



# **ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL**

## **Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar**



**BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA**

### **DIGESTIBILIDAD Y VALOR NUTRICIONAL DE ALGUNAS MATERIAS PRIMAS USADAS EN LA ELABORACION DE BALANCEADOS PARA EL PENAEUS VANNAMEI**

#### **TESIS DE GRADO**

#### **Previo a la obtención del Título de ACUICULTOR**

**Presentado por:**

**Carlos A. Jurado Navarrete**

**Guayaquil - Ecuador**

**1.994**

## AGRADECIMIENTO

Quisiera agradecer muy sinceramente a quien desde mis inicios siempre me ha brindado su apoyo para cualquier actividad que emprenda...A mi padre, Abgdo. Carlos Jurado Franco, por la esmerada educación que se ha preocupado en impartirme.

De igual manera, doy también las gracias a mi familia y al Colegio San José La Salle, a quienes debo el buen nivel de preparación alcanzado.

Es imprescindible mencionar también a mis profesores y a mis compañeros y amigos durante mis estudios universitarios en la ESPOL, por su constante apoyo en la culminación de mi carrera.

Al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), sitio donde se desarrolló la tesis, y a quienes lo conforman...

...Al Ing. Qco. Andrés Pedrazzoli R., Director de Tesis, por su valiosa ayuda prestada en la realización de esta obra.

...Al Ac. Henry Alvarez A., Supervisor de Tesis, por su acuciosa revisión y acertadas sugerencias.

...A la Tecnlga. Al. Soraya Townsend P., por su importante colaboración en el desarrollo del bioensayo.

...A la Tecnlga. Al. Aurora León-Hing K. y a la Q.F. Yela Paredes M., por su ayuda en la realización de los análisis químicos.

...A mi buena amiga, la Tecnlga. Med. Ingrid Banda T., por su ayuda en la impresión de la tesis y a todos quienes de una u otra forma colaboraron en el desarrollo de esta tesis queda constancia de mi gratitud imperecedera...

# DEDICATORIA

*A LA MEMORIA DE MI MADRE,  
María Magdely Navarrete de Jurado...*



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA

# DECLARACION EXPRESA



BIBLIOTECA  
POL. ING.  
ESPOL

" La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL ".

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).

A handwritten signature in cursive script, reading "Carlos A. Jurado Navarrete".

.....  
Carlos. A Jurado Navarrete.



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
LIBERTEC

.....  
Ing. Raúl Coello F.  
Presidente del Tribunal

.....  
Ing. Andrés Pedrazzoli R.  
Director de Tesis

.....  
Dr. Jorge Calderón V.  
Miembro Principal

.....  
Ac. Henry Álvarez A.  
Miembro Principal

## RESUMEN

La composición nutricional y las digestibilidades aparentes de la materia seca, lípidos, ácidos grasos y proteínas fueron determinadas para cinco materias primas utilizadas en dietas experimentales proporcionadas a camarones *Penaeus vannamei*.

Las materias primas empleadas fueron harina de cáscara de arroz, pasta de soya, harina de cabeza de camarón, harina de pescado y harina de calamar. Un total de seis dietas fueron preparadas, siendo una de ellas la dieta control, la cual no poseía una materia prima a probarse como fuente de nutrientes. Todas las dietas, excepto la control, contenían un 50% de la materia prima de prueba.

De acuerdo a su composición nutricional, la harina de calamar, la harina de pescado y la harina de cabeza de camarón, esto es, las materias primas de origen animal, presentan un mejor porcentaje de proteínas y lípidos que aquellas de origen vegetal.

En cuanto a la digestibilidad aparente de la materia seca, esta fluctuó entre -16.13% y 95.19%. La dieta control no fue digerida y más bien se estima la pérdida material endógeno según los resultados. La digestibilidad aparente de los lípidos varió entre 69.80% y 92.33%. Entre los ácidos grasos linoleico (18:2n-6), linolénico (18:3n-3), eicosapentaenoico (20:5n-3) y docosahexaenoico (22:6n-3), generalmente el ácido linolénico presentó una mejor digestibilidad en comparación a los otros ácidos grasos esenciales. Aunque no hubo mayor diferencia entre las digestibilidades aparentes de las series linoleica y linolénica de ácidos grasos, los ácidos grasos insaturados resultaron mejor digeridos que los ácidos grasos saturados. La digestibilidad aparente de la proteína varió entre 73.09 y 90.69% entre la harina de pescado, harina de cabeza de camarón y harina de cáscara de arroz.



INIA  
INSTITUTO  
NACIONAL DE  
ALIMENTOS Y  
NUTRICIÓN

## INDICE

RESUMEN .....	5
INDICE GENERAL .....	6
INDICE DE FIGURAS .....	8
INDICE DE TABLAS .....	9
INTRODUCCION .....	10
<b>CAPITULO I.</b>	
EL SISTEMA DIGESTIVO DE LOS PENEIDOS	
1.1 Morfología .....	13
1.2 Intestino anterior, medio y posterior .....	13
1.3 Fisiología del sistema digestivo .....	18
1.4 Enzimas digestivas .....	19
<b>CAPITULO II.</b>	
DIGESTIBILIDAD Y METODOS DE DETERMINACION	
2.1 Concepto e importancia general.....	21
2.2 Método <i>in vivo</i> .....	22
<b>CAPITULO III.</b>	
MATERIAS PRIMAS	
3.1 Generalidades .....	26
3.2 Tipos de materias primas y sus características nutricionales.....	28
3.3 Digestibilidad de materias primas .....	32

**CAPITULO IV.****DISEÑO EXPERIMENTAL**

4.1	Instalación del sistema .....	35
4.2	Preparación de dietas .....	38
4.3	Recolección de muestras fecales para análisis .....	40

**CAPITULO V.****METODOLOGIA**

5.1	Manejo del sistema .....	44
5.2	Análisis de parámetros químicos .....	46
5.3	Tabulación de los resultados .....	47
5.4	Digestibilidad: cálculos .....	51

**CAPITULO VI.****ANALISIS DE RESULTADOS**

6.1	Nutrientes principales .....	53
6.2	Acidos grasos esenciales .....	55
6.3	Series linoleica y linolénica de ácidos grasos .....	56
6.4	Acidos grasos saturados e insaturados .....	57

	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	58
--	--------------------------------------	----

	BIBLIOGRAFIA .....	64
--	--------------------	----



CENAIM  
C. A. G.  
1973

## INDICE DE FIGURAS

<b>Fig. 1.</b>	El sistema digestivo .....	13
<b>Fig. 2.</b>	Proventrículo .....	14
<b>Fig. 3.</b>	Sección transversal de la región media de la cámara posterior del proventrículo .....	15
<b>Fig. 4.</b>	Sección transversal de la región tubular del intestino medio .....	16
<b>Fig. 5.</b>	Recto y divertículo posterior .....	17
<b>Fig. 6.</b>	Especímenes utilizados en el bioensayo .....	35
<b>Fig. 7.</b>	Control diario de parámetros .....	36
<b>Fig. 8.</b>	Dietas elaboradas en la planta piloto del CENAIM....	37
<b>Fig. 9.</b>	Distintos sistemas de recolección de heces .....	40
<b>Fig. 10.</b>	Sistema empleado para la recolección de heces .....	43

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b>	Peso promedio inicial de los camarones por tanque...	36
<b>Tabla II.</b>	Composición de las dietas .....	38
<b>Tabla III.</b>	Análisis proximal de las materias primas .....	47
<b>Tabla IV.</b>	Análisis proximal de las dietas .....	49
<b>Tabla V.</b>	Composición de ácidos grasos esenciales de las dietas .....	49
<b>Tabla VI.</b>	Número de camarones muertos por tanques o dieta .....	51
<b>Tabla VII.</b>	Digestibilidad aparente de la materia seca, lípidos y proteínas de las dietas experimentales en el <i>Penaeus vannamei</i> .....	53
<b>Tabla VIII.</b>	Digestibilidad aparente de los ácidos grasos esenciales de las dietas experimentales en el <i>Penaeus vannamei</i> .....	55
<b>Tabla IX.</b>	Digestibilidad aparente de las series de ácidos grasos n-3 y n-6 de las dietas experimentales en el <i>Penaeus vannamei</i> .....	56
<b>Tabla X.</b>	Digestibilidad aparente de los ácidos grasos saturados e insaturados de las dietas experimentales en el <i>Penaeus vannamei</i> .....	57



COMISIÓN NACIONAL  
DE CONTROL DE ALIMENTOS  
Y DROGAS

## INTRODUCCION

En 1992 existían 25 fábricas de balanceado para camarón en el país, las cuales según ciertos productores no satisfacían las exigencias sobre calidad (NOAA, 1992), debido en especial a la fuerte demanda existente en aquel entonces (Aiken, 1990).

Por otra parte, el constante incremento del costo de los insumos utilizados en las operaciones acuícolas indujo muchas veces a una disminución del consumo de alimento, para así mantener la rentabilidad de la empresa considerando que la alimentación constituye uno de los rubros más importantes en cuanto a los costos de operación (Akiyama *et al.*, 1991).

