musculo ordinario el incremento en ácidos grasos libres fue debido principalmente a la hidrólisis de fosfolípidos.

Por otro lado Ke *et al.* 1977 (citado por Khayat y Schwall , 1983) en un estudio similar muestra que la tasa de oxidación de lípidos de macarela durante el congelamiento depende de la temperatura de almacenamiento. La tasa de formación de peroxidos en la piel y en el musculo negro de la macarela fue significativamente menor a  $-40^{\circ}\text{C}$  que a  $-15^{\circ}\text{C}$ . A  $60^{\circ}\text{C}$  la tasa de oxidación de lípidos de la piel de la macarela fue significativamente más alta que la tasa de oxidación de lípidos de la carne. Los resultados sugieren que los ácidos grasos poliinsaturados son definitivamente los más rápidamente oxidados que los monoenos en la grasa de la piel de la macarela congelada. Además el efecto es dependiente de la temperatura en las condiciones de congelación, pero la actividad catalítica de la oxidación de lípidos puede ser inhibida bajando la tempertura de congelación a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

Petersen y Olsen (1989) mencionan que la tasa de oxidación es correlacionada positivamente a la temperatura de almacenamiento, presencia de oxígeno/aire, iluminación o radiación UV, iones metálicos, y la tasa de oxidación se incrementa más rápidamente en grasa oxidada. Además al investigar diferentes métodos de extracción de grasas en alimento o harina de pescado, encontraron que la selección de solventes es importante durante el procedimiento de extracción, e influye también el contenido de los productos de oxidación, lo cual puede ser explicado por la polaridad de aldehidos y peroxidos, la potencia del solvente y la polaridad del extracto.



## **IMPORTANCIA**

El estudio a efectuarse tiene importancia desde un punto de vista nutricional, el aceite de pescado o fuentes de lípidos con ácidos grasos poliinsaturados son muy susceptibles a la oxidación, la cual puede afectar la eficiencia nutricional del alimento especialmente su digestibilidad.

El presente trabajo está dirigido a evaluar el efecto que causan los aceites de pescado con diferentes niveles de oxidación suplementados con vitamina E y/o Antioxidante incluidos en la dieta, sobre la digestibilidad de materia seca de lípidos y proteínas.

## **OBJETIVO**

Determinar el efecto que tienen los lípidos oxidados y presencia o no de vitamina E y/o antioxidante artificial, sobre la digestibilidad de la materia seca, de lípidos y proteínas presentes en la dieta para camarones juveniles de *Penaeus vannamei*.

## **HIPOTESIS**

Los productos de la rancidez de lípidos influyen negativamente en la digestibilidad de la materia seca, de lípidos y de las proteínas de la dieta.

La inclusión de Vitamina E y/o Ethoxiquin en la dieta reducen el efecto negativo de la rancidez sobre la digestibilidad de la materia seca , lípidos y proteínas de la dieta.

## MATERIAL Y METODO

El trabajo se realizó en el Programa “Maricultura” perteneciente al Departamento de Ecología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León.

### I. FORMULACION DE LA DIETA BASE EXPERIMENTAL

Para la realización de este trabajo se utilizaron las dietas fabricadas por el M. C. Pablo San Martín Del Angel, quien las evaluó en el marco de su investigación.

A continuación se muestra la composición de la dieta base

**TABLA 1.- Cuadro de Composicion de la Dieta Base**

INGREDIENTES	%
-Harina de pescado	13
-Pasta de soya	13
-Harina de camarón	4
-Harina de trigo	52.8 (cant. suf. para el 100%)
-Gluten de trigo	8
-Mezcla Vitaminica*	0.225
-Metionina	0.107
-Aceite de Pescado (fresco, medianamente o altamente oxidado)	7.517
-Fosfato Monosódico	1.269
-Vitamina C. (Rovimix Stay C)	0.025
-Vitamina E.	0.010 (suplementación o no)
-Antioxidante (ETQ)	0.013 (suplementación o no)
-Oxido de cromo *	1.000

\* Vitaminas aportadas/Kg de dieta: Vit. A (15 000 UI/Kg); Vit. D (7 500 UI/Kg); Vit. K (20 mg/Kg); Tiamina (150 mg/Kg); Riboflavina (100 mg/Kg); Cianicobalamina B12 (0.1 mg/Kg); Acido Fólico (20 mg/Kg); Piridoxina (50 mg/Kg); Ac. Pantoténico ( 100 mg/Kg); Niacina (300 mg/Kg); Colina (400 mg/Kg); Biotina )1 (mg/Kg); Inositol (300 mg/Kg) (fórmula de Akiyama et al.; (1989). (Publicados por Técnicas Nutricionales, Monterrey, N.L.)

\*Se incluye en la dieta para estudios de digestibilidad.

Fuente : Tomado de San Martín del Ángel (1995)

## II. DIETAS EXPERIMENTALES

Se evaluaron 8 dietas marcadas con  $Cr_2O_3$ , diferenciándose cada una de ellas en el nivel de oxidación del aceite de pescado y en la inclusión de Vitamina E y/o Etoxiquin en las dietas (ver tabla 2).

**TABLA 2.-** Dietas Experimentales.

ACEITE DE SABALO (MENHADEN)				
		OXIDACION		
		FRESCO	MEDIANA	ALTA
	PV meq/Kg	6.1	50.5	100.3
VIT. E	ETQ	-----	-----	-----
-----	-----	-----	-----	5
-----	130ppm	1	3	6
100ppm	-----	-----	-----	7
100ppm	130ppm	2	4	8

Fuente: Tomado de San Martín del Ángel. (1995)

## III. ANALISIS BROMATOLOGICOS

El análisis bromatológico de las dietas se realizó mediante los métodos de análisis proximal descritos por la A.O.A.C. (1990) los cuales son :

Humedad	Secado a 100°C por 24 hrs
Proteína	Kjeldhál (Tecator)
Extracto Etéreo	Soxhlet (Tecator)
Fibra cruda	Filtración en fibra cerámica
Ceniza	Calcinación a 600°C
*E. L. N.	Por diferencia
Oxido de cromo	Colorimetría

## **\* Extracto Libre de Nitrógeno**

### **IV. SALA DE BIOENSAYO**

Se llevaron a cado 3 bioensayos en la sala de zootecnia (ver Anexo III), la cual consta de un circuito cerrado de agua salada sintética con características marinas, constituida por 48 acuarios de fibra de vidrio de 60 X 30 X 35 cm, con un volumen de 60 litros de capacidad y tres estanques para preengorda con capacidad para 500 lt. y 5 tanques de 1.100 lt, tres de ellos funcionan como reservorios y 2 para abastecer por gravedad agua a los acuarios. Cada acuario posee un doble fondo cubierto con tela de gasa, teniendo cada uno un sistema " air waterlift" para promover la circulación, a través del doble fondo, efectuándose un recambio de agua diario del 300 %.

Para mantener la calidad del agua se cuenta con 2 filtros de cartucho, 2 filtros de carbón activado, 2 contactores biológicos, fraccionadores de espuma, y para mantener la temperatura constante se cuenta con un sistema cerrado de calefacción, por intercambio de calor con un serpentín que lleva agua caliente en su interior, además de todo el equipo necesario para determinar los parámetros físicos tales como refractómetro, potenciómetro, termómetro, etc., y pruebas colorimétricas para determinar los parámetros químicos.

### **V. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS**

Diariamente se registró la temperatura, salinidad y quincenalmente el pH, Amonio, Nitritos y Nitratos

### **VI. ORGANISMOS**

Se utilizaron 3 lotes de postlarvas *Penaeus vannamei* cuya procedencia es la siguiente : Granja El Dorado, Sonora; Laboratorio de Producción de Postlarvas Génesis de Puerto Peñasco, Sonora; Laboratorio de Producción de Postlarvas el Camarón Dorado de Cd. Obregon, Sonora., cuyo peso promedio era de 1.1g, las cuales fueron trasladadas a la sala de zootecnia de la Facultad de Ciencias Biológicas donde se aclimataron.

### **VII. DISTRIBUCION**

Para cada bioensayo (3 replicados en el tiempo : cuyas fechas de inicio y terminación son las siguientes: 22/05/95 - 24/06/95; 16/08/95 - 4/09/95 y 9/03/96 - 7/04/96 respectivamente) se seleccionaron 84 camarones, en donde el peso promedio fue de 1.07, 1.08 y 1.12gr respectivamente. En cada replicado o bioensayo los organismos fueron pesados individualmente en una balanza OHAUS, para luego ser distribuidos en los 12

acuarios experimentales, con 7 organismos por tratamiento. Los tratamientos 1, 3, 4 y 8 se hicieron por duplicado en cada bioensayo, mientras que los otros tratamientos 2, 5, 6 y 7 se dieron a un solo acuario debido a que se obtenía una mayor cantidad de heces que con los otros tratamientos. Se realizó un análisis de varianza del peso inicial de los organismos para comprobar la homogeneidad en el peso de cada acuario.

Durante los primeros tres días después de haberse iniciado el bioensayo, aquellos camarones que morían, eran reemplazados por camarones que tuviesen la talla promedio del acuario.

## **VIII. BIOENSAYO DE DIGESTIBILIDAD**

En cada bioensayo se llevó a cabo el protocolo experimental que a continuación se describe.

**Aclimatación.-** Los camarones se alimentaron con las dietas experimentales durante 4 días para que los animales se adaptaran al alimento y no tuvieran stress causado por el manejo durante la distribución.

**Ayuno.-** El quinto día no se alimentaron para eliminar el alimento en el tracto digestivo.

**Alimentación.-** El sexto día comenzó la alimentación experimental, administrándoles 2 veces al día "ad libitum", una tercera parte por la mañana y dos terceras partes por la tarde. Para completar el 10 % de la biomasa por acuario. Los camarones eran alimentados aproximadamente 1 hr para evitar la lixiviación del alimento.

**Recolección de heces.-** El método utilizado fue el de sifoneo, en el cual se utilizó una manguera de plástico para coleccionar las heces producidas, en frascos de vidrio, después de 1 hr de alimentación para evitar la lixiviación de las heces. Posterior a esto se eliminaban los residuos de alimento no ingerido del acuario.

**Limpieza de heces.-** Una vez colectadas las heces eran enjuagadas con agua destilada por decantación o con ayuda de una micropipeta Pasteur para eliminar lo más posible las sales del agua marina, luego se retiró el exceso de agua destilada del frasco de vidrio para evitar lixiviación.

**Mantenimiento de heces.-** Una vez limpias las heces eran congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  diariamente en frascos de vidrio individuales.

Por la tarde se realizaba la metodología antes descrita (desde alimentación) y al final del día las heces eran reunidas en los frascos y vueltas a congelar.

**Seguimiento diario.-** Todas las mañanas se cuantificaban los camarones y los restos de muda, posteriormente se sifoneaban los acuarios para retirar los restos de heces, muda y camarones muertos.

La duración de cada bioensayo duró hasta obtener un mínimo de 380 mg de heces (base seca).

**Análisis químicos.-** Antes de realizar los análisis de  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , proteínas y lípidos en las heces, se realizaron preliminares en las dietas.

Después de que se realizaron los análisis químicos correspondientes se procedió a calcular el porcentaje de digestibilidad del nutriente estudiado.

$$\text{Digestibilidad. (\%)} = \left(1 - \frac{\% \text{ Marcador en alimento}}{\% \text{ Marcador en heces}} \times \frac{\% \text{ Nutriente en heces}}{\% \text{ Nutriente en alimento}}\right) \times 100$$

## **IX. Aparatos Utilizados Durante el Trabajo de Laboratorio**

### **IX.1 Equipo para la técnica de óxido de cromo y proteína**

Digestor eléctrico Tecator.

Unidad de destilación Tecator

Titulador automático digital Jencons, con 50 ml de capacidad

Espectrofotómetro Beckman DU 650

### **IX.2 Equipo para la técnica de determinación lípidos**

Centrifuga Centra MP4R IEC

Rotor # 224 Horizontal

Adaptador para tubos de ensaye # 7225

Estufa Shel Lab 1330 Fx

Vortex Thermoline Type 37600 mixer

Balanza Analítica Modelo A&D ER-182A (Precisión : 32g/0.01mg, 180g/0.1mg.)