Durante el período de Octubre de 1988 a Octubre de 1992 el precio del alimento se elevó en un 564%, mientras que el precio de la libra de cola de camarón cayó de \$ 4.22 en promedio para 1986, a tan solo \$2.79 para Agosto de 1993 (CPC, 1993). Esto obligó a que los productores tomen medidas alternativas, como sembrar a menores densidades, lo cual redujo la inversión en balanceados.

Ante tal circunstancia, las empresas productoras de balanceado han tenido la necesidad de mejorar la calidad del alimento producido, a fin de volverlo más atractivo para el consumidor, pero al mismo tiempo, evitar el gasto excesivo en su elaboración, con el propósito de que su precio final sea asequible al mayor número de productores de camarón.

Un alimento balanceado está constituido en su mayor parte por materias primas seleccionadas como fuentes de nutrientes. De la selección de los ingredientes a incluirse en el mismo, dependerá en gran parte su éxito o fracaso en una determinada actividad acuícola.

Esta selección de la materia prima adecuada se basa en la

evaluación individual de los ingredientes. Un criterio común en nuestro medio para evaluar una materia prima considera su composición nutricional. Sin embargo, a este aspecto debe sumarse la estimación de la digestibilidad de ese ingrediente, pues aunque su perfil de nutrientes sea considerado como bueno, su efecto no será suficientemente beneficioso si su eficiencia de asimilación es baja.

La digestibilidad, considerada como la habilidad de las especies para digerir una materia particular, puede estimarse en forma directa por la recolección cuantitativa de las excreciones o indirectamente por algún marcador indigerible en el alimento (Halver, 1989). Este último método se ha preferido para las especies acuáticas por la dificultad de recoger toda la materia fecal.

Con el método indirecto, la digestibilidad se obtiene observando las relaciones entre el componente alimenticio de interés y una sustancia de referencia no absorbible, en el alimento y en las heces. La concentración de la sustancia marcadora aumenta cuando un nutriente es digerido y absorbido. Aunque varios indicadores están disponibles, el óxido de cromo III ha sido preferido para experimentos con peces (Lied *et al.*, 1982).

Para las dietas utilizadas en el actual bioensayo se utilizó el óxido de cromo III principalmente por lo común de su uso y porque su técnica de determinación ha sido revisada en varias oportunidades. Sin embargo, algunas consideraciones deben hacerse al utilizar este tipo de marcador añadido a la dieta y las mismas son indicadas en este trabajo.

Sólo se ha calculado la digestibilidad aparente, que no toma en cuenta las pérdidas de nutrientes de origen endógeno (secreciones intestinales), las cuales son consideradas como parte de las heces.

También es importante identificar la especie (en el caso de alimento vivo) o la composición de la muestra de materia ingerida

para saber lo que los coeficientes de digestión representan (Lovell, 1989).

El propósito del presente estudio es evaluar diversas materias primas con posibilidad de uso en balanceados para camarón de acuerdo a su digestibilidad y composición nutricional.

# CAPITULO I

## EL SISTEMA DIGESTIVO DE LOS PENEIDOS

### 1.1 MORFOLOGIA.

El tracto digestivo de los peneidos consiste básicamente en un tubo simple que recorre casi toda la longitud del cuerpo, desde la boca anteroventral hasta el ano, en el extremo del último somito corporal (Hickman, 1973; Dall y Moriarty, 1983; Chuang, 1990). Puede ser dividido en tres regiones: el intestino anterior, complejo y recubierto de cutícula, de origen ectodérmico; el intestino medio, derivado del endodermo y un intestino posterior, proveniente también del ectodermo, revestido por cutícula.

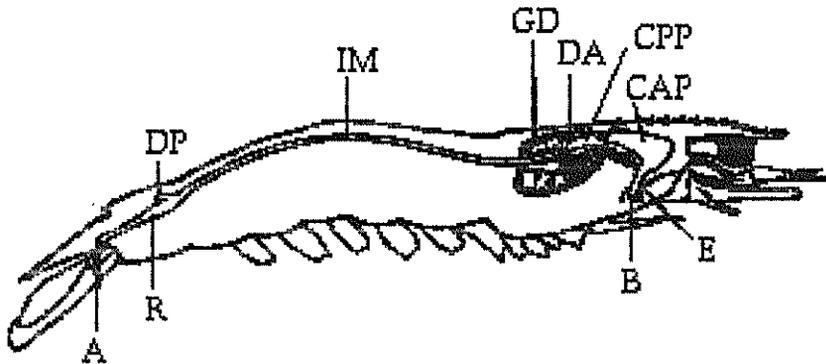


Fig. 1. El sistema digestivo. B, boca; E, esófago; CAP, cámara anterior del proventrículo; CPP, cámara posterior del proventrículo; DA, divertículo anterior del intestino medio; GD, glándula digestiva; IM, intestino medio; DP, divertículo posterior del intestino medio; R, recto; A, ano (Dall *et al.*, 1990).

### 1.2 INTESTINO ANTERIOR, MEDIO Y POSTERIOR.

#### El intestino anterior.

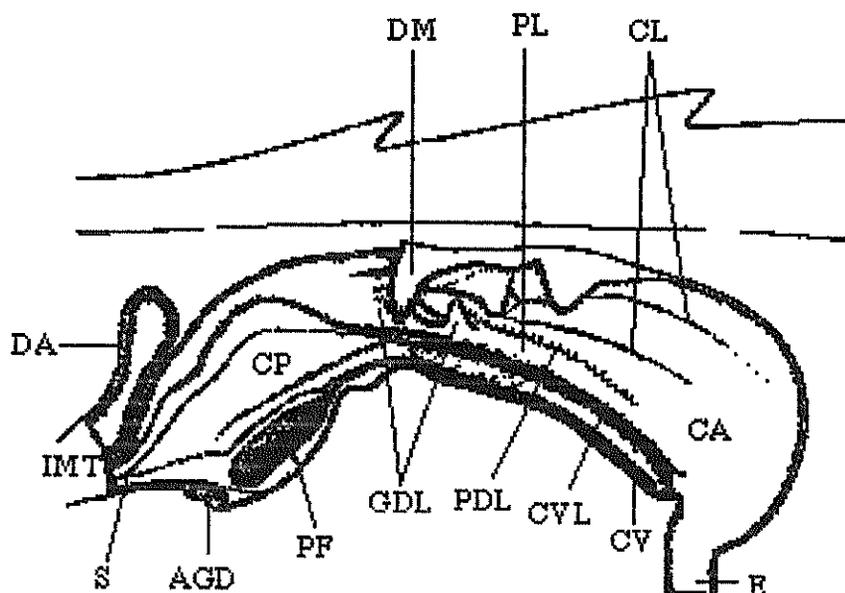
Diferentes denominaciones ha recibido el intestino anterior, tales como "aparato estomodeal", "estómago" o "proventrículo". Esta última por su analogía con los insectos, donde representa una



UNIVERSIDAD  
DE MARILUZ  
1976

región entre el buche y el intestino medio. Dall *et al.* (1990) utilizan el término "proventrículo" para referirse al intestino anterior de los decápodos, sin incluir al esófago y sus estructuras asociadas. Así pues, el intestino anterior de los peneidos consiste básicamente de tres zonas principales: boca, esófago y proventrículo.

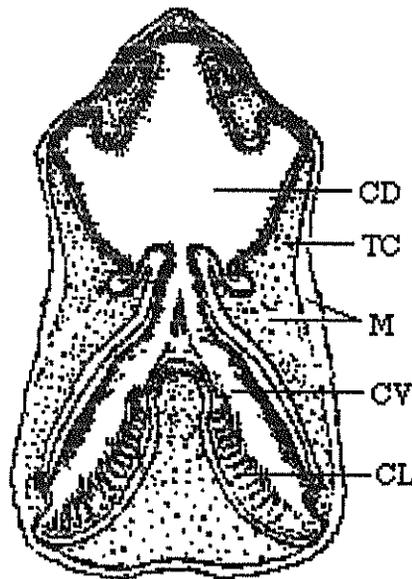
La boca está formada por el labrum, o labio superior; un par de mandíbulas y un par de paragnathas, los que constituyen el labio inferior (Hickman, 1973; Bell y Lightner, 1988). Esta conduce hacia un corto esófago vertical, el cual presenta una estructura tubular y se abre hacia el lumen de la parte anterior del proventrículo (Gibson, 1981).



**Fig. 2.** Proventrículo. E, esófago; CA, cámara anterior; CL, canales laterales; CV, canal ventral; CVL, canal ventro-lateral; PDL, pequeños dientes laterales (dientes cardiacos); PL, placa lateral (placa cardiaca); GDL, grandes dientes laterales (osículo zigocardiaco); DM, diente medio (osículo prepilórico); PF, prensa-filtro (prensa pilórica); CP, cámara posterior; AGD, abertura de la glándula digestiva; S, solapillas; IMT, región tubular del intestino medio; DA, divertículo anterior (Dall *et al.*, 1990).