### **IX.3 Reactivos**

Caseína de leche bovina, SIGMA. Lot. 123H0877

Oxido de cromo Chrom (111) - oxid. 12233 Riedel - de Haën

Molibdato de sodio (grado reactivo)

Acido sulfúrico (concentrado)

Acido perclórico 70 - 72%

Cloruro de metileno (grado reactivo)



Metanol (grado reactivo)  
Acido bórico 4 %  
NaOH 40 %  
HCl 0.05M.

## **X. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ÓXIDO DE CROMO Y DE PROTEÍNA EN DIETAS Y HECES**

Para reducir la cantidad de heces necesarias para los análisis de cromo y proteína, se utilizó la técnica de Bolin (1952) modificada por Nieto (1995), la cual permite usar la misma muestra digerida en ácido para la determinación de cromo por espectrofotometría y posteriormente la determinación y titulación del nitrógeno total por la técnica micro Kjeldhal Tecator.

Sin embargo, se hicieron las siguientes modificaciones a la técnica original (Nieto, 1995, com. per.):

- 1.- Se adicionaron juntos los 5 ml del agente oxidante (10g Molibdato de sodio, 150 ml de H<sub>2</sub>O dest, 150 ml Acido sulfurico y 200 ml de Acido perclórico) y los 2 ml de ácido perclórico antes de ser puesto en el digestor.
- 2.- La temperatura alcanzó los 300°C antes de ser colocados los tubos de digestión con las muestras en el digestor.

Por lo tanto, la técnica queda como se indica en el diagrama de flujo (Ver Anexol: Diagrama 1). Todas las determinaciones se hicieron sobre muestras duplicadas en dietas y heces.

## **XI. CURVA STANDARD DE ÓXIDO DE CROMO**

Antes de ser analizadas tanto las dietas como las heces se realizó la curva standard de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, por el método de Bolin (1952).

Se realizaron en un mortero mezclas de óxido de cromo y caseína bovina (ver reactivos) de concentraciones conocidas de óxido de cromo : 1, 2, 3, 5 y 7 %, con un peso total de 10g, y se les aplicó la técnica indicada en el diagrama 1, con una toma de muestra de 30mg.

Con ayuda de un espectrofotómetro se realizó un barrido de luz visible en la muestra digerida más concentrada (7%) para determinar la mejor longitud de onda, a la que se deberían hacerse las lecturas, dando un pico máximo de absorbancia de 438 nm.

Las lecturas obtenidas con las diferentes mezclas se pueden observar en la tabla No 3

**TABLA 3.-Valores Obtenidos para la Curva Estándar de Oxido de Cromo.**

Concentración en mg/ml	X Absorbancia Observada 438 nm. n=3	C.V.
1	0.0249	2.60
2	0.0495	2.11
3	0.0785	0.45
5	0.1306	0.75
7	0.1873	0.45

C.V. = Coeficiente de variación. (Fórmula de c.v.= desv. Standar /Media X 100).

En esta tabla se puede observar que el coeficiente de variación disminuye con la concentración. Y los datos presentan la siguiente fórmula de regresión (Fig 1).

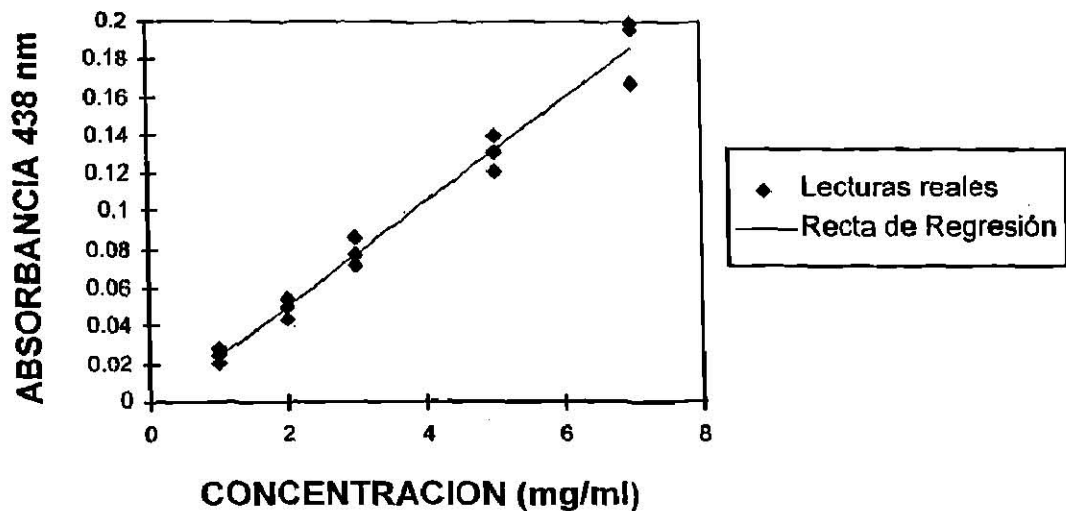
$$Y = (-0.003) + (0.027) X$$

$$r = 0.9998$$

donde Y = Absorbancia

X = Cantidad de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> conocida

### CURVA STANDAR DE OXIDO DE CROMO



**Figure 1.-Curva de Óxido de Cromo Ajustada**

## **XII. DETERMINACION DE LÍPIDOS**

Se pesaron 100 mg (Pm) de muestra libre de humedad (3 días en la estufa a 70°C) en una balanza analítica (ver equipo), depositándola posteriormente en un tubo de ensaye previamente etiquetado, y se aplicó la técnica indicada en el diagrama 2 (ver anexo I). Después se agregaron los solventes y se mezclaron en un vortex en dos etapas, se centrifugó (ver detalles en Anexo I) en una centrifuga IEC (ver equipo).

El sobrenadante se pasó a un embudo de separación de fase con la ayuda de una micropipeta Pasteur, pasándolo por un papel filtro (Whatman # 1) evitando así contaminación con partículas de alimento o heces, observándose 3 fases. Al precipitado en el tubo de ensaye se le procesó 2 veces más con el procedimiento ya descrito. Se reunieron los 3 juegos de sobrenadantes en el embudo de separación de fases. Se extrajo la fase inferior (cloruro de metileno + lípidos) pasándola a un tubo de ensaye limpio y previamente pesado (Pa), evaporándola con nitrógeno y pasándola a la estufa a 80°C, por 15 a 20 minutos para eliminar cualquier residuo del solvente. El tubo nuevamente se pesó (Pb) y con la fórmula del diagrama 2 (Ver Anexo I) se determinó el % de lípidos presentes en la dieta y en las heces.

## **XIII. ANALISIS ESTADISTICO**

Los tratamientos indicados en la tabla No. 2, permiten el análisis del efecto de tres factores, según dos diseños bifactoriales constituidos por los grupos siguientes : Dietas 1, 2, 3, 4, 6 y 8 para los factores nivel de oxidación y la suplementación con vitamina E; Dietas 5, 6, 7 y 8 para los factores vitamina E y Etoxiquin (en presencia de aceite altamente oxidado solamente).

Sin embargo, los tres grupos de camarones usados para correr las pruebas de digestibilidad dieron respuesta globalmente diferente, lo que llevo a incluir este efecto (replicados) en el análisis de resultados. Por lo que se realizó un análisis trifactorial sobre los dietas agrupadas de la manera indicada previamente, tomando como tercer factor el efecto "replicados", con 2 repeticiones para cada determinación de la digestibilidad lipídica y proteica.

En el caso de los datos de la digestibilidad de la materia seca, no se pudieron realizar los análisis trifactoriales, ya que solo se contaba con una determinación de digestibilidad por replicado.

Además se realizaron análisis de varianza de una vía y una prueba de DUNCAN (P= 0.05) para clasificar eventualmente las dietas significativamente diferentes.

## RESULTADOS

### I. ANÁLISIS PROXIMAL

Los resultados de los análisis bromatológicos presentaron homogeneidad en todas sus determinaciones como se puede ver en la tabla No. 4. Los porcentajes de proteína variaron dando un mínimo de 34.66 % en la D5 y un máximo “teórico” en base seca de 36.07 % para la D8. La grasa presentó variación de 6.02 % en la D1 y 8.23 % como valor teórico para la D8. Los valores teóricos señalados anteriormente, son porcentos transformados en base seca, tomados de San Martín del Ángel (1995) en base húmeda ( no se analizaron porque se acabaron las dietas). La fibra varió de 1.40 % en la D8 a 1.81 % en la D4. La ceniza de 6.24 % a 6.26 % (D4 y D5 respectivamente) y la humedad de 9.86 % en la D3 y 8.67 % para la D7. En tanto que para el E.L.N. se observó una variación de 8.3 puntos porcentuales. En lo referente al óxido de cromo, el porciento en los alimentos varía de 0.96 % para la D1 y 1.13 % en la D5.

**TABLA 4.-Análisis Proximal de las Dietas Experimentales (% base seca)**

DIETA	Proteína	Grasa	Fibra	Ceniza	Humedad	E.L.N. •	Oxido de cromo
1.- A.F + ETQ	34.60	6.02	1.46	6.72	9.40	41.8	0.9680
2.- A.F.+ETQ + Vit. E	35.86	7.32	1.55	6.82	9.46	38.99	1.0943
3.- A.M.O. + ETQ	34.86	6.90	1.81	6.67	8.67	41.09	1.1085
4.- A.M.O. +ETQ+ Vit.E	34.76	6.45	1.44	6.26	8.99	42.10	1.1276
5.- A.AO.	34.36	7.20	1.63	6.94	9.38	40.49	1.1365
6.- A.AO. + ETQ	34.77	6.40	1.55	6.76	9.79	40.73	1.0951
7.- A.AO.+ Vit. E	34.66	6.56	1.52	6.76	9.86	40.64	1.1048
8.- A.AO.+ ETQ + Vit. E	36.07***	8.23 ***	1.40	6.82	9.51	33.80	1.0000*

Dietas : 1.- Aceite Fresco + Etoxiquin, 2.- Aceite Fresco+ Etoxiquin+ Vitamina E., 3.- Aceite Medianamente Oxidado + Etoxiquin ., 4.- Aceite Medianamente Oxidado + Etoxiquin + Vitamina E., 5.- Aceite Altamente Oxidado., 6.- Aceite Altamente Oxidado + Etoxiquin., 7.- Aceite Altamente Oxidado + Vitamina E., 8.- Aceite Altamente Oxidado + Etoxiquin + Vitamina E.

• Extracto Libre de Nitrógeno.

\* Valor teórico para el óxido de cromo.

\*\*\* Valores teóricos en base seca, extrapolados a partir de los datos en base húmeda del alimento sin óxido de cromo (Tesis, San Martín Del Angel, 1995).

## II. PARAMETROS FISICO--QUIMICOS

TABLA 5.-Parametros Fisico-Quimicos

	Temperatura °C	Salinidad (g/l)	pH	Amoni o (ppm)	Nitritos (ppm)	Nitratos (ppm)
Bioensayo 1	28.3 ± 0.86	31.8 ± 1.23	8.13 ± 0.05	0.1 ± 0	0.76 ± 1.06	3.8 ± 1.24
Bioensayo 2	28.1 ± 0.64	32.5 ± 0.91	8.06 ± 0.95	0.1 ± 0	0.19 ± 0.19	25.2 ± 21.4
Bioensayo 3	26.8 ± 1.11	35.0 ± 1.05	8.10 ± 0	0.4 ± 0	0.24 ± 0.12	44 ± 0

## III. DIGESTIBILIDAD APARENTE

### III.1 EFECTO DEL GRADO DE OXIDACIÓN DEL ACEITE DE PESCADO Y DE LA SUPLEMENTACION O NO DE VITAMINA E

Las dietas 1, 2, 3, 4, 6 y 8 permiten evaluar los efectos de dos factores : grado de oxidación y suplementación con vitamina E, según un diseño bifactorial (Tabla. 6). A continuación, se analizarán los resultados de estas 6 dietas en cuanto a su digestibilidad de materia seca, de lípidos y proteína.

TABLA 6.-Diseño Experimental.

ACEITE DE SÁBALO (MENHADEN)		OXIDACIÓN		
		FRESCO	MEDIANA	ALTA
	PV meq/Kg	6.1	50.5	100.3
VIT. E	ETQ	-----	-----	-----
-----	-----	-----	-----	-----
-----	130ppm	1	3	6
100ppm	-----	-----	-----	-----
100ppm	130ppm	2	4	8

3x2 dietas conteniendo aceite fresco, medianamente oxidado o altamente oxidado suplementadas con dos niveles de Vitamina E (0 y 100 mg/Kg de dieta).

Fuente: Tesis, San Martín del Ángel (1995).

### III.1.1 DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA

En la tabla. 7 se muestran los resultados promedios que corresponden a la digestibilidad de la materia seca. No existen diferencias significativas para ninguna de las dietas, al utilizar el ANOVA de vía simple ( $P = 0.3474$ ) y la comparación múltiple de medias de Duncan. Por otro lado el análisis bifactorial tampoco detectó diferencias significativas en lo que respecta al grado de oxidación del aceite ( $P = 0.766$ ) o a la suplementación con vitamina E ( $P = 0.786$ ) pero sí para la interacción de estos 2 factores ( $P = 0.049$ ): la digestibilidad es ligeramente más baja en las dietas suplementadas con Vitamina E, excepto para las dietas con aceite medianamente oxidado donde se observa lo contrario (Fig. 2).

**TABLA 7.-Resultados Promedios de Digestibilidad de Materia Seca.**

	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D6</b>	<b>D8</b>
<b>Media</b>	84.72	83.56	82.28	84.77	84.51	83.06
<b>s.d.</b>	2.93	2.00	1.46	1.69	1.69	2.44
<b>Gr. Oxid.</b>	<b>P =0.766</b>					
<b>Supl. Vit. E</b>	<b>P =0.786</b>					
<b>Interacción</b>	<b>P =0.049</b>					
<b>One-way</b>	<b>P =0.347</b>					

s.d. = Desviación estandar., **Gr. Oxid** = Grado de oxidación del aceite de pescado., **Supl. Vit. E.** = Suplementación de Vitamina E., **P** = Probabilidad., **n = 3**



## DIGESTIBILIDAD APARENTE DE MATERIA SECA

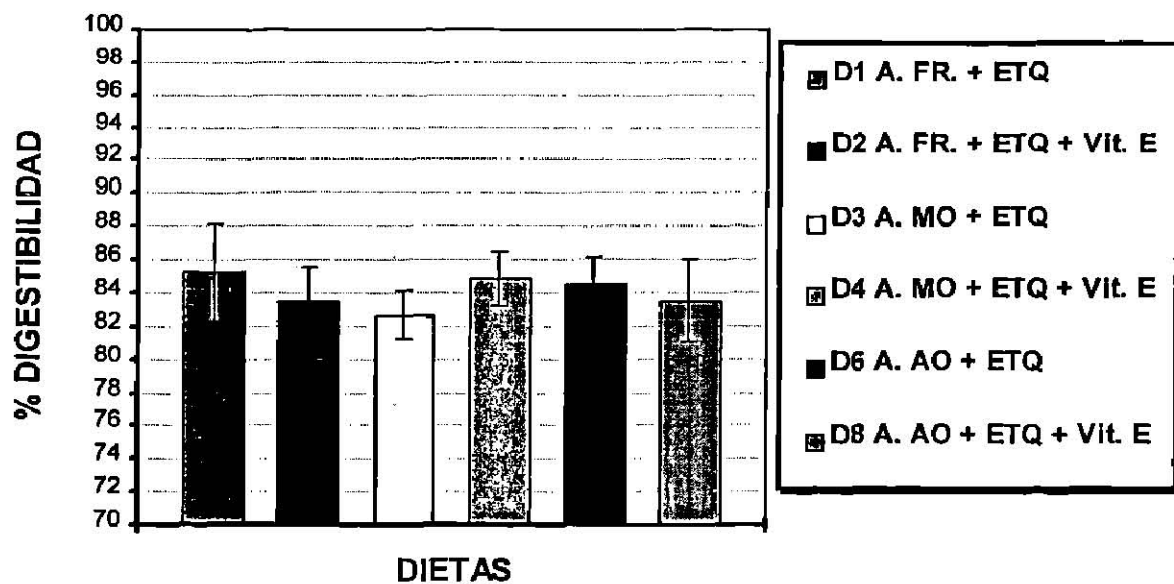


Figure 2.-Porcentaje de Digestibilidad de la Materia Seca

### III.1.2 DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS

Los resultados promedios de la evaluación de la digestibilidad de lípidos (Tabla. 8) muestran valores homogéneos en todas las dietas experimentales de acuerdo al ANOVA de vía simple ( $P = 0.5709$ ). El análisis trifactorial no detectó efectos significativos para el grado de oxidación ( $P = 0.994$ ) o la suplementación de Vitamina E. ( $P = 0.137$ ) pero si para la interacción de los 2 factores ( $P = 0.000$ ): la digestibilidad promedio de los lípidos para las dietas suplementadas con Vitamina E (91.39 %) fue ligeramente más baja que para las dietas sin Vitamina E (91.83 %), sin embargo este efecto se invierte en el caso del aceite medianamente oxidado (Fig 3), como para la digestibilidad de materia seca.

Los tres lotes de camarones usados para el estudio, dieron resultados diferentes, con diferencias altamente significativas ( $P = 0.000$ ): de 93.12, 91.47 y 90.20 % en promedios para los tres lotes respectivos. La interacción oxidación / replicado fue significativa ( $P = 0.000$ ) e indica que la respuesta a los niveles de oxidación fue diferente entre replicados, (esto puede estar ligado al origen de los camarones).

**TABLA 8.-Resultados Promedios de la digestibilidad de Lípidos.**

	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D6</b>	<b>D8</b>
<b>Media</b>	91.82	91.38	91.09	92.07	92.31	90.88
<b>s.d.</b>	0.69	0.97	2.19	1.97	1.09	1.86
<b>Gr. Oxid.</b>	<b>P =0.994</b>					
<b>Supl. Vit E.</b>	<b>P =0.137</b>					
<b>Replicado</b>	<b>P =0.000</b>					
<b>INTERACCION</b>						
<b>Oxida - Vit E</b>	<b>P =0.000</b>					
<b>Oxida - Replie</b>	<b>P =0.000</b>					
<b>Vit E - Replie)</b>	<b>P =0.155</b>					
<b>Oxid - Replie - Vit E</b>	<b>P =0.041</b>					
<b>One-way</b>	<b>P=0.570</b>					

s.d. = Desviación estándar., **Gr. Oxid** = Grado de oxidación del aceite de pescado., **Supl. Vit. E.** = Suplementación de Vitamina E., **P** = Probabilidad , **n = 3**

### DIGESTIBILIDAD APARENTE PROMEDIO DE LIPIDOS

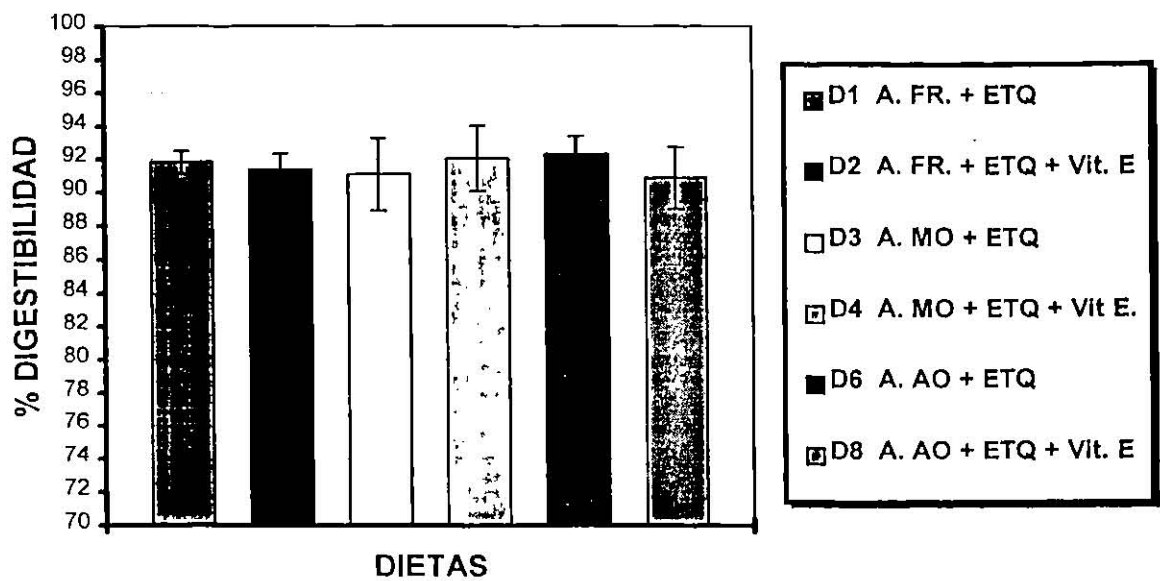


Figure 3.-Porcentaje de Digestibilidad de Lípidos

### III.1.3 DIGESTIBILIDAD DE PROTEINA

Los resultados arrojados del análisis de varianza trifactorial de la dieta (tabla. 9) indican que el factor grado de oxidación del aceite de pescado no tiene un efecto significativo sobre la digestibilidad de la proteína de la dieta ( $P= 0.316$ ). Globalmente, la suplementación de vitamina E mejora ligeramente la digestibilidad ( $P= 0.029$ ), sin embargo la interacción de estos 2 factores es significativa ( $P= 0.000$ ): la digestibilidad se mejora con la presencia de Vitamina E, solo cuando el aceite es oxidado (caso de D3, D4, D6, D8). Por lo que respecta al ANOVA de vía simple y a la comparación múltiple de medias, no detectaron diferencias significativas ( $P= 0.2282$ ) aunque cabe mencionar que la D3 tuvo la menor digestibilidad 90.99 % (fig. 4).

Los replicados dieron respuestas globales significativamente diferentes ( $P= 0.000$ ) con valores de 92.89, 91.33 y 91.39 %, respectivamente. Además, su respuesta a la suplementación con vitamina E fue variable según el replicado ( $P= 0.000$  para la interacción vit E / replicado).