El proventrículo está dividido en dos cámaras principales. Una cámara anterior que es expansible y cuya parte posterior está constituida por una serie de placas calcificadas u osículos (el

molinillo gástrico), y una cámara posterior, subdividida en regiones superior e inferior, siendo la primera un canal de paso hacia el intestino medio, y la otra, una prensa-filtro o tamiz gástrico, con forma de W comprimida en sección transversa, el cual conduce a la glándula digestiva .



**Fig. 3.** Sección transversal de la región media de la cámara posterior del proventrículo. CD, compartimiento dorsal; TC, tejido conectivo; M, músculo; CV, compartimiento ventral; CL, canal longitudinal (Dall *et al.*, 1990).

### El intestino medio.

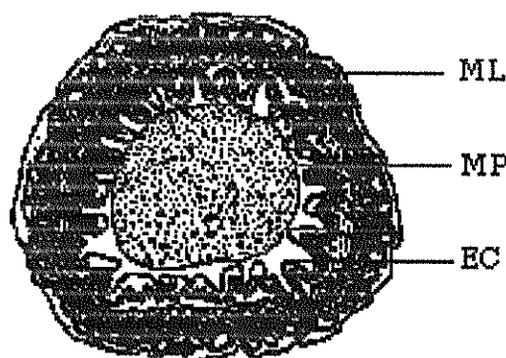
Puede ser dividido en dos partes principales: glándula digestiva y región tubular simple. Dall *et al.* (1990) estiman que sus funciones básicas son la secreción de enzimas digestivas y la absorción de nutrientes .

La glándula digestiva, también denominada glándula del intestino medio, es un órgano bilobulado que ocupa gran parte del espacio cefalotorácico (Gibson, 1981). Está compuesta por muchos túbulos formados por epitelio simple con bordes microvellosos.

Fino tejido conectivo y delgadas miofibrillas separan un túbulo de otro. El ápice de cada túbulo presenta células embrionicas (E), hacia la parte media se observan las células F y R y en la región proximal del túbulo se hallan las células B (Bell y Lightner, 1988).

Las células F (fibrilares) son secretoras, contienen gránulos de zimógeno (activadores enzimáticos) y sirven para la absorción de los materiales solubles, según sostuvieron Al-Mohanna y Nott en 1987. Las células R son el mayor sitio de almacenamiento del cuerpo, principalmente de lípidos y glicógeno. Hacia la parte basal de cada túbulo las células F se transforman en células B, caracterizadas por grandes vacuolas de enzimas digestivas que son liberadas hacia el intestino (Dall *et al.*, 1990).

El resto del intestino medio es un tubo directo ubicado en la región dorsal del abdomen y se extiende desde el cefalotórax hasta el recto. Está revestido por un epitelio simple con pliegues (Bell y Lightner, 1988), rodeado por una capa de músculo circular con haces de músculo longitudinal inmersos en tejido conectivo y numerosos espacios llenos de hemolinfa. Dall y Moriarty (1983) consideran improbable que esta región del intestino medio sea el principal lugar de absorción de nutrientes pues su área superficial es pequeña comparada con aquella de los túbulos de la glándula digestiva.



**Fig. 4.** Sección transversal de la región tubular del intestino medio. ML, músculo longitudinal; MP, membrana peritrofica; EC, epitelio columnar (Dall *et al.*, 1990).

Una membrana peritrófica es segregada por un anillo de células detrás de las aberturas de la glándula digestiva, en el intestino medio, la cual encierra el quimo (Bell y Lightner, 1988). Esta membrana es de un material delicado de baja densidad de electrones y permeable a grandes moléculas aunque posiblemente también a partículas submicroscópicas, lo cual ayudaría a que la digestión y absorción prosigan en el intestino medio. De esta membrana se piensa que sirve para proteger al intestino de material abrasivo en las heces y es considerada como un auxiliar eficiente para la defecación (Dall y Moriarty, 1983).

En los extremos del intestino medio se encuentran los divertículos anterior y posterior, respectivamente, los cuales sirven para incrementar el área de absorción.

### El intestino posterior.

Constituido por el recto, es corto y posee fibras musculares. Internamente presenta seis cordoncillos o pliegues a manera de almohadillas, provistos de una superficie lisa y tejido esponjoso, los cuales llenan el lumen del intestino posterior. Estas almohadillas se afinan hacia atrás en cordones longitudinales de músculo. Su función básica parece ser presionar el hilo fecal en la membrana peritrófica y expulsarlo (Dall y Moriarty, 1983; Dall *et al.*, 1990).

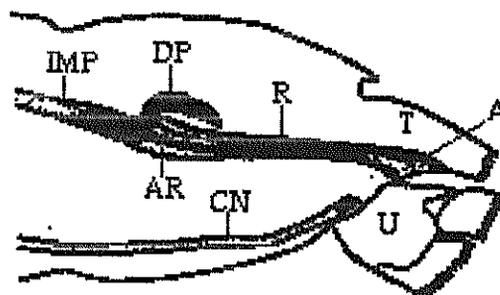


Fig. 5. Recto y divertículo posterior. IMP, intestino medio posterior; DP, divertículo posterior; AR, almohadilla rectal; R, recto; CN, cordón nervioso; T, telson; A, ano; U, urópodo (Dall *et al.*, 1990).

### 1.3 FISILOGIA DEL SISTEMA DIGESTIVO.

En los peneidos, la digestión resulta de la combinación de procesos mecánicos y químicos. Los procesos mecánicos incluyen la trituración, efectuada en el intestino anterior, y la peristalsis, la cual sirve para impulsar el contenido intestinal gracias al movimiento en forma de onda sinuosa que ocurre en el esófago, intestino medio y posterior, fácilmente distinguible al microscopio en estas dos últimas zonas.

Los peneidos desgarran los alimentos con sus apéndices de la masticación para que puedan pasar hacia el esófago y de aquí al proventrículo, donde el molinillo gástrico realiza la trituración del alimento, que luego pasa a través de un aparato de filtración (Hickman, 1973). Las partículas más grandes cruzan directamente por medio de un embudo al intestino medio, mientras que las más finas entran a los conductillos de la glándula digestiva (Chuang, 1990).

Por lo expuesto, el proventrículo posee dos funciones principales: reducir el alimento ingerido a una pasta, el quimo, disponible para la acción enzimática, y seleccionar aquellas partículas más pequeñas para que ingresen a la glándula digestiva. En el proventrículo se realiza la digestión extracelular. Aquí el alimento se mezcla con parte de los jugos digestivos segregados por la glándula media, que contienen diversos tipos de enzimas y su efecto hidrolítico se complementa con la acción de sustancias emulsificantes que juegan un papel importante en la digestión y absorción de las grasas (Gibson, 1981).

Estos jugos digestivos fluyen a lo largo de los canales laterales del proventrículo hasta la cámara anterior donde se mezclan con el alimento. El fluido resultante y las finas partículas son impulsados luego hacia los canales ventrales, cuyas abundantes setas excluyen las partículas más grandes. Este líquido, el quimo, fluye ventralmente a

la prensa-filtro, la cual excluye partículas mayores de 1  $\mu\text{m}$  y luego, gracias a las contracciones de las miofibrillas, ingresa a los túbulos de la glándula digestiva para su absorción, aunque parte es recirculado en el intestino anterior (Dall y Moriarty, 1983; Dall *et al.*, 1990).

Debido a que la glándula digestiva está compuesta por túbulos epiteliales simples, su superficie interna total es grande y la asimilación es tanto rápida como eficiente. El proceso digestivo se completa en 3 ó 4 horas, dependiendo del tamaño o la edad del animal y la materia no digerida pasa a ser parte de la excreta contenida por la membrana peritrófica del intestino medio, constituyendo el hilo fecal. Este es presionado luego por las almohadillas rectales y expulsado a intervalos (Dall *et al.*, 1990).

#### 1.4 ENZIMAS DIGESTIVAS.

Las actividades de las enzimas digestivas reflejan los hábitos alimenticios de los animales acuáticos y se correlacionan con la habilidad para utilizar los diferentes ingredientes alimenticios en función de los tipos de enzimas activadas y el nivel de la activación (Chuang, 1990). Esto podría utilizarse como guía para seleccionar el tipo de alimento que se proporcione a una determinada especie.

En vista de que los peneidos se alimentan abundantemente con invertebrados pequeños, podría esperarse que ellos posean gran cantidad de proteasas, lipasas y carbohidrasas, lo cual ha sido corroborado por algunos estudios sobre enzimas digestivas (Dall y Moriarty, 1983). Para el caso del *Pennaeus vannamei* han sido reportados los siguientes tipos de enzima: tripsina, carboxipeptidasas A y B, aminopeptidasa, lipasa y amilasa. Todas las enzimas parecen tener un valor óptimo alrededor del pH neutral o ligeramente ácido, siendo el pH 5 inhibitorio para algunas (Dall *et al.*, 1990).