**TABLA 9.-Resultados Promedios de la Digestibilidad de Proteína**

	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D6</b>	<b>D8</b>
<b>Media</b>	92.32	91.36	90.99	92.51	91.82	92.18
<b>s.d.</b>	0.40	1.06	0.75	0.95	1.50	1.85
<b>Gr.Oxid.</b>	<b>P=0.316</b>					
<b>Supl. Vit. E.</b>	<b>P=0.029</b>					
<b>Replicado</b>	<b>P=0.000</b>					
<b>INTERACCION</b>						
<b>Oxida / Vit E</b>	<b>P=0.000</b>					
<b>Oxida / Replie</b>	<b>P=0.018</b>					
<b>Vit E / Replie</b>	<b>P=0.000</b>					
<b>Oxida / Vit E / Replie</b>	<b>P=0.000</b>					
<b>One-Way</b>	<b>P=0.228</b>					

s.d. = Desviación estándar., Gr. Oxid = Grado de oxidación del aceite de pescado., Supl. Vit. E. = Suplementación de Vitamina E., P = Probabilidad., n = 3

## DIGESTIBILIDAD APARENTE PROMEDIO DE PROTEINA

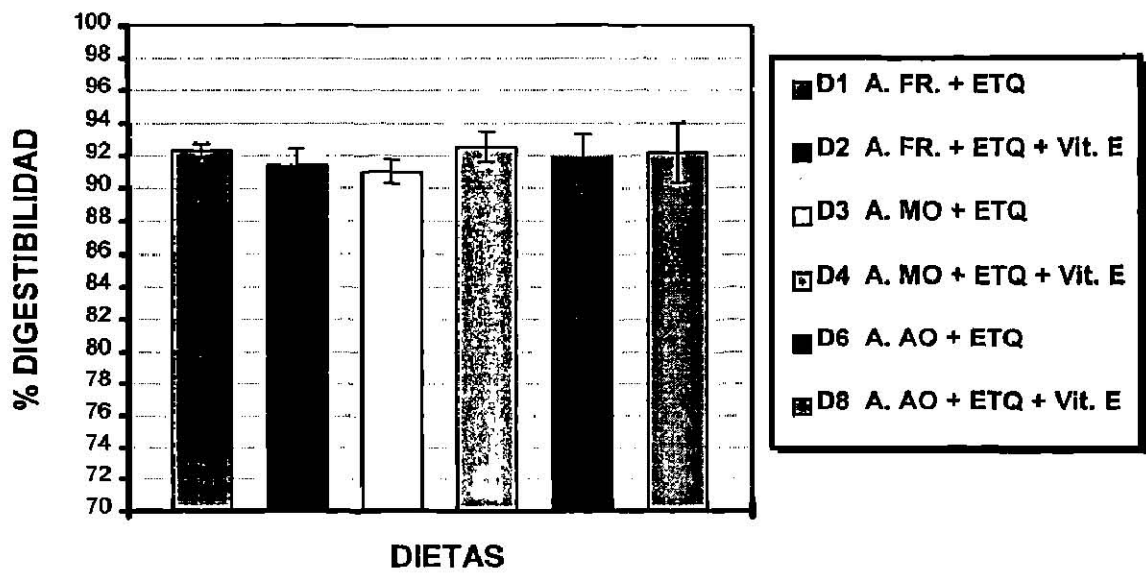


Figure 4.-Porcentaje de Digestibilidad de la Proteína

### III.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN O NO DE VITAMINA E Y DE LA SUPLEMENTACIÓN O NO CON ANTIOXIDANTE SINTÉTICO ETOXIQUIN (ETQ)

La evaluación de los efectos de la suplementación con Vitamina E y/o ETQ sobre la digestibilidad de las dietas se llevó a cabo en los camarones alimentados con las dietas 5, 6, 7, 8, utilizándose el siguiente diseño experimental (Tabla. 10), realizándose un ANOVA de 2 vías para los datos de digestibilidad de materia seca, y un ANOVA de tres vías incluyendo el efecto “replicado” para los datos de digestibilidad de lípidos y proteína. También se utilizó un ANOVA de vía simple y comparación múltiple de medias de Duncan para cada parámetro evaluado.

**TABLA 10.-Diseño Experimental.**

ACEITE DE SABALO (MENHADEN)				
		OXIDACIÓN		
		FRESCO	MEDIANA	ALTA
	PV meq/Kg	6.1	50.5	100.3
VIT. E	ETQ	-----	-----	-----
-----	-----	-----	-----	5
-----	130ppm	-----	-----	6
100ppm	-----	-----	-----	7
100ppm	130ppm	-----	-----	8

2x2 dietas conteniendo aceite altamente oxidado suplementadas con dos niveles de Vitamina E. (0 y 100 mg/Kg de dieta) y dos niveles de suplementación de antioxidante ETQ (0 y 130 mg/Kg de dieta).

Fuente: Tesis, San Martín del Ángel (1995).



### III.2.1 DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA.

En la tabla. 11 se resumen los resultados promedios referentes a la digestibilidad de la materia seca. El análisis bifactorial no detectó alguna diferencia significativa cuando la Vitamina E (P = 0.226) y el ETQ (P= 0.847) actuaban individualmente, ni en la interacción de estos 2 factores (P = 0.556). Por otro lado el ANOVA de vía simple tampoco encontró diferencias (P = 0.587), aunque las digestibilidades variaron de 83.06 % en la D8 a 84.51 % en la D6 (Fig. 5).

**TABLA 11.-Resultados Promedios de la Digestibilidad de la Materia Seca.**

	D5	D6	D7	D8
<b>Media</b>	84.19	84.51	83.68	83.06
<b>s.d.</b>	1.66	1.69	0.79	2.44
<b>Vit. E)</b>	<b>P = 0.226</b>			
<b>ETQ</b>	<b>P = 0.847</b>			
<b>Interaccion</b>	<b>P = 0.556</b>			
<b>One-way)</b>	<b>P = 0.587</b>			

s.d. = Desviación estándar., Supl. Vit. E. = Suplementación de Vitamina E., P = Probabilidad.  
n = 3

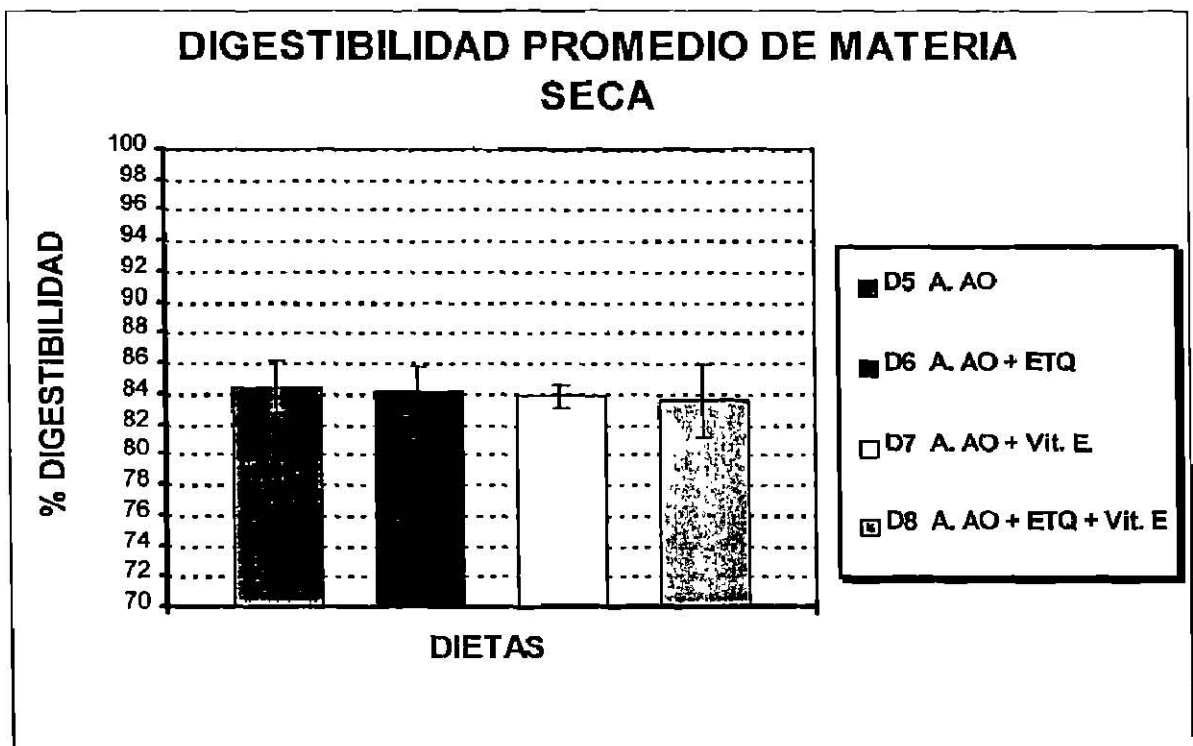


Figure 5.-Porcentaje de Digestibilidad de la Materia Seca.

### III.2.2 DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS

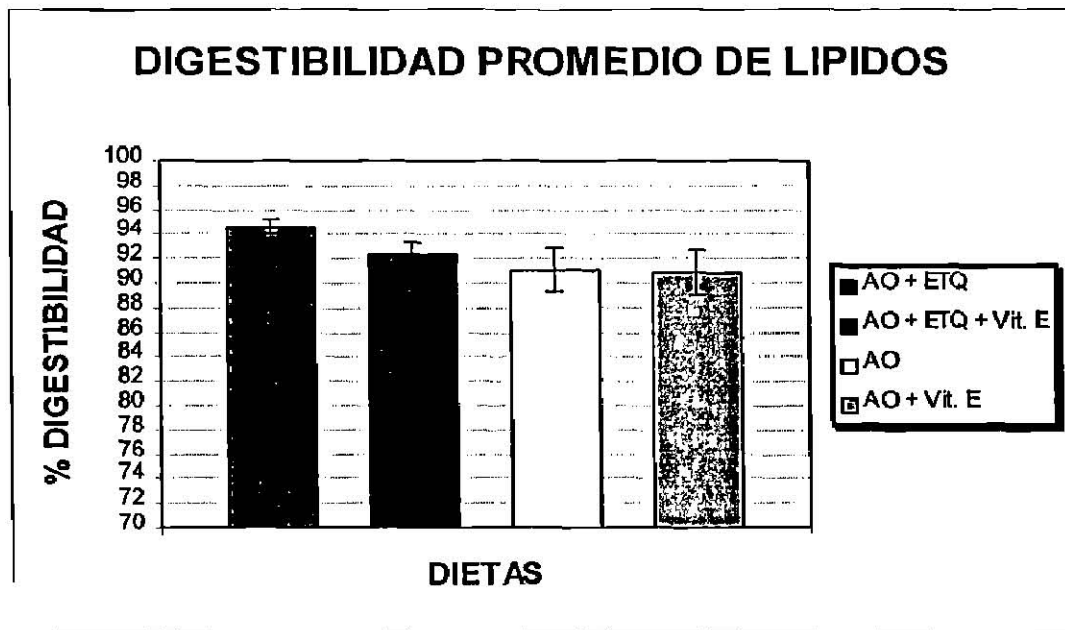
Los resultados promedios de la digestibilidad de lípidos (tabla. 12) muestran que la D5 (A. AO) destaca del resto de las dietas por poseer la mayor digestibilidad (94.61 %) (fig. 6). El ANOVA de vía simple entre dietas demostró diferencias altamente significativas ( $P = 0.008$ ) y la comparación múltiple de medias de Duncan identifica a la D5 como diferente de las otras. En tanto, el análisis trifactorial si detectó una disminución altamente significativa de la digestibilidad de lípidos por la presencia de Vit. E. ( $P = 0.000$ ), así también por la presencia de ETQ ( $P = 0.000$ ), la interacción de estos 2 factores fue altamente significativa ( $P = 0.001$ ), siendo posible que la diferencia sea debido al alto valor presentado por la D5.

El efecto “replicado” es altamente significativo, y también su interacción con la suplementación con vitamina E ( $P = 0.000$  y  $P = 0.001$ , respectivamente).

**TABLA 12.-Resultados Promedios de la Digestibilidad de Lípidos.**

	D5	D6	D7	D8
Media	94.61 b	92.31 a	91.06 a	90.88 a
S.D.	0.58	1.09	1.82	1.86
Vit. E	$P = 0.000$			
ETQ	$P = 0.000$			
Replicado	$P = 0.000$			
<b>INTERACCION</b>				
Vit E - ETQ	$P = 0.001$			
Vit E - Replie	$P = 0.001$			
ETQ - Replie	$P = 0.223$			
Vit E - ETQ - Replie	$P = 0.209$			
One-way	$P = 0.008$			

s.d. = Desviación estándar., Supl. Vit. E. = Suplementación de Vitamina E., P = Probabilidad.  
n = 3 Letras diferentes indican diferencias significativas



**Figure 6.-Porcentaje de Digestibilidad de Lípidos.**

### III.2.3 DIGESTIBILIDAD PROTEICA

En la tabla. 13 se encuentran los resultados promedios de digestibilidad de la proteína, observándose la ausencia de diferencias significativas por el efecto de la Vit E, y un aumento ligero de la digestibilidad proteica por la presencia de ETQ (92.0 vs 91.46 %). (fig. 7)

Las diferencias entre los tres replicados de camarones fueron altamente significativas (93.14, 91.15 y 90.90 %, respectivamente). La interacción significativa Vit E /Replicados, indica que la respuesta a la suplementación con Vit E fue diferente según el grupo de camarones utilizado (esto debe estar relacionado con las reservas de vitamina E con las que contaba cada lote de camarón al momento del experimento).

TABLA 13.-Resultados Promedios de la Digestibilidad de Proteína.

	D5	D6	D7	D8
Media	91.74	91.82	91.16	92.18
s.d.	1.10	1.50	1.30	1.81
Vit. E.	P = 0.553			
ETQ	P = 0.010			
Replicado	P = 0.000			
INTERACCION				
Vit E / ETQ	P = 0.021			
Vit E / Replíc	P = 0.003			
ETQ / Replíc	P = 0.752			
Vit E / ETQ / Replíc	P = 0.000			
One-way	P = 0.688			

s.d. = Desviación estándar., Supl. Vit. E. = Suplementación de Vitamina E., P = Probabilidad.  
n = 3

## DIGESTIBILIDAD APARENTE PROMEDIO DE PROTEINA

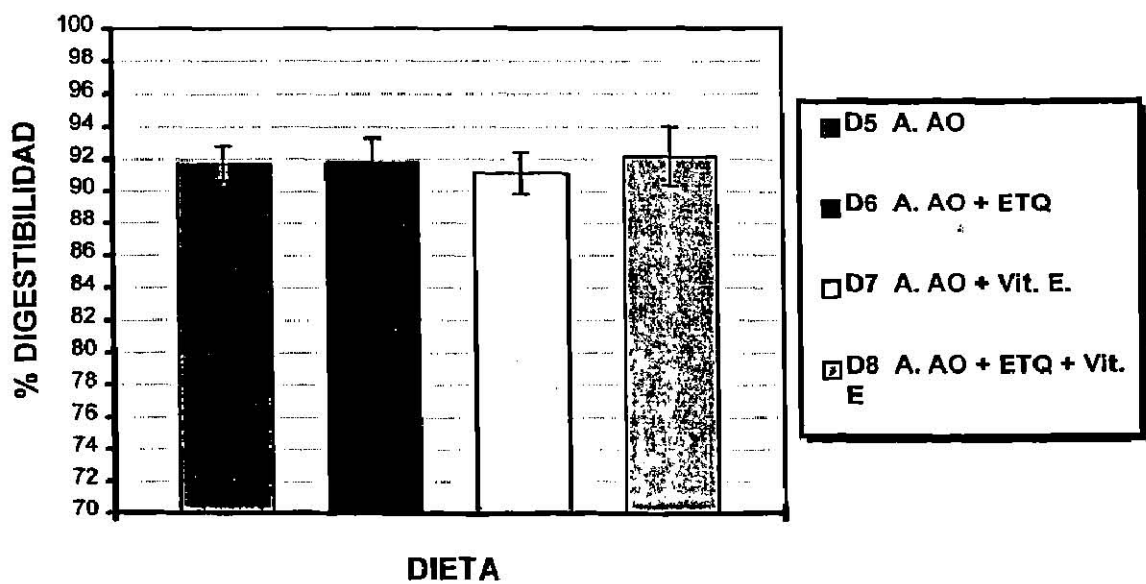


Figure 7.-Porcentaje de Digestibilidad de la Proteína



## DISCUSIONES

### I. ANALISIS DE LAS DIETAS

Los análisis bromatológicos de las dietas experimentales arrojaron resultados similares a los reportados por San Martín del Ángel (1995), teniendo en cuenta que las dietas estudiadas poseen los mismos ingredientes excepto el óxido de cromo que se utiliza para estudios de digestibilidad aparente.

La pérdida de materia seca por lixiviación fue reportada por San Martín del Ángel (1995) y estuvo en un rango de 3.7 a 5.6 % después de una hora de inmersión en agua marina, lo que asegura que la distorsión en la composición proximal de lo ingerido por los camarones debido a la lixiviación fue mínima en el caso del presente trabajo. Fenucci, (1981) y Coehlo, (1984) (citados por Clark, 1993) mencionan que uno de los problemas asociados con la determinación de la digestibilidad en ambientes acuáticos, es la lixiviación de los nutrientes; Windell *et al*, (1978) mencionan que la lixiviación de las heces es mayor durante la primera hora en el agua. Sin embargo, en este trabajo se infiere que no se tuvo este problema debido a que tanto el alimento como las heces estuvieron en contacto con el agua por menos de 1hr.

### II. METODO PARA DETERMINAR LA DIGESTIBILIDAD APARENTE

#### II.1 TÉCNICA DE ÓXIDO DE CROMO

La adición del ácido perclórico al mismo tiempo que la mezcla oxidante se llevo a cabo para asegurar la digestión de la muestra, ya que algunas veces por la manera tradicional del método la muestra que se digería viraba al color deseado antes de agregar el ácido perclórico (Nieto, 1996. com. per).

Aunque Bolin *et al* (1952) indican hacer la digestión de una sola concentración de óxido de cromo y establecen la curva de calibración a partir de diluciones de esta muestra digerida, en este caso se decidió preparar mezclas de  $Cr_2O_3$  en concentraciones crecientes en caseína y se uso el mismo tamaño de muestra (30 mg) que para las muestras de heces con el objeto de reproducir más fielmente las condiciones del análisis. Además se utilizaron alicuotas de las mezclas con 7 % de  $Cr_2O_3$  como testigo al momento del análisis de las muestras de heces, para confirmar que la digestión se efectuara correctamente. El uso de un espectrofotómetro Beckman (DU 650) determinó el máximo de absorbancia a una longitud de onda de 438 nm. (por medio de un barrido de luz visible) la cual se eligió para trabajar. Bolin *et al* (1952) utilizaron para sus lecturas un colorímetro fotoeléctrico Evelyn con filtro de 440 nm.

## II.2 METODO BLIGH & DYER

En esta técnica se detectó que si la muestra presentaba humedad (en particular cuando el secado duró solo un día en la estufa a 70°C, en lugar de tres días) la extracción de los lípidos no era al máximo, aunque también puede influir o causar interferencia los reactivos utilizados, ya que si son caducos o presentan humedad higroscópica o no son los indicados, estos no poseen la misma capacidad de extracción. Petersen y Olsen (1989) al investigar diferentes métodos de extracción de grasas en alimento o harina de pescado, encontraron que es importante seleccionar adecuadamente los solvente para la extracción, ya que estos también influyen en el contenido de los productos de oxidación (lo cual puede ser explicado por la polaridad de aldehídos y peróxidos), la potencia de extracción del solvente y la polaridad del extracto.

## III. DIGESTIBILIDAD DE LA MATERIA SECA

La digestibilidad de un alimento es un parámetro esencial a considerar en estudios de nutrición y para esto es también importante utilizar el método de medición de coeficientes de digestión y de colección de heces más adecuado, de acuerdo a las necesidades de la investigación.

Aunque los métodos de colección de heces tienen sus pros y sus contras, en nuestro caso se decidió utilizar la técnica de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> debido a que no es necesario coleccionar la totalidad de las heces (Austreng, 1978; Windell *et al*, 1978; Rodríguez, 1993) y se tenían las instalaciones adecuadas para manejar un mayor número de organismos, además de que esta técnica es apropiada para este tipo de estudios en peneidos (Akiyama *et al*, 1989) no así para otro tipo de crustáceos (Akiyama *et al*, 1989; Brown *et al*, 1986).

Los coeficientes de digestión de materia seca estuvieron entre el 82.66 % en la D3 (A.MO + ETQ) y 85.25 % para la D1 (A.F + ETQ).

Windell *et al*, (1978) determinaron coeficientes de digestión en *Salmo gairdneri* por 3 métodos de colección de heces, cuyos resultados fueron 77.3% (sifoneo), 80.3% (disección intestinal) y 79.1% (succión anal); Cho y Slinger (1979) encontraron en la misma especie coeficientes de digestión en varios ingredientes por los métodos de colección de heces (Guelph y Sifoneo) de 94.5 %, 81.91%, 64.3% y 80.4%, 77.6% y 53.7 % respectivamente; Brown *et al*, (1986) utilizaron también 2 métodos de colección de heces, para determinar coeficientes de digestión en *Procambarus clarkii*, teniendo resultados por arriba del 78.7% (método de colección total de heces) en ingredientes de origen vegetal y por el método de Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> los

coeficientes resultaron negativos; Domínguez (1995) determinó digestibilidades de materia seca en *Penaeus vannamei* que van desde 79.62 - 82.99 %; Nieto (1995) encontró en la misma especie coeficientes de digestibilidad de materia seca alrededor de 80 %, al utilizar el método de sifoneo.

De manera general, los coeficientes de digestión obtenidos en este trabajo están ligeramente arriba de los rangos de acuerdo a la literatura antes citada, aunque existen variaciones entre los coeficientes y estas diferencias pueden deberse a las diferentes condiciones experimentales de cada investigación, a las distintas especies con las que se trabajan, a los efectos asociativos de los ingredientes (Akiyama *et al*, 1989) y a los niveles de inclusión de los ingredientes en las dietas como lo indican Richly and Spannhof (1979), o D'Abramo y Castell (1994) quienes mencionan que al incrementar el nivel de carbohidratos puede disminuir la digestibilidad de proteína y de la materia seca.

Respecto al efecto de los tratamientos sobre la digestibilidad de la materia seca, el primer análisis bifactorial no detectó diferencias generadas por los factores grado de oxidación y suplementación con Vit. E. El ANOVA de vía simple tampoco detectó diferencias entre las dietas.

En el segundo diseño factorial (en presencia de aceite altamente oxidado) contrario a lo esperado, la D8 que tenía vitamina E y etoxiquin obtuvo el porcentaje de digestibilidad de materia seca más bajo (no significativo) comparado con aquellas dietas que tenían solo vitamina E o Etoxiquin.

Finalmente podemos decir que la digestibilidad de la materia seca no fue afectada por ninguno de los factores estudiados.

#### IV. DIGESTIBILIDAD DE LÍPIDOS

Es difícil hacer comparaciones de nuestro trabajo con otros estudios, ya que las referencias de este tipo son demasiado escasas, debido a que la mayoría de las investigaciones realizadas están encaminadas a otros parámetros biológicos como crecimiento y sobrevivencia.

Sin embargo la información obtenida en estudios de digestibilidad de lípidos indica que los lípidos de aceite de pescado tienen coeficientes de digestión reales de 90 % o más; en este trabajo la única fuente de lípidos fue el aceite de pescado (menhaden) el cual tiene altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados; Kanazawa *et al*, 1977 (citado por D'Abramo y Castell, 1994) mencionan que el crecimiento de *P. japonicus* mejoró al adicionar aceites ricos en ácidos grasos altamente insaturados; Merican *et al* (1994) también encontraron en *Penaeus monodon* gran asimilación de ácidos grasos insaturados (EPA y DHA); Takeuchi *et al* (1979)(citados por Opstvedt, 1985) comentan que al parecer los ácidos poliinsaturados (20:5 y 22:6) son altamente digeribles en todas las especies; sin embargo, el contenido de EPA, DHA y de otros ácidos grasos insaturados hacen que el aceite de pescado sea más susceptible a la

oxidación (Kaitaranta, 1992); Stéphan *et al* (1995) encontraron un efecto significativo de la fuente de lípidos (aceite de hígado de bacalao y aceite de cacahuete) sobre las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.

En nuestro experimento los análisis trifactoriales demuestran que la digestibilidad de los lípidos se ve disminuida por la suplementación de vitamina E sobre todo en dietas conteniendo aceite de pescado altamente oxidado (dietas 5, 6, 7 y 8). El Etoxiquin actuó en el mismo sentido, de manera altamente significativa también. En particular la mayor digestibilidad de lípidos se observa con la D5 (94.6 %) la cual carece a la vez de vitamina E y ETQ. Creemos que la digestibilidad de la dieta 5 fue sobreestimada, ya que posiblemente los lípidos presentes en las heces principalmente de ésta dieta se estuvieron oxidando durante el almacenamiento a -20°C, debido a que no estaban protegidos contra la oxidación. Esta suposición concuerda con lo encontrado por Takama *et al.* (1972), Tsukuda (1976) y Ke *et al.* (1977) (citados por Melton, 1983) los cuales mencionan que la tasa de oxidación de lípidos depende de la temperatura y de las condiciones de almacenaje y que la actividad catalítica de la oxidación de lípidos solo puede ser inhibida a -40°C. Además de esto, Petersen y Olsen (1989) mencionan que la tasa de oxidación se incrementa más rápidamente en grasa ya oxidada. Por otro lado las digestibilidades de las otras dietas se establece entre 90.8 y 92.3 % . Estos valores tal vez no fueron sobreestimados por causa de la oxidación, ya que los lípidos estaban mejor protegidos con antioxidante y/o vitamina E .