Dall y Moriarty (1983) creen posible la existencia de glucanasas (o laminarinasas) en los crustáceos, las que ayudarían a la lisis y digestión de levaduras, mohos, algas u otros microorganismos que posean  $\beta$ -1,3-glucanos como polímeros estructurales o de almacenamiento.

La secreción de enzimas extracelulares por las bacterias del intestino podría ser importante no sólo en la digestión de alimentos vivos como algas, hongos, sino también de otros alimentos ingeridos como balanceados. Hood y Meyers (1974) identificaron una flora de bacterias en el tracto digestivo del *Panopeus setiferus* caracterizada por la tolerancia al pH bajo y a la producción de enzimas extracelulares, particularmente quitinasa. Esta interviene en la digestión de la quitina proveniente de la cutícula de rotíferos, copépodos y otros crustáceos usados como harinas para balanceados. Sin embargo, parte de la quitinasa detectada en los peneidos puede ser debida a la secreción del camarón, a fin de utilizarla en la reabsorción del exoesqueleto antes de la muda. Dall y Moriarty (1983) indican que otra posible función de la actividad microbial en el tracto digestivo es el suplemento de vitaminas y aminoácidos esenciales.

Otra evidencia de la presencia de enzimas digestivas es circunstancial: proteínas, lípidos, almidón y varios disacáridos en dietas naturales o compuestas son fácilmente digeridos y absorbidos (New, 1976).

## CAPITULO II

### DIGESTIBILIDAD Y METODOS DE DETERMINACION.

#### 2.1 CONCEPTO E IMPORTANCIA GENERAL.

La digestibilidad es una forma de medir el grado en que un alimento o sus componentes nutricionales son convertidos en sustancias absorbibles por un individuo; es decir, establece la utilidad nutricional del alimento. Según Manríquez (1993, b), la digestibilidad comprende dos procesos consecutivos, la digestión que corresponde a la hidrólisis de moléculas complejas de los alimentos y la absorción de moléculas pequeñas, por ejemplo, aminoácidos y ácidos grasos. Además, sirve como un indicador de la calidad de la materia prima ya que esta puede parecer por su composición química una excelente fuente de nutrientes, pero será de poco valor real al menos que pueda ser digerida y absorbida (NRC, 1983).

Esta utilidad nutricional para un material alimenticio dado presenta variaciones intra e interespecíficas, lo que sirve para evaluar la posibilidad de inclusión de cualquier materia prima en una dieta determinada. Depende de varios factores como el tamaño de las partículas del alimento, nivel de alimentación, tamaño, edad y densidad de siembra del animal, estado físico de la dieta, temperatura, salinidad, oxígeno disuelto. En los peces parecen influir la tasa de digestión y la tasa de paso del alimento a través del intestino, también conocida como tiempo de tránsito intestinal (De Silva, 1989).

Sin embargo, la digestibilidad presenta ciertas diferencias por las condiciones a las que son expuestos los diversos nutrientes. Hood y Meyers (1984) establecen que en el tracto digestivo de peces y camarones, la proteína dietética también puede ser desdoblada por microorganismos. Como resultado, la materia fecal podría

contener proteína de origen bacterial.

Además, proteínas previamente digeridas podrían ser metabolizadas y reexcretadas hacia el tracto digestivo como enzimas y evacuarse con las heces. Las heces podrían también contener nitrógeno de la mucosa intestinal erosionada. Por lo tanto, es evidente que cuando la digestibilidad es estimada, no refleja con precisión hasta qué punto fue digerida sólo la proteína dietética. Otros nutrientes pueden comportarse en formas diferentes: El azúcar, por ejemplo, normalmente es absorbido en su totalidad y sus derivados metabólicos son eliminados completamente, sea como dióxido de carbono o agua. No ocurre lo mismo con las grasas o minerales como el calcio (De Silva, 1989).

Aún a pesar de esto, el conocimiento de la disponibilidad de nutrientes de las diversas materias primas usadas en la formulación de dietas para camarones es deseable para que se pueda realizar la eficiente sustitución de un ingrediente por otro. Tal sustitución puede ser importante en el desarrollo de dietas de bajo costo (NRC, 1983).

Diferentes maneras de evaluar la digestibilidad han sido desarrolladas en años recientes, las cuales se clasifican en dos tipos principales de mediciones: *in vitro* al someter las proteínas a una digestión artificial por enzimas que se encuentren en el tracto digestivo del animal a investigarse o *in vivo* al estimar la actividad digestiva propia del organismo *in situ*, como se explicará a continuación. Para el presente bioensayo fue escogido este último método.

## 2.2 METODOS *IN VIVO*.

La determinación de la digestibilidad envuelve la medición de la cantidad de un nutriente específico o materia prima ingerida y la sustracción de aquello que está presente en las heces luego de la



digestión (NRC, 1983). Hay dos métodos posibles: el método directo o de recolección total, que consiste en la recolección cuantitativa de las heces defecadas, y el método indirecto o con indicador que ha sido desarrollado para evitar los problemas de la recolección cuantitativa usando un marcador inerte indigerible.

Ambos métodos presentan ventajas e inconvenientes. En el caso del método de recolección total, una de sus ventajas es que puede ser usado para evaluar dietas vivas y piensos (Nöue & Choubert, 1986), cuantificando los nutrientes aportados por la dieta y excretados en las heces, y por diferencia obtener el porcentaje de nutrientes asimilado por el organismo. La mayor desventaja de este método es la necesidad de recolectar la totalidad del material fecal excretado, lo cual en organismos acuáticos como peces o camarones es muy difícil de lograr, si consideramos una probable disolución de las heces y con el inconveniente de que no todos los elementos excretados corresponden a los incorporados por la ración diaria del alimento.

La principal ventaja del método con indicador es que no se necesita la recolección total de las heces, sino que sólo basta una muestra tomada al azar que contenga el indicador. Una de las desventajas de este método en cambio es la lixiviación que sufren las heces al estar en contacto con agua circundante. Al respecto, es necesario proceder de manera uniforme en la realización de todos los procedimientos para que todas las muestras reciban el mismo grado de lixiviación, el cual debe reducirse al mínimo posible.

Para el caso de los peces y camarones, la dificultad más seria en los dos métodos es la recolección de muestras representativas (Nöue & Choubert, 1986). Debe seleccionarse un método apropiado de recolección fecal para mejorar la precisión y confiabilidad de los resultados, ya que es difícil separar las heces del agua, y evitar la contaminación de las heces con el alimento no ingerido.

No obstante, Satoh *et al.* (1992) postulan que las mayores pérdidas de nutrientes se deben al manipuleo, puesto que si las heces son el resultado de un proceso digestivo poco material soluble de origen dietético permanecería en las heces, salvo aquel de origen endógeno. Este podría ser el caso de la membrana peritrófica que recubre la materia fecal en el camarón.

Los marcadores inertes pueden ser de dos tipos: externos, es decir, sustancias extrañas artificiales introducidas al alimento en pequeñas cantidades, e internos, sustancias que son componentes del alimento en sí (De Silva, 1989). Los requerimientos para el uso de indicadores señalan que ellos no deben:

- 1) Interferir con el metabolismo digestivo del animal.
- 2) Ser absorbidos a través del lumen.
- 3) Moverse a lo largo del intestino a una velocidad diferente a la del resto del material alimenticio.
- 4) Ser tóxicos.

El método indirecto es usado por la mayoría de los nutricionistas de especies acuáticas para determinar la digestibilidad de las materias primas, siendo el óxido crómico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) el marcador externo indigerible preferido. Ciertas dificultades presentadas al utilizar marcadores externos radican en que debe asumirse que la calidad de las heces no presenta cambios con el tiempo y en la imposibilidad de utilizar a veces este tipo de marcadores, como es el caso de los alimentos vivos: artemia salina, rotíferos y copépodos (Notte & Choubert, 1986).

El óxido crómico generalmente es añadido en niveles de 0.5 a 1% en dietas experimentales y se asume que todo el óxido de cromo consumido pasa a través del tracto digestivo y aparece luego en las heces (NRC, 1983). Los cambios relativos en el porcentaje de óxido de cromo en el alimento y las heces representará el porcentaje de alimento que fue digerido por el animal. Luego de los respectivos

análisis del alimento y las heces en sus distintos componentes (humedad, proteínas, lípidos, energía..) es calculada la digestibilidad.

Al hablar de los experimentos sobre digestibilidad realizados podemos establecer dos clases: aquellos diseñados para determinar la digestibilidad de una dieta y sus componentes nutricionales y los diseñados para evaluar la digestibilidad de un ingrediente y sus nutrientes. Aunque estos experimentos pueden variar en detalles tales como el tiempo de colección de las heces, la unificación de las muestras fecales, frecuencia de alimentación, entre otros, ciertas precauciones deben considerarse (De Silva, 1989). Entre estas tenemos que:

- 1) La especie a utilizarse debe ser aclimatada a la dieta por un periodo apropiado.
- 2) Reducir al mínimo las influencias de factores conocidos por afectar la digestibilidad de una dieta o sus nutrientes.
- 3) El diseño de los tanques experimentales debe contribuir a minimizar la lixiviación de nutrientes de las heces, la mezcla de partículas de alimento con las heces y la desintegración de las heces, a fin de obtener una muestra fecal representativa.
- 4) El tiempo entre la última alimentación y la posterior recolección de heces debe permanecer constante.
- 5) Los tanques experimentales deben distribuirse al azar y tienen que ser provistos de condiciones ambientales favorables con respecto a los niveles de oxígeno, pH, salinidad, fotoperíodo, temperatura, entre los más comunes.



## CAPITULO III

### MATERIAS PRIMAS

#### 3.1 GENERALIDADES.

Cualquier producto de origen vegetal o animal, sin procesar o como subproducto alimenticio, puede ser considerado una materia prima siempre que los consumidores sean capaces de utilizar sus componentes orgánicos e inorgánicos sin riesgo para su salud (de Boer y Bickel, 1988).

Las materias primas deben satisfacer todos los requerimientos nutritivos y energéticos del animal, así como también estar disponibles en el mercado a un precio mínimo, propicio para utilizarlas en la fabricación de piensos o balanceados (Coll Morales, 1983).

Aunque los cereales juegan un papel predominante por tradición, los derivados de las industrias alimenticias están siendo más utilizados (de Boer y Bickel, 1988). La tecnología de procesamiento de alimentos produce un flujo continuo y cambiante de subproductos, ya sean de origen vegetal o animal, como las pastas de semillas oleaginosas, pasta de soya, harina de plumas, harina de sangre, harina de hueso, entre otros.

En años recientes ha existido un suministro constante de balanceados comerciales para camarón los cuales producen tasas de crecimiento necesarias para un cultivo rentable. Por otra parte, la evaluación nutricional de las materias primas para camarones es limitada (Akiyama *et al.*, 1989). Entre los ingredientes alimenticios de origen animal más utilizados en balanceados para camarón están la harina de pescado, harina de calamar, harina de krill y el extracto de vísceras de pescado.

Un problema actual es la estandarización en la composición de las materias primas, la cual varía para un mismo producto dependiendo de múltiples factores tales como localidad, la época del año, las características específicas de producción de estas materias, entre otros (Coll Morales, 1983). Esto dificulta una alimentación homogénea de los animales cultivados. Para tal efecto, tablas de composición estándar han surgido para los diversos materiales a fin de asegurar su calidad (Manríquez, 1993 a; Hardy y Masumoto, 1991). Por otro lado, se busca una diversificación de las fuentes de materias primas, sustituyendo parcialmente unas por otras con el fin de minimizar los precios o de garantizar la inclusión de determinados componentes necesarios en la dieta (Kamarudin *et al.*, 1989).

Según Coll Morales (1983), la evaluación de materias primas consiste en el análisis de los nutrientes que las componen y su valoración energética en los diferentes tipos: energía bruta, digestible, metabolizable. Esta valoración de nutrientes es realizada cuantitativa y cualitativamente. En forma cuantitativa se obtienen las fracciones de agua, proteína bruta, extracto etéreo o fracción grasa, fibra, cenizas y material libre de nitrógeno (Smith *et al.*, 1985; Satoh *et al.*, 1992), mientras que el análisis cualitativo permite determinar el tipo de grasas, aminoácidos y vitaminas, entre otros. La valoración cualitativa es más compleja y se lleva a cabo por medio de métodos cromatográficos y químicos (Akiyama *et al.*, 1989; Takeuchi *et al.*, 1991).

Al considerar la importancia de una materia prima para su inclusión en la dieta de una especie determinada, las interacciones fisiológicas del organismo con el ingrediente dietético tienen que considerarse y es en este punto donde interviene el estudio de la digestibilidad.

### 3.2 TIPOS DE MATERIAS PRIMAS Y SUS CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES.

De los ingredientes utilizados como fuente de nutrientes en balanceados para organismos acuáticos, sólo una parte se consideran de importancia en la dieta de organismos marinos como el camarón, de acuerdo a la respuesta nutricional presentada por el animal a esa materia prima. No obstante, otros alimentos son considerados en función de sus perfiles de nutrientes, a pesar de no encontrarse en la dieta natural de los camarones, y por la limitante del costo en la elaboración de balanceados.

A continuación se presentan en resumen las características principales de las materias primas utilizadas como fuentes de nutrientes en las dietas experimentales del presente bioensayo.

#### a) Cereales.

Los cereales y sus derivados presentan un elevado contenido de carbohidratos y son utilizados frecuentemente en balanceados para acuicultura. Su nivel de proteína es bajo y varía de 8 a 12% de materia seca en la mayoría de los granos. Sus lípidos o aceites varían en un rango del 1 al 8% del peso de la semilla y son normalmente insaturados, siendo el linoleico (18:2n-6) y el oleico (18:1n-9) los ácidos grasos predominantes (Tacon, 1989).

La fibra cruda de los cereales es más alta en aquellas especies con cascarilla (cebada, avena, arroz). Aunque son deficientes en algunos aminoácidos (como la lisina y treonina), pueden usarse para balancear ingredientes vegetales y animales de alto contenido de proteína (New, 1987). Además, son ricos en vitamina E pero deficientes en vitaminas D, C y provitamina A (Tacon, 1987). Entre los cereales más conocidos tenemos arroz, avena, cebada, sorgo, trigo y maíz, siendo sus salvados ricos en vitaminas del grupo B.

## **b) Semillas y pastas oleaginosas.**

En las oleaginosas los lípidos constituyen la más importante reserva alimenticia y su aceite es utilizado como alimento para el hombre (New, 1987). Las oleaginosas y subproductos son ricos en proteína (20 a 50% en peso) y relativamente pobres en carbohidratos, siendo la metionina, lisina y treonina, sus aminoácidos limitantes. Los subproductos de la industria aceitera vegetal son los principales ingredientes de alimentos para animales, tal como la pasta de soya. El contenido de aceite de las pastas y harinas de oleaginosas varía del 1% al 8%. Las oleaginosas aportan buena cantidad de fósforo pero son deficientes en calcio, vitamina E y provitamina A. (Tacon, 1989).

La harina de soya posee el mejor perfil nutricional de proteínas entre todas las fuentes vegetales utilizadas hasta ahora, pero su empleo está limitado por inconvenientes en el procesamiento para producir alimentos estables en agua (Akiyama, 1991). Ha dado buenos resultados tanto en peces (Shiau *et al.*, 1988; Wee y Shu, 1989; Dabrowski *et al.*, 1989) como en camarones (Akiyama *et al.*, 1991; Santamaría y de Santamaría, 1992).

Entre las oleaginosas más usadas en la preparación de dietas están la soya, maní, mostaza, girasol, coco, algodón, palma africana, lino, ajonjolí e higuera.

## **c) Alimentos de origen animal.**

Estos ingredientes provienen de animales terrestres, marinos o aves. Constituyen los más importantes (y a menudo los más caros) ingredientes de los alimentos para acuicultura. La proteína animal es necesaria para balancear las deficiencias en aminoácidos y vitaminas de productos vegetales (New, 1987) y generalmente es rica en aminoácidos esenciales, en especial de aquellos (lisina y metionina) que a menudo son limitantes en proteínas vegetales.

Los alimentos de origen animal son ricos en vitaminas, minerales trazas, lípidos y energía (Tacon, 1989), siendo aquellos de origen marino importantes reservas de ácidos grasos poli-insaturados, particularmente de la serie n-3.

Algunos ejemplos de ingredientes de origen animal son sangre, harina de plumas, harina de subproductos avícolas, harina de pescado, harina de carne, aceites de pescado, ensilajes de pescado, harina de camarón, harina de calamar y derivados lácteos .

Las harinas de pescado varían en sus análisis de acuerdo a la naturaleza de su materia prima y el método o cuidado con el que es procesada. Constituyen una fuente importante de ácidos grasos, en especial del tipo n-3 (Kanazawa, 1992). Cuando la harina es de buena calidad, se la considera el mejor ingrediente de alto contenido proteínico para dietas de acuicultura. Es altamente apetecible y sirve como atrayente, además es recomendable que posea un contenido mínimo del 60% de proteína. Usualmente se la incluye en niveles del 10 al 40% en alimentos comerciales (Akiyama *et al.*, 1991).

La harina de camarón se elabora en base a las cabezas y exoesqueletos de camarones grandes, o de camarones enteros pequeños o crustáceos de ningún valor alimenticio para el hombre. Su valor proteínico verdadero es sólo 50 - 70% (dependiendo de la proporción de cabezas a caparazones en el material original) del contenido de proteína cruda, porque gran parte se deriva de un polisacárido indigerible, la quitina. Es una importante fuente de quitina, colina y contiene importantes carotenoides (Tacon, 1989). Esta harina constituye una excelente reserva de minerales, colesterol, fosfolípidos, y de los ácidos grasos 20:5n-3 y 22:6n-3. Además, sirve como atrayente. Su contenido mínimo debe estar alrededor del 32% de proteína, 4% de lípidos, y un máximo del

14% de fibra (Akiyama,1991). Su uso está limitado por el contenido de fibra.