Sin embargo el factor más importante de oxidación probablemente pudo ser el secado de las heces antes de sus análisis y sobre todo la extracción con solvente sin antioxidante. Otra vez los tratamientos más afectados serían los que no contenían vitamina E y/o ETQ. En este caso la disminución artificial del contenido de los lípidos en las heces produce una sobreestimación de la digestibilidad de los lípidos.

Al relacionar los parámetros biológicos de sobrevivencia y crecimiento realizados por San Martín Del Ángel (1995) con la digestibilidad de los lípidos, se puede observar que la mortalidad fue mayor en aquellos camarones alimentados con dietas no suplementadas con vitamina E, y particularmente precoz con la dieta 5 que carecía además de ETQ.

La correlación entre la mortalidad y la digestibilidad puede ser explicada en función del alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados presentes en el aceite siendo fácilmente oxidados y aumentando con esto la deficiencia de vitamina E.

Por otra parte, otro parámetro afectado por la ausencia de vitamina E y ETQ fue la relación hepatosomática, la cual disminuyó en ausencia de vitamina E y ETQ, con el valor mínimo para la D5. Parece contradictorio que la digestibilidad lipídica sea mayor en camarones cuyos hepatopáncreas esta atrofiado, sabiendo que una de las funciones del hepatopáncreas es almacenar lípidos. La explicación es que probablemente la digestibilidad en realidad no fue mayor, solo fue sobreestimada como se mencionó anteriormente.

## V. DIGESTIBILIDAD DE LA PROTEINA

Nuestros resultados contrastan con la mayoría de los antecedentes por los altos valores de digestibilidad aparente proteica que obtuvimos (92 %) al utilizar el mismo método de colección de heces; Windell *et al*, (1978) en *Salmo gairdneri*, obtuvieron digestibilidades del 77 %; Cho y Slinger (1979) también utilizaron el método de sifoneo para determinar coeficientes de digestión en diversos ingredientes, encontrando en la misma especie digestibilidades de 83 y 91 %; siendo significativamente diferentes a los encontrados por Richly and Spannhof (1979) también para este organismo; Smith *et al* (1985) determinaron digestibilidades de 78.6 a 85.3 % en *Penaeus vannamei*; en tanto que Akiyama *et al* (1989) en esta especie determina digestibilidades proteicas de 99.1 a 3.0 %, e indica que los ingredientes purificados de las dietas son más eficientemente digeridos que los ingredientes prácticos; resultados muy similares a éstos obtuvo Brown *et al* (1986) en *Procambarus clarkii*.

Todas estas diferencias pueden ser explicadas en función a los factores que afectan a la digestibilidad de la dieta, como pueden ser : fisicoquímicos, talla, especie, ración de alimento (Windell *et al*, 1978) y efectos asociativos de los constituyentes de la dieta y los niveles de nutrientes (Schneider and Flatt, 1975, citado por Akiyama, 1986; Windell *et al*, 1978); se ha visto que al aumentar el nivel de inclusión de carbohidratos y disminuir la proteína se ocasiona un decremento en la digestibilidad de la proteína (Richly and Spannhof, 1979; D'Abramo y Castell, 1994).

También la digestibilidad proteica en este trabajo esta ligeramente arriba de lo encontrado previamente en camarón: Nieto (1995) encontró digestibilidades de 90.69% y Tapia (1996) determinó un rango de 80.5 a 85.4 %.

De acuerdo a los análisis estadísticos, el nivel de oxidación inicial del aceite utilizado en el alimento no actuó sobre la digestibilidad proteica, pero la suplementación con vitamina E mejoró ligeramente la digestibilidad en las dietas que contenían lípidos oxidados, aunque no en ausencia de ETQ. Por otro lado, la suplementación con ETQ mejora significativamente la digestibilidad proteica de la dieta.

Que los aceites oxidados no provoquen una menor digestibilidad proteica parece en contradicción con los resultados de Nielsen *et al* (1985), los cuales mencionan que la calidad de la proteína puede ser reducida por los lípidos oxidándose: la biodisponibilidad de los aminoácidos se ve afectada, ya que reaccionan con los productos de la oxidación de los lípidos. Sin embargo, en nuestro experimento, la oxidación de los lípidos actuó antes de la mezcla con los otros ingredientes y los aceites fueron estabilizados antes de ser agregados a la fórmula, por lo tanto los productos de la oxidación en el aceite de pescado probablemente ya estaban neutralizados antes de entrar en contacto con la proteína

El efecto positivo del ETQ y su interacción positiva con la vitamina E para mejorar la digestibilidad proteica, parece confirmar la importancia de controlar la oxidación durante el proceso, aunque el efecto positivo del ETQ en nuestro trabajo parece estar en contradicción a



lo encontrado por Petersen *et al.* (1997) que mencionan que el etoxiquin no tiene efecto sobre la digestibilidad de la proteína de las harinas de pescado utilizadas durante su investigación.

## CONCLUSION

La digestibilidad proteica de la dieta no fue afectada por el nivel de oxidación inicial de los lípidos incorporado en las dietas experimentales (cabe recalcar que las muestras de aceite con diferente grado de oxidación fueron estabilizadas antes de ser incluidas a la fórmula) pero sí disminuyó en ausencia de suplementación de vitamina E y ETQ, probablemente porque en este caso, los procesos de oxidación durante la peletización ya no eran controlados y pudieron afectar la proteína.

La digestibilidad lipídica no es afectada por el nivel de oxidación del aceite de pescado incluido en las dietas experimentales. El aumento de la digestibilidad lipídica en las dietas no suplementadas con vitamina E y/o ETQ parece ser un artefacto ligado principalmente a la oxidación y destrucción de los lípidos durante el tratamiento de las muestras de heces

La digestibilidad de la materia seca no fue afectada por ninguno de los tres factores estudiados, sin embargo es posible que algún efecto ligero haya sido enmascarado por las variaciones entre los tres grupos replicados de camarones, debido a que no se pudieron realizar análisis trifactoriales por causas anteriormente mencionadas.

## LITERATURA CITADA

Akiyama, D.M. 1986. The Development of a purified diet and nutritional requirement of lysine in penaeid shrimp. PhD. Thesis. Texas A&M. pp 20 - 40.

Akiyama, D.M., Coelho, S.R., Lawrence, A.L. and Robinson E.H. 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine Shrimp. *Penaeus vannamei* BOONE. Nippon Suisan Gakkaushi. 55 (1). 91-98.

Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using of chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13 : 265-272.

Abdo de la Parra, Ma. I., Cruz Suarez, L. E., Ricque Marie, D. 1993. Especificaciones de harinas y aceites de pescado para nutrición animal acuícola. "Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura". Facultad de Ciencias Biológicas.U.A.N.L.

Bolin, D.W. and King, R.P. 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) when as an index substance. Animal husbandry department (division of nutrition) North Dakota. Agriculture. College, Fargo. Science. Vol 115

Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of biochemistry and physiology*. Vol.37 No.8 911-917.

Brown, P. B., Williams, C.D., Robinson, E.H., Akiyama D.M. and Lawrence A.L. 1986. Evaluation of methods for determination in vivo digestion coefficients for adult red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of the world Aquaculture Society*. Vol 17 : 19-24.

Brunson, J.F., Romaine, R.P. 1996. Digestibilidad de los nutrientes de ingredientes para el camarón blanco del Golfo *Penaeus setiferus*, pp 231 -233., En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds) Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey, N.L.

Clark, D.J., Lawrence, A.L., Swakon, D.H.D. 1993. Apparent chitin digestibility in penaeid shrimp. *Aquaculture*. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.

Cho, C.Y., Slinger, S.J. 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. From Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Hamburg 20-23 . pp 239-247.



D'Abramo, L.R., Castell, J.D. 1996. Metodología para la investigación nutricional. pp 103-121., En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey, N.L.

D'Abramo, L.R., Sheen, S. 1996. Requerimientos nutricionales, formulación de dietas prácticas alimenticias para el cultivo intensivo del langostino de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii*. pp 81-101., En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey, N.L.

Dominguez J, V.P. 1995. Valor nutricional de la lecitina de soya en el camarón "*Penaeus vannamei*". Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.pp. 2- 98.

Hung, S.S.O., Cho, C.Y., Slinger, S.J. 1980. Measurement of oxidation in fish oil and its effects on vitamin E nutrition of rainbow trout ( *Salmo gairdneri* ). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 37: 1248-1253.

He, H., and Lawrence, A.L. 1993. Vitamin E requeriment of *Penaeus vannamei* . Aquaculture, 118: 245-255.

Ishikawa, M. Teshima, S. Kanazawa, A. Koshio, S. 1996. Evaluation of inert markers in digestibility determination,  $5\alpha$  cholestane and chromic oxide, in the prawn *Penaeus japonicus*. Fisheries Science. Japan. 62: 229-234.

Kaitaranta, J.K. 1992. Control of lipid oxidation in fish oil with variuos antioxidative compounds. Technical Research Centre of Finland. Food Research Laboratory, SF-02150 Espoo, Finland 810-813.

Khayat, A., and Schwall, D. 1983. Lipid oxidation in sea food. Lipid oxidation in muscle foods. Outstanding Simposia in Food Science & Technologist. July. 1983.

Ke, P.J., Ackman,R.C., Linke, B.A., and Nash, D.M. 1977. Differenyial lipid oxidation in various parts of frozen mackarel. J. Food Tech. 12: 37.

Lee and Lawrence, 1997. Digestibility. 194-260 pp. In D'Abramo, L.R., Conklin, D.E., and Akiyama, M. (Eds). Crustacean Nutrition. Advances in world acuaculture. Vol. 6 . World Acuacultere Society. 587pp.

Leavitt, D.F. 1985. An evaluation of gravimetric and inert marker techniques to measure digestibility in the american lobster. Acuaculture. Elsiever Science Publishers. B.V, Amsterdam. 47: 131-142.

Manriquez, H.J.A. 1994. La digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos - su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. Pp 67-75. En Castro Campos (Eds). Control de calidad de insumos y dietas acuicolas. Proyecto AQUILA II, documento de campo No. 16, GCP/RLA/102/ITA.

Maynard, L.A. , Loosli, J.K., Hintz, H.F., and Warner, R.G. 1981. Nutrición animal. Traducido de la septima edición en ingles de Animal nutrition, 1979. Mc Graw-Hill. Book Co. USA.

Murai, T., Andrews, J.W. 1974. Interactions of dietary tocopherol, oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*I. punctatus*) Journal nutrition. 1416-1431.

Mendoza, A.R. 1993. Métodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos destinados a los organismos acuáticos. " Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.

Merican, Z.O., and Shim, F.F. 1994. Lipid of fatty acid utilization in adult *Penaeus monodon* fed diets supplemented with various oils. Aquaculture, 123: 335-347.

Nielsen, H.K., Finot, P.A., and Hurrell, R.F. 1985. Reactions of proteins with oxidizing lipids.2. Influence on protein quality and the bioavailability of lysine, methionine, cyst(e)ine and triptophan as measured in rats assays. British Journal of Nutrition. 53: 75-86.

Nieto Lopez, M. Gpe. 1995. Efecto de las diferencias en el procesamiento de las harinas de pescado y la toxicidad de las mismas, sobre la digestibilidad aparente en el camarón blanco del Pacífico ( *Penaeus vannamei* ), en condiciones de laboratorio. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.

NRC. 1983. Nutrient requeriments of warwater fishes and shellfishes. National Academy Press, USA.