La harina de calamar es posiblemente el mejor de los ingredientes para dietas de camarones. Parece tener propiedades promotoras del crecimiento debido a un factor desconocido. Este factor de crecimiento parece ser un pequeño péptido, el cual aumenta la eficiencia digestiva del camarón y eleva la tasa de crecimiento. Es además un muy buen atrayente. Posee la concentración más alta de colesterol, fosfolípidos y de los ácidos grasos 20:5n-3 y 22:6n-3, que cualquier fuente natural. La harina de calamar debe contener un mínimo de 40% de proteína y 5% de lípidos, aunque contenidos de lípidos mayores al 15% son comunes en esta clase de harina (Akiyama *et al.*, 1991). De acuerdo a los reportes de Cruz-Ricque *et al.* (1987), Fenucci *et al.* (1980) y Cruz-Suárez *et al.* (1992), los resultados corroboran el efecto promotor del crecimiento de la harina de calamar y se establece que éste persiste aun en presencia de la productividad natural .

#### **d) Aditivos.**

Los aditivos alimenticios son sustancias adicionadas en cantidades trazas a las dietas, con el fin de: a) preservar sus características nutricionales antes de suministrarlas (antioxidantes e inhibidores del crecimiento de hongos), b) facilitar la dispersión de los ingredientes, el peletizado o granulado de los alimentos (emulsificantes, estabilizadores y aglutinantes), c) facilitar el crecimiento (promotores de crecimiento, inclusive antibióticos y hormonas), d) ayudar en la ingestión del alimento y la aceptación del producto por el consumidor (estimulantes de consumo y colorantes alimenticios), y e) suplir los nutrientes esenciales en forma purificada (vitaminas, minerales, aminoácidos, colesterol y fosfolípidos) (Tacon,1987).

Estos aditivos han aumentado su uso en forma de componentes alimenticios para animales y parecen mejorar el desarrollo y la eficiencia del alimento del 10 al 25%. Por su alto costo generalmente, son de uso restringido en los alimentos compuestos (Akiyama *et al.*, 1991).

### 3.3 DIGESTIBILIDAD DE MATERIAS PRIMAS.

En la búsqueda de nuevas dietas mejoradas de bajo costo y buenos resultados con respecto al crecimiento, supervivencia, conversión alimenticia, es decir, eficientes en la producción y economía de una actividad de acuicultura, el estudio de las materias primas a utilizarse en la preparación de balanceados demuestra una fundamental importancia.

Una parte de este estudio lo constituye el análisis de la digestibilidad, el cual en las últimas décadas ha ido incrementando su aceptación en diferentes experimentos nutricionales dentro del campo de la acuicultura.

En los crustáceos han sido evaluados distintos ingredientes. Para la langosta de río fueron probadas la harina de soya, salvado de trigo, harina de maní, maíz cocido, harina de pescado y harina de cabeza de camarón (Brown *et al.*, 1989). Los resultados establecen que la langosta de río digiere las materias primas vegetales mucho mejor que aquellas de origen animal.

La digestibilidad de dietas con diferentes fuentes de cereales como materias primas fue establecida para el camarón de agua dulce *Macrobrachium rosenbergii*, en bioensayos realizados con maíz, trigo, mijo y cebada como ingredientes. Dos ensayos se efectuaron, utilizando camarones de pesos promedio  $7.3 \pm 0.1$  g. y  $4.1 \pm 0.1$  g. La digestibilidad aparente de la proteína no varió significativamente ( $P > 0.05$ ) en ningún caso, pero la digestibilidad aparente de la

energía fue significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos, para los camarones de menor peso promedio (Ashmore *et al.*, 1985).

Otro experimento con el *Penaeus stylirostris* (Fenucci *et al.*, 1982) evaluó la asimilación (digestibilidad aparente y absorción) de la proteína y carbohidratos de dietas seleccionadas, cuyas materias primas principales eran harina de calamar, alfa-soya, levadura de cerveza, harina de camarón y salvado de arroz. Los camarones de mayor tamaño asimilaron las proteínas de la harina de calamar mejor que la proteína de la alfa-soya, diferencia que no se observó en los camarones de menor tamaño. Las proteínas de las dietas con alfa-soya fueron mejor asimiladas que las de aquellas con levadura de cerveza por todos los tamaños. La asimilación de los carbohidratos en cambio fue menos eficiente que la de las proteínas para todas las dietas.

Smith *et al.* (1985) evaluaron el efecto del nivel de inclusión y la fuente de proteína dietética en la digestibilidad del *P. vannamei* de tres tamaños promedio 4.0, 9.8 y 20.8 g. Pudo observarse que la digestibilidad de la proteína estuvo fuertemente correlacionada con el nivel de proteína dietética en camarones de menor tamaño. Sólo los camarones más pequeños mostraron una fuerte correlación entre la digestibilidad de la proteína y el crecimiento. En cambio, ningún tamaño presentó relación alguna entre crecimiento y digestibilidad de lípidos o de la dieta total.

En un experimento realizado por Akiyama *et al.* (1989) se determinó la digestibilidad de materias primas como caseína, almidón de maíz, gelatina, proteína de soya, gluten de trigo, harina de pescado, salvado de arroz, harina de camarón, harina de soya, harina de calamar, celulosa, quitina y tierra de diatomeas, en camarones *P. vannamei* de  $22.3 \pm 2.4$  g. Se estableció que las materias primas purificadas (caseína, almidón de maíz, gelatina, proteína de soya y gluten de trigo) fueron mejor digeridas que las

materias primas no procesadas tales como harina de soya, harina de pescado, salvado de arroz, harina de camarón y harina de calamar. También se concluyó que las proteínas son más eficientemente digeridas que los carbohidratos y que la digestibilidad aparente de la proteína no fue influida por el origen animal o vegetal de la materia prima.

El presente estudio fue realizado para evaluar materias primas de uso posible en la cría del *Penaeus vannamei* mediante la determinación de la digestibilidad aparente de materia seca, lípidos y proteínas de la dieta.

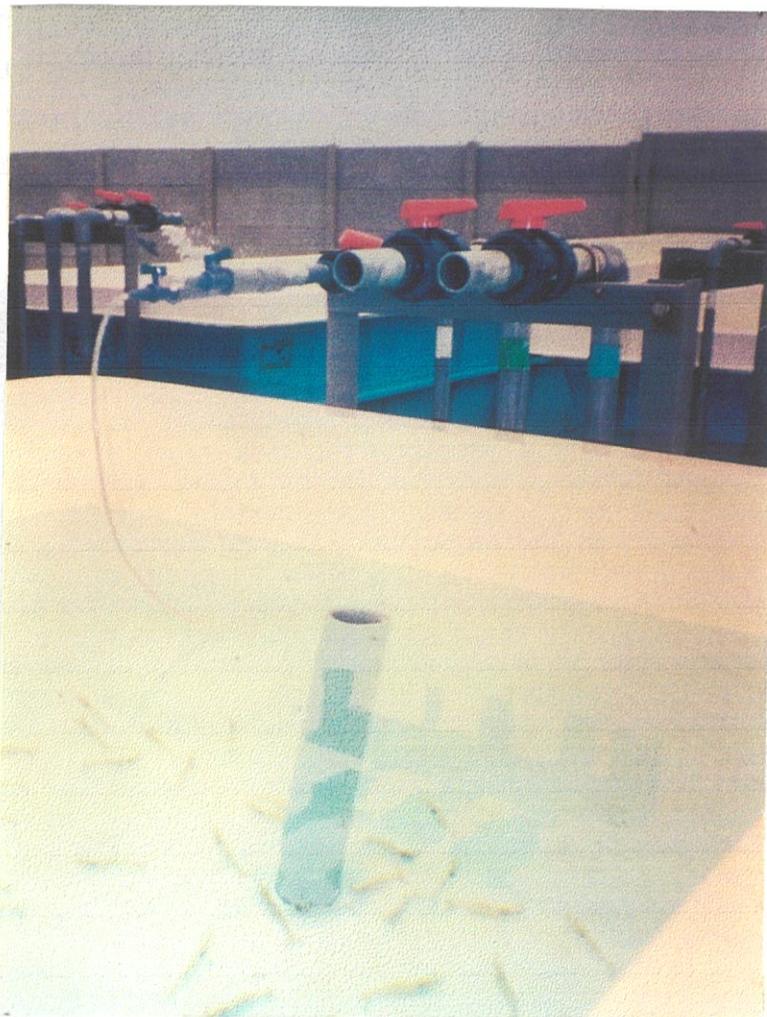
## CAPITULO IV

### DISEÑO EXPERIMENTAL

#### 4.1 INSTALACION DEL SISTEMA.

Los ejemplares de *Penaeus vannamei* fueron obtenidos de post-larvas criadas una parte en los tanques exteriores del Departamento de Larvicultura del CENAIM, y la otra proveniente de una camaronera cercana, por la escasez de camarones del tamaño adecuado.

**Fig. 6.** Especímenes utilizados en el bioensayo



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

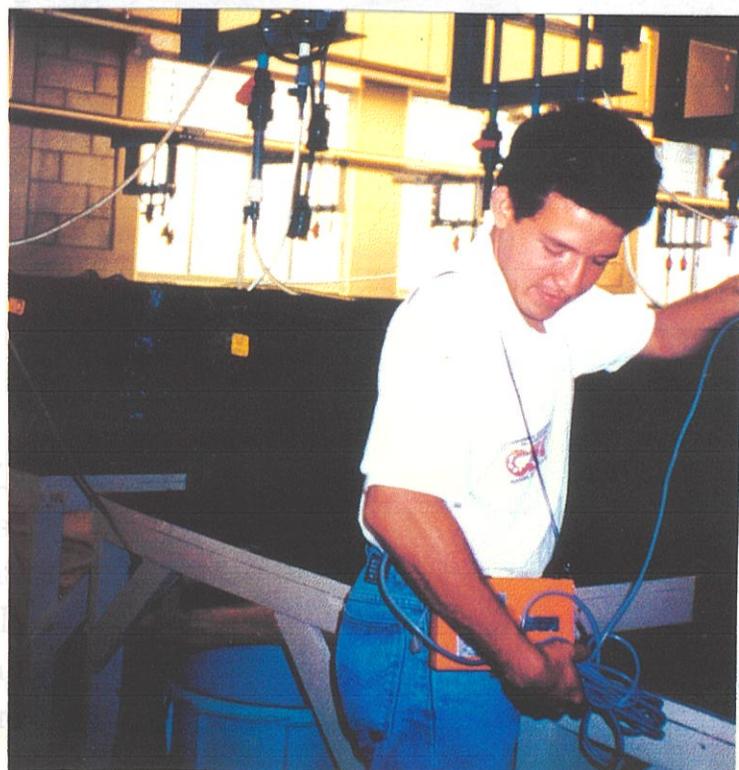
Su peso promedio inicial fue determinado 10 días antes del inicio del ensayo de alimentación y colección de heces, esto es, al comienzo del período de adaptación, para evitar el stress (Tabla I).

**Tabla I. Peso promedio inicial de los camarones por tanque.**

	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4	Tanque 5	Tanque 6
<b>Peso promedio (g)</b>	8.77	8.57	8.57	8.74	9.02	8.81
<b>Desviación estándar</b>	±0.86	±1.01	±0.86	±1.04	±1.05	±0.86

Tanques negros cilindro-cónicos de fibra de vidrio de 0.560 m<sup>3</sup>, fueron sembrados inicialmente con 17 individuos cada uno. Pero luego, en vista de la mortalidad presentada en la fase de adaptación, fueron descartados aquellos que mostraron signos de estrés, para después completar hasta 20 el número de animales sembrados en cada tanque y se mantuvo una tasa de recambio del agua de mar del 400% en flujo continuo sin recirculación.

**Fig. 7.** Control diario de parámetros.



Parámetros físico-químicos como temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto fueron monitoreados durante la realización del bioensayo. El primero de estos fue controlado mediante sistema de calderos para el calentamiento del agua de entrada. El fotoperíodo aplicado fue el natural.

Seis dietas fueron evaluadas, una era el control y las otras cinco contenían las materias primas de prueba, distribuidas en cada tanque.

**Fig. 8.** Dietas elaboradas en la planta piloto del CENAIM.



BIBLIOTECA  
CENAIM  
MEXICO

La dieta control estaba compuesta por todos los ingredientes comunes entre las otras dietas, excepto la materia prima a evaluarse, diferente en cada una de las restantes, de las cuales representaban el 50%. Las materias primas probadas fueron cáscara de arroz, pasta de soya, harina de pescado, harina de cabeza de camarón y harina de calamar. La pasta de soya y la harina de pescado procedían de una

fábrica de producción de balanceados (Vigor), al igual que la harina de cabeza de camarón (Balanfarina). En cambio, la cáscara de arroz fue obtenida de una piladora local y el calamar de distribuidores locales, para luego ser procesado en el CENAIM. La composición de las dietas control y experimentales es detallada a continuación (Tabla II).

**Tabla II. Composición de las Dietas**

<b>Componentes</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>
Caseína	400,00	200,00	200,00	200,00	200,00	200,00
Gelatina	100,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Aceite de pescado	84,00	42,00	42,00	42,00	42,00	42,00
Aceite de soya	21,00	10,50	10,50	10,50	10,50	10,50
Lecitina	10,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Colesterol	5,00	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Premezcla vitamínica	35,00	17,50	17,50	17,50	17,50	17,50
Premezcla mineral	20,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Dextrina	300,00	150,00	150,00	150,00	150,00	150,00
Aquatec (aglutinante)	20,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Oxido crómico	5,00	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Materia prima principal	-	500,00	500,00	500,00	500,00	500,00
<b>TOTAL (g).</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>	<b>1000</b>

D1: dieta control; D2: harina de cáscara de arroz; D3: pasta de soya; D4: harina de cabeza de camarón; D5: harina de pescado; D6: harina de calamar.

## 4.2 PREPARACION DE DIETAS .

La producción de una dieta artificial comprende dos etapas: formulación y fabricación. Para la formulación son requisitos conocer las necesidades nutricionales y el sistema digestivo de la especie a alimentar, la composición químico-bromatológica de los ingredientes a utilizar, sus factores tóxicos o anti-nutricionales y el costo tanto de los ingredientes como del procesamiento. La fabricación, en cambio, tiene como objetivo reproducir lo diseñado en la formulación y por consiguiente deben tomarse en cuenta las restricciones técnicas del equipo utilizado en el proceso (Achupallas, 1993).

En la formulación de las dietas experimentales utilizadas durante el bioensayo se consideró el hecho de agregar sólo hasta un

50% el ingrediente a evaluarse, para evitar deficiencias extremas en el aporte de nutrientes de cada dieta a los especímenes en estudio, lo cual podría haberse reflejado luego. La dieta control en cambio, cuya finalidad era utilizarse como factor de corrección, poseía los ingredientes comunes de las dietas restantes, pero en cantidades que duplicaban a las experimentales, con el fin de preparar la misma cantidad de dieta para todos los tanques y mantener la proporcionalidad.

Una vez realizada la formulación de la dieta, se procedió a su elaboración. El primer paso fue la adquisición de las materias primas o ingredientes, de los distribuidores locales.

Con los ingredientes ya disponibles, las materias primas de prueba fueron pulverizadas hasta un tamaño uniforme de partícula de 500  $\mu$ .

Después se pesaron cuidadosamente los ingredientes para que los porcentajes coincidieran de la manera más precisa posible con lo especificado en la formulación. Cada elemento se pesó por separado.

Posteriormente las materias primas fueron mezcladas de manera integrada, esto es, en forma conjunta. Esta operación fue realizada manualmente por un lapso de 15 minutos. Durante este tiempo uno por uno fueron añadidos los ingredientes, en orden, de menor a mayor cantidad de inclusión en la dieta. El almidón de maíz (maicena) sirvió como material de soporte a esta mezcla inicial.

Luego de esto, la mezcla fue llevada a la mezcladora vertical, donde permaneció por un período de 10 minutos a 300 rpm. En seguida, se adicionó agua al 45%, y dejamos que fueran mezclados los ingredientes por otros 10 minutos a 300 rpm, para obtener al final una masa homogénea.

Esta masa después fue llevada a la granuladora con el fin de

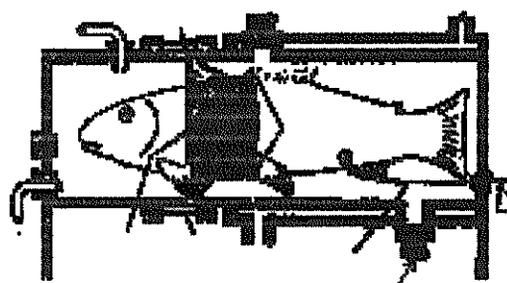
convertirla en formas definidas, a manera de tallarines, al atravesar una matriz de 3 mm. de diámetro.

El producto obtenido fue llevado al horno donde se secó a 60°C durante 4 horas, de acuerdo con anteriores ensayos realizados para la elaboración de dietas en las instalaciones del Centro. Una vez secado y enfriado, se procedió a quebrarlo en trozos manualmente, para darle la longitud apropiada. Los gránulos así formados fueron envasados con gas inerte y sellados en fundas plásticas hasta su uso. La correspondiente prueba de estabilidad fue practicada con las dietas experimentales y sus resultados se comentan en el siguiente capítulo.