Opsvedt, J. (1985). Lípidos de pescado en nutrición animal. IAFMM.No.22

Petersen, J., Aksnes, A., Mundheim, and Opsvedt, J. 1997. Nutritional effects of lipid oxidation in fish feed. En tercer simposium internacional de nutrición acuicola. 11-13 de Noviembre de 1996. Monterrey, N.L.

Petersen, J. and Olsen, S. 1989. Rancidity and its measurements in food. Norwegian Herring Oil and Industry Research Institute (SSF) N- 5033. Fyllingsdalen, Norway.

Pike, I.H. 1994. Productos marinos para acuicultura - el futuro. "Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.

Rodriguez Marin, Ma. F. 1993. Requerimientos energeticos de peces y crustaceos " Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.

Rodriguez-Marin, M.F., Gonzalez-Villalobos, J., y Ahumada- Cervantes,C. 1996. Estudio sobre la digestibilidad de dietas para camaron blanco *Penaeus vannamei* utilizando la planta halofita *Salicornia europea*, pp 219-230., En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey, N.L.

Rychly, J., Spannhof, L. 1979. Nitrogen balance in Trout. I. Digestibility of diets containing varying levels of protein and carbohydrate. *Acuaculture*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. 16 : 39 - 46.

Ricque Marie, D., Cruz suarez, L E., San Martín del Angel. P. 1994. Efecto de la rancidez en los alimentos acuícolas. pp 209-217., En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey, N.L.

San Martín del Angel, P. 1995. Efecto del grado de oxidación de aceite de pescado y de la suplementación con vitamina E y un antioxidante sintético en la nutrición del camarón blanco *Penaeus vannamei*. Tesis de Maestria. Facultad de Ciencias Biológicas. U.A.N.L.

Shiau, S.- Y. And C.- Y . Peng. 1992. Utilization of different carbohydrates at different dietary protein levels in grass prwn, *Penaeus monodon*, reared in seawater. *Acuaculture*. 101 : 241-250.

Smith, L.L., Lee, P.G., Addison, L. L. and Strawn, K. 1985. Growht and digestibility by three sizes of *P. vannamei* BOONE. Effects of Dietary Protein Levels and Protein Source. *Acuaculture*. (46) 85-96. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.

Sigurgisladdottir, S., Lall, S.P., Parrish, C.C., Ackman, R.G. 1990. Digestibility of dietary lipids in atlantic salmon, using cholestane as a digestibility marker. *Bull. Aquacul. Assoc. Canada*, 90: 41-44.

Subramayam, M. 1994. Calidad de ingredientes en la producción y el rendimiento de alimentos para acuicultura. pp 243-264., En: Mendoza, Cruz-Suárez y Ricque (Eds). Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 de Noviembre de 1994. Monterrey, N.L.

Stéphan, G., Guillaume, J., and Lamour, F. 1995. Lipid peroxidation in turbot ( *Scophthalmus maximus* ) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polynsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130: 251-268.

Storebakken, T. 1985. Binders in fish feeds. I. Effects of alginate and guar gum on growth, digestibility, feed intake and passage through the gastrointestinal tract of rainbow trout. *Aquaculture*, 47 : 11-26.

Storebakken, T., Austreng, E. 1987. Binders in fish feeds. II. Effects of different alginate on the digestibility of macronutrients in rainbow trout. *Aquaculture*, 60: 121-131.

Tacon, A.G.J. and Rodriguez, A.M.P., 1984. Comparison of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. *Aquaculture*, Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. 43: 391-399.

Tapia Salazar, M. 1996. Efecto de harinas de pescado con diferente score biotóxico sobre el crecimiento y sobrevivencia del camarón blanco *P. vannamei*. Tesis. Facultad de Ciencias biológicas. U.A.N.L.

Takeuchi, T., Watanabe, T., and Nose, T. 1979. Requirement for essential fatty acids of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in freshwater environment. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 45: 1319-1323.

Takama, K., Zama, K., and Igarashi, H. 1972. Changes in the flesh lipid of fish during frozen storage. Part II. Flesh lipids of several species of fish. *Bull. Faculty Fish. Hokkaido*. Vol 22 (4) :220.

Tsukuda, N. 1976. Changes in the lipids of frozen fish. *Bull. Tokai Reg. Fish. Lab.* 84: 31.

Teshima, S., Kanazawa, A., and Okamoto, H. 1974. Absorption of sterols and cholesteryl esters in a prawn, *Penaeus japonicus*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 40(10) 1015-1019.

Teshima, S., and Kanazawa, A. 1983. Digestibility of dietary lipids in the prawn. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 49 (6): 963-966.

Watanabe, T., Tsuchiya, T., and Hashimoto, Y. 1976. Effect of DPPD and Ethoxyquin on the muscular dystrophy of carp induced by oxidized saury oil. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 33 : 843-847.

Windell, J. T., Foltz J. W., and Sarokon, J.A. 1978. Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. *The Progressive Fish Culturist*. Vol. 40, No. 2. 51-55.

## **ANEXO 1**

**DIAGRAMA 1 : TECNICA DE DETERMINACION DE  
PROTEINA**

**DIAGRAMA 2 : TECNICA DE DETERMINACION DE  
LIPIDOS**

## ANEXO 2

### SALA DE BIOENSAYOS

## ANEXO 3 MATRIZ DE DATOS EN ARCHIVO SPSS

Dieta	replicado	Dig. mat seca	Dig.pro.	Dig. lip.	Vit. E	ETQ	Oxid	filtro2	filtro1
1	1	82,78	91,91	92,57	1	2	1	0	1
1	1		92,93	92,28	1	2	1	0	1
1	2	86,46	92,32	90,56	1	2	1	0	1
1	2		92,65	91,68	1	2	1	0	1
1	3	86,51	92,24	91,94	1	2	1	0	1
1	3		91,91	91,94	1	2	1	0	1
2	1	81,68	92,48	92,24	2	2	1	0	1
2	1		92,84	92,24	2	2	1	0	1
2	2	83,37	90,45	91,6	2	2	1	0	1
2	2		90,25	91,6	2	2	1	0	1
2	3	85,39	91,15	91,02	2	2	1	0	1
2	3		91,04	89,63	2	2	1	0	1
3	1	80,85	92,3	93,06	1	2	2	0	1
3	1		91,53	93,89	1	2	2	0	1
3	2	84,22	90,36	91,31	1	2	2	0	1
3	2		90,49	91,08	1	2	2	0	1

3	3	82,91	90,72	88,6	1	2	2	0	1
3	3		90,59	88,6	1	2	2	0	1
4	1	83,02	93,43	94,99	2	2	2	0	1
4	1		93,63	93,94	2	2	2	0	1
4	2	85,53	90,96	91,69	2	2	2	0	1
4	2		92,41	91,25	2	2	2	0	1
4	3	86,10	92,38	89,86	2	2	2	0	1
4	3		92,27	90,73	2	2	2	0	1
5	1	83,10	92,97	95,54	1	1	3	1	0
5	1		93,18	94,13	1	1	3	1	0
5	2	84,68	91,44	94,04	1	1	3	1	0
5	2		91,63	94,25	1	1	3	1	0
5	3	85,46	90,63	94,75	1	1	3	1	0
5	3		90,63	94,95	1	1	3	1	0
6	1	83,31	93,40	94,00	1	2	3	1	1
6	1		92,93	92,69	1	2	3	1	1
6	2	82,71	89,69	91,62	1	2	3	1	1
6	2		90,25	92,97	1	2	3	1	1
6	3	86,25	92,24	91,19	1	2	3	1	1
6	3		92,41	91,41	1	2	3	1	1
7	1	83,03	92,66	92,50	2	1	3	1	0
7	1		92,59	93,28	2	1	3	1	0
7	2	84,36	90,07	91,42	2	1	3	1	0
7	2		90,07	91,42	2	1	3	1	0
7	3	83,97	91,7	88,77	2	1	3	1	0
7	3		89,89	89,01	2	1	3	1	0
8	1	84,28	94,07	92,14	2	2	3	1	1
8	1		93,28	93,35	2	2	3	1	1
8	2	85,79	93,15	90,89	2	2	3	1	1
8	2		92,93	91,44	2	2	3	1	1
8	3	80,48	89,84	88,98	2	2	3	1	1
8	3		89,84	88,48	2	2	3	1	1



**ANEXO 4**

**ANALISIS ESTADISTICOS**

**PARTE I**  
**ANALISIS ESTADISTICOS : DIGESTIBILIDAD DE MATERIA SECA.**  
**GRUPOS ANALIZADOS : 1, 2, 3, 4, 6, Y 8**  
**GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 Y 8**  
**ANOVA : TWO - WAY Y ONE - WAY**

DMS  
by OXIDACION GRADO DE OXIDACION  
VITE VITAMINA E

Total Population

84.01  
(24)

OXIDACION

1	2	3
84.36	83.77	83.95
(6)	(6)	(12)

VITE

1	2
84.10	83.92
(12)	(12)

		VITE	
		1	2
OXIDACION	1	85.25 (3)	83.48 (3)
	2	82.66 (3)	84.88 (3)
	3	84.25 (6)	83.65 (6)

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

DMS  
by OXIDACION GRADO DE OXIDACION  
VITE VITAMINA E

HIERARCHICAL sums of squares  
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	1.347	3	.449	.151	.928
OXIDACION	1.138	2	.569	.192	.827
VITE	.209	1	.209	.070	.794
2-Way Interactions	12.985	2	6.493	2.187	.141
OXIDACION VITE	12.985	2	6.493	2.187	.141
Explained	14.332	5	2.866	.966	.465
Residual	53.438	18	2.969		
Total	67.770	23	2.947		

49 cases were processed.  
25 cases (51.0 pct) were missing.

DMS  
by VITE VITAMINA E  
ETQ ETHOXIQUIN

Total Population

84.01  
(24)

VITE

1	2
84.10	83.92
(12)	(12)

ETQ

1	2
84.10	83.98
(6)	(18)

ETQ

	1	2
VITE		
1	84.41	84.00
	(3)	(9)
2	83.79	83.96
	(3)	(9)

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

DMS  
by VITE VITAMINA E  
ETQ ETHOXIQUIN

HIERARCHICAL sums of squares  
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
<b>Main Effects</b>	.274	2	.137	.041	.960
VITE	.209	1	.209	.062	.805
ETQ	.065	1	.065	.019	.891
<b>2-Way Interactions</b>	.387	1	.387	.115	.738
VITE ETQ	.387	1	.387	.115	.738
<b>Explained</b>	.661	3	.220	.066	.977
<b>Residual</b>	67.109	20	3.355		
<b>Total</b>	67.770	23	2.947		

49 cases were processed.  
25 cases (51.0 pct) were missing.

-----ONEWAY-----

Variable DMS  
By Variable DIETA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	5	13.9443	2.7889	.6782	.6484
Within Groups	12	49.3459	4.1122		
Total	17	63.2902			

Group	Count	Standard Mean	Standard Deviation	Error	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 1	3	85.2500	2.1392	1.2351	79.9358 TO 90.5642
Grp 2	3	83.4800	1.8574	1.0724	78.8658 TO 88.0942
Grp 3	3	82.6600	1.6989	.9808	78.4398 TO 86.8802
Grp 4	3	84.8833	1.6387	.9461	80.8126 TO 88.9541
Grp 6	3	84.0900	1.8945	1.0938	79.3837 TO 88.7963
Grp 8	3	83.5167	2.7361	1.5797	76.7198 TO 90.3135
Total	18	83.9800	1.9295	.4548	83.0205 TO 84.9395

GROUP	MINIMUM	MAXIMUM
Grp 1	82.7800	86.5100
Grp 2	81.6800	85.3900
Grp 3	80.8500	84.2200
Grp 4	83.0200	86.1000
Grp 6	82.7100	86.2500
Grp 8	80.4800	85.7900

TOTAL 80.4800 86.5100

-----ONEWAY-----

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
.4070	5	12	.835

-----ONEWAY-----

Variable DMS  
By Variable DIETA

Multiple Range Tests: Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$MEAN(J)-MEAN(I) \geq 1.4339 * RANGE * \sqrt{(1/N(I) + 1/N(J))}$$

with the following value(s) for RANGE:

Step	2	3	4	5	6
RANGE	3.08	3.22	3.32	3.37	3.41

- No two groups are significantly different at the .050 level

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 3	Grp 2	Grp 8	Grp 6	Grp 4
Mean	82.6600	83.4800	83.5167	84.0900	84.8833
Group	Grp 1				
Mean	85.2500				

----- ONEWAY -----

Variable DMS  
By Variable DIETA

Analysis of Variance

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	3	1.3462	.4487	.1382	.9344
Within Groups	8	25.9768	3.2471		
Total	11	27.3230			

Group	Count	Standard Mean	Standard Deviation	Error	95 Pct Conf Int for Mean
Grp 5	3	84.4133	1.2024	.6942	81.4264 TO 87.4003
Grp 6	3	84.0900	1.8945	1.0938	79.3837 TO 88.7963
Grp 7	3	83.7867	.6837	.3947	82.0883 TO 85.4851
Grp 8	3	83.5167	2.7361	1.5797	76.7198 TO 90.3135
Total	12	83.9517	1.5760	.4550	82.9503 TO 84.9530

GROUP	MINIMUM	MAXIMUM
Grp 5	83.1000	85.4600
Grp 6	82.7100	86.2500
Grp 7	83.0300	84.3600
Grp 8	80.4800	85.7900
TOTAL	80.4800	86.2500

----- ONEWAY -----

Levene Test for Homogeneity of Variances

Statistic	df1	df2	2-tail Sig.
2.4120	3	8	.142

----- ONEWAY -----

Variable DMS  
By Variable DIETA

Multiple Range Tests: Duncan test with significance level .05  
The difference between two means is significant if  
 $MEAN(J) - MEAN(I) \geq 1.2742 * RANGE * \sqrt{(1/N(I) + 1/N(J))}$   
with the following value(s) for RANGE: .

Step	2	3	4
RANGE	3.26	3.40	3.48

- No two groups are significantly different at the .050 level  
Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1	Grp 8	Grp 7	Grp 6	Grp 5
Mean	83.5167	83.7867	84.0900	84.4133

ANEXO 4

PARTE II

ANALISIS ESTADISTICOS : DIGESTIBILIDAD DE LIPIDOS Y PROTEINA.

GRUPOS ANALIZADOS: 1, 2, 3, 4, 6 Y 8

GRUPOS ANALIZADOS: 5, 6, 7 Y 8

ANOVA : TRIFACTORIAL Y ONE - WAY

SE SELECCIONAN DATOS DE LAS DIETAS 1,2,3,4,6 Y 8

DIGLIP

by OXIDACION GRADO DE OXIDACION

VITE

VITAMINA E

REPLIC

Total Population

91.60

(36)

OXIDACION

1	2	3
91.61	91.58	91.60
(12)	(12)	(12)

VITE

1	2
91.74	91.45
(18)	(18)

REPLIC

1	2	3
93.12	91.47	90.20
(12)	(12)	(12)

VITE

	1	2
OXIDACION		
1	91.83	91.39
	(6)	(6)
2	91.09	92.08
	(6)	(6)
3	92.31	90.88
	(6)	(6)

REPLIC

	1	2	3
OXIDACION			
1	92.33	91.36	91.13
	(4)	(4)	(4)
2	93.97	91.33	89.45
	(4)	(4)	(4)



3	93.05 (4)	91.73 (4)	90.02 (4)
---	--------------	--------------	--------------

		REPLIC		
		1	2	3
VITE	1	93.08 (6)	91.54 (6)	90.61 (6)
	2	93.15 (6)	91.41 (6)	89.78 (6)

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

DIGLIP  
by OXIDACIO GRADO DE OXIDACION  
VITE VITAMINA E  
REPLIC

EXPERIMENTAL sums of squares  
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	52.128	5	10.426	32.164	.000
OXIDACIO	.004	2	.002	.006	.994
VITE	.786	1	.786	2.425	.137
REPLIC	51.339	2	25.669	79.192	.000
2-Way Interactions	21.883	8	2.735	8.439	.000
OXIDACIO VITE	8.878	2	4.439	13.696	.000
OXIDACIO REPLIC	11.663	4	2.916	8.996	.000
VITE REPLIC	1.341	2	.671	2.069	.155
3-Way Interactions	4.037	4	1.009	3.114	.041
OXIDACIO VITE REPLIC	4.037	4	1.009	3.114	.041
Explained	78.049	17	4.591	14.164	.000
Residual	5.835	18	.324		
Total	83.884	35	2.397		

36 cases were processed.  
0 cases (.0 pct) were missing.

\*\*\* CELL MEANS \*\*\*

DIGPRO digest. proteina  
 by OXIDACIO GRADO DE OXIDACION  
 VITE VITAMINA E  
 REPLIC

Total Population  
 91.87  
 (36)

OXIDACIO  
 1 2 3  
 91.85 91.76 92.00  
 (12) (12) (12)

VITE  
 1 2  
 91.72 92.02  
 (18) (18)

REPLIC  
 1 2 3  
 92.89 91.33 91.39  
 (12) (12) (12)

VITE  
 1 2  
 OXIDACIO  
 1 92.33 91.37  
 (6) (6)  
 2 91.00 92.51  
 (6) (6)  
 3 91.82 92.19  
 (6) (6)

REPLIC  
 1 2 3

OXIDACIO

1	92.54 (4)	91.42 (4)	91.58 (4)
2	92.72 (4)	91.06 (4)	91.49 (4)
3	93.42 (4)	91.51 (4)	91.08 (4)

REPLIC

	1	2	3
VITE			
1	92.50 (6)	90.96 (6)	91.68 (6)
2	93.29 (6)	91.69 (6)	91.09 (6)

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

DIGPRO digest. proteina  
by OXIDACIO GRADO DE OXIDACION  
VITE VITAMINA E  
REPLIC

EXPERIMENTAL sums of squares  
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
<b>Main Effects</b>	20.176	5	4.035	26.620	.000
OXIDACIO	.373	2	.187	1.231	.316
VITE	.849	1	.849	5.604	.029
REPLIC	18.953	2	9.477	62.517	.000
<b>2-Way Interactions</b>	15.264	8	1.908	12.587	.000
OXIDACIO VITE	9.191	2	4.596	30.316	.000
OXIDACIO REPLIC	2.378	4	.595	3.922	.018
VITE REPLIC	3.695	2	1.847	12.188	.000
<b>3-Way Interactions</b>	14.686	4	3.671	24.220	.000
OXIDACIO VITE REPLIC	14.686	4	3.671	24.220	.000
<b>Explained</b>	50.126	17	2.949	19.451	.000
<b>Residual</b>	2.729	18	.152		
<b>Total</b>	52.854	35	1.510		

36 cases were processed.  
0 cases (.0 pct) were missing.

SE SELECCIONAN LOS DATOS DE LAS DIETAS 5, 6, 7, Y 8

\*\*\* CELL MEANS \*\*\*

DIGLIP  
by VITE VITAMINA E  
ETQ ETHOXIQUIN  
REPLIC

Total Population  
92.22  
(24)

VITE  
1 2  
93.46 90.97  
(12) (12)

ETQ  
1 2  
92.84 91.60  
(12) (12)

REPLIC  
1 2 3  
93.45 92.26 90.94  
(8) (8) (8)

ETQ  
1 2

VITE			
1	94.61	92.31	
	(6)	(6)	
2	91.07	90.88	
	(6)	(6)	
REPLIC			
	1	2	3
VITE			
1	94.09	93.22	93.07
	(4)	(4)	(4)
2	92.82	91.29	88.81
	(4)	(4)	(4)
REPLIC			
	1	2	3
ETQ			
1	93.86	92.78	91.87
	(4)	(4)	(4)
2	93.05	91.73	90.02
	(4)	(4)	(4)

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

DIGLIP  
by VITE VITAMINA E  
ETQ ETHOXIQUIN  
REPLIC

EXPERIMENTAL sums of squares  
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects					
VITE	37.151	1	37.151	106.886	.000
ETQ	9.250	1	9.250	26.614	.000
REPLIC	25.244	2	12.622	36.314	.000
2-Way Interactions					
VITE ETQ	6.678	1	6.678	19.214	.001
VITE REPLIC	9.899	2	4.949	14.240	.001
ETQ REPLIC	1.184	2	.592	1.703	.223
3-Way Interactions					
VITE ETQ REPLIC	1.244	2	.622	1.790	.209

Explained	90.650	11	8.241	23.710	.000
Residual	4.171	12	.348		
Total	94.821	23	4.123		

24 cases were processed.  
.0 cases (.0 pct) were missing.

\*\*\* CELL MEANS \*\*\*

DIGPRO digest. proteina  
by VITE VITAMINA E  
ETQ ETHOXIQUIN  
REPLIC

Total Population  
91.73  
(24)

VITE  
1 2  
91.78 91.67  
(12) (12)

ETQ  
1 2  
91.46 92.00  
(12) (12)

REPLIC

1	2	3
93.14	91.15	90.90
(8)	(8)	(8)

ETQ		
	1	2
VITE		
1	91.75	91.82
	(6)	(6)
2	91.16	92.19
	(6)	(6)

REPLIC			
	1	2	3
VITE			
1	93.12	90.75	91.48
	(4)	(4)	(4)
2	93.15	91.56	90.32
	(4)	(4)	(4)

REPLIC			
	1	2	3
ETQ			
1	92.85	90.80	90.71
	(4)	(4)	(4)
2	93.42	91.51	91.08
	(4)	(4)	(4)

\*\*\* ANALYSIS OF VARIANCE \*\*\*

DIGPRO digest. proteina  
 by VITE VITAMINA E  
 ETQ ETHOXIQUIN  
 REPLIC

EXPERIMENTAL sums of squares  
 Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
Main Effects	25.863	4	6.466	33.756	.000
VITE	.072	1	.072	.373	.553



ETQ	1.799	1	1.799	9.390	.010
REPLIC	23.993	2	11.997	62.630	.000
2-Way Interactions	5.371	5	1.074	5.608	.007
VITE ETQ	1.349	1	1.349	7.043	.021
VITE REPLIC	3.910	2	1.955	10.205	.003
ETQ REPLIC	.112	2	.056	.293	.752
3-Way Interactions	12.906	2	6.453	33.689	.000
VITE ETQ REPLIC	12.906	2	6.453	33.689	.000
Explained	44.140	11	4.013	20.949	.000
Residual	2.299	12	.192		
Total	46.438	23	2.019		

24 cases were processed.

0 cases (.0 pct) were missing.

ETQ ETHOXIQUIN  
REPLIC

EXPERIMENTAL sums of squares  
Covariates entered FIRST

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig of F
<b>Main Effects</b>	<b>25.863</b>	<b>4</b>	<b>6.466</b>	<b>33.756</b>	<b>.000</b>
VITE	.072	1	.072	.373	.553
ETQ	1.799	1	1.799	9.390	.010
REPLIC	23.993	2	11.997	62.630	.000
<b>2-Way Interactions</b>	<b>5.371</b>	<b>5</b>	<b>1.074</b>	<b>5.608</b>	<b>.007</b>
VITE ETQ	1.349	1	1.349	7.043	.021
VITE REPLIC	3.910	2	1.955	10.205	.003
ETQ REPLIC	.112	2	.056	.293	.752
<b>3-Way Interactions</b>	<b>12.906</b>	<b>2</b>	<b>6.453</b>	<b>33.689</b>	<b>.000</b>
VITE ETQ REPLIC	12.906	2	6.453	33.689	.000
<b>Explained</b>	<b>44.140</b>	<b>11</b>	<b>4.013</b>	<b>20.949</b>	<b>.000</b>
<b>Residual</b>	<b>2.299</b>	<b>12</b>	<b>.192</b>		
<b>Total</b>	<b>46.438</b>	<b>23</b>	<b>2.019</b>		

24 cases were processed.  
0 cases (.0 pct) were missing.