#### 4.3 RECOLECCION DE MUESTRAS FECALES PARA ANALISIS.

Algunos métodos de recolección de heces han sido revisados por diversos investigadores en estudios de digestibilidad, especialmente en peces (Spyridakis *et al.*, 1989; Windell *et al.*, 1978). En la Fig. 9 se presentan algunos de los métodos de presión abdominal, disección intestinal, decantación, filtración continua y uso de cámara metabólica en forma esquemática.

**Fig 9.** Distintos sistemas de recolección de heces (Manríquez, 1993 a).



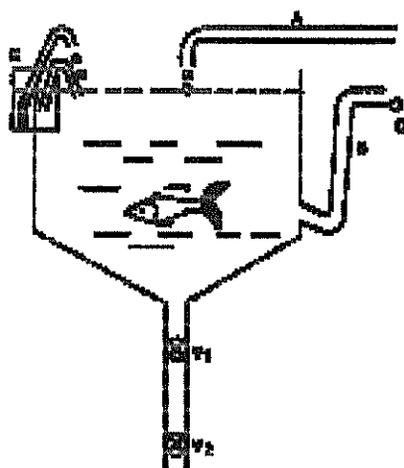
a) Cámara metabólica.



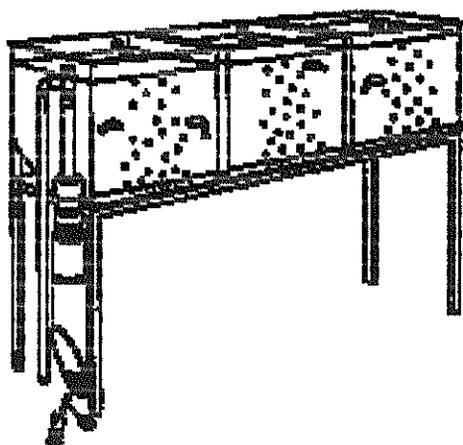
b) Zonas de disección intestinal.



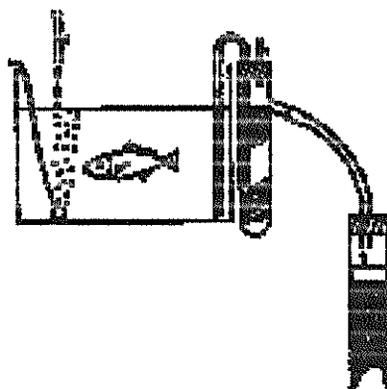
c) Zonas de presión abdominal.



d) Estanque de decantación 1.



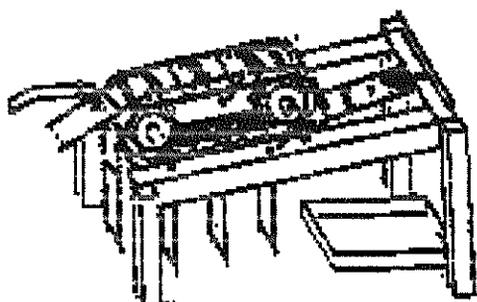
e) Estanque de decantación 2.



f) Estanque de fijación de nitrógeno.



SECRETARÍA DE  
DESARROLLO  
AGROPECUARIO

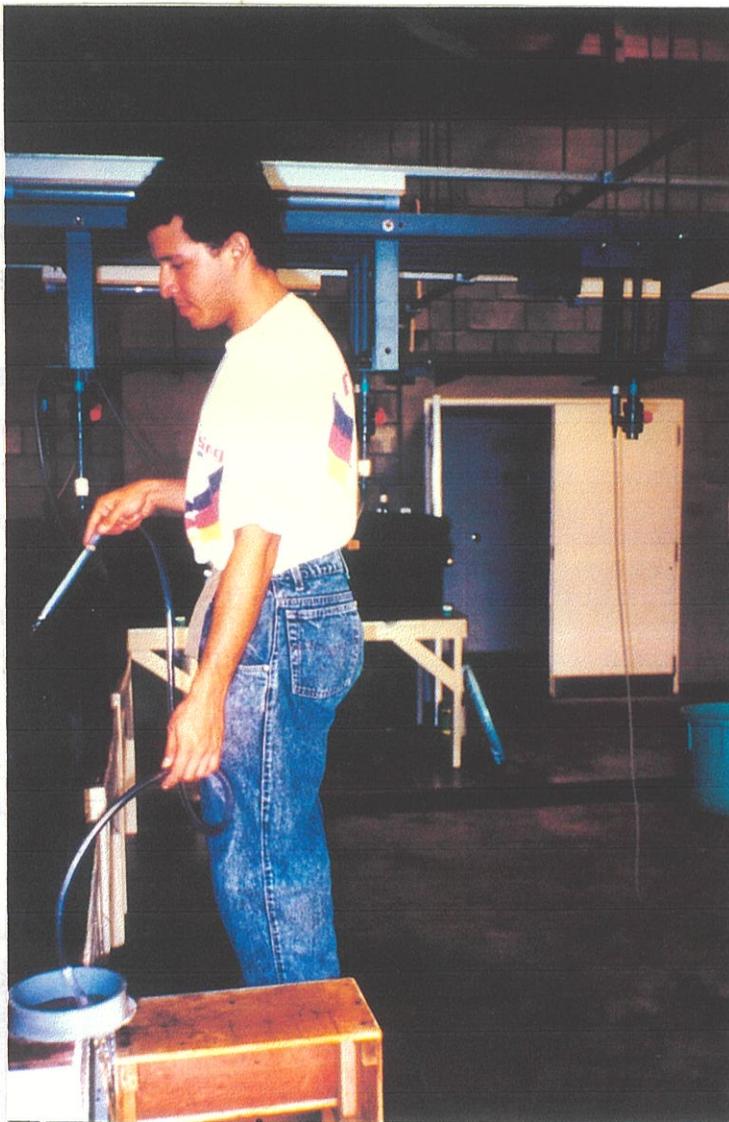


g) Estanque de filtración continua.

Para la recolección de heces inicialmente fue realizada una prueba en el CENAIM a fin de seleccionar el método adecuado a utilizarse durante el ensayo de digestibilidad. Fueron probados el método de decantación en un colector especial y el uso de sifón y tamiz plástico.

De estos dos métodos fue seleccionado el último, por lo práctico de su utilización para el tamaño de tanques utilizados y porque la decantación en el colector presentaba inconvenientes en cuanto al mantenimiento de un flujo constante de salida del agua, mínima recolección de heces y mezcla con residuos de alimento no ingerido.

**Fig. 10.** Sistema empleado para la recolección de heces.



BIBLIOTECA  
FAC. ING.  
MARITIMA

Las precauciones más importantes tomadas al elaborar los sifones y tamices fueron que el flujo de agua en el tubo de succión no sea demasiado rápido para impedir la destrucción de los hilos fecales y que los tamices no posean un diámetro de ojo de malla superior al de los hilos fecales para evitar la pérdida de material. Un total de dos sifones y seis tamices, uno por tanque, fueron construidos.

## CAPITULO V

### METODOLOGIA

#### 5.1 MANEJO DEL SISTEMA.

Los camarones fueron sembrados en los tanques diez días antes del inicio del bioensayo como período de aclimatación. Durante este tiempo fueron alimentados con un balanceado de mantenimiento CENAIM al 40% de proteína. El día previo a la alimentación con las dietas experimentales los camarones fueron mantenidos en ayuno. Las siguientes tres semanas fueron alimentados con sus respectivas dietas y recolectadas sus heces. Cada 7 días las muestras fecales obtenidas eran unificadas y representaban una réplica. Al final de los 21 días del ensayo fueron compiladas tres réplicas por cada dieta.

El alimento fue proporcionado en exceso. Dos raciones de la dieta eran suministradas diariamente, a las 8h00 y 13h00.

Fig. 11. Alimentación diaria de los camarones.



BIBLIOTECA  
I.T.C.R. ING.  
MARITIMA

La recolección de heces se efectuaba tres horas después de la alimentación a cada tanque. Este tiempo de espera fue escogido con el fin de recolectar el máximo de heces posible y porque el tiempo de tránsito de las dietas por el tracto digestivo ha sido determinado en dos horas (Akiyama *et al.*, 1989).

Inmediatamente después se procedía a la separación de las heces y el alimento sobrante en los tamices. Este procedimiento era realizado de forma manual, con el uso de pinzas, espátulas y agua destilada.

**Fig. 12.** Separación de las heces.



Las heces eran enjuagadas primero con el agua destilada para separar los residuos de alimento y el agua salada. Esto no afectaba mayormente la integridad de la materia fecal, la cual está recubierta por la membrana peritrófica. Después por medio de pinzas o espátulas eran recogidas las heces y transferidas a pequeños recipientes plásticos con tapa. Finalmente, estos eran mantenidos en congelamiento a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta la realización de los análisis.

Los parámetros físico-químicos (temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto) fueron medidos diariamente en la mañana, a las 8h30. Sólo la temperatura fue monitoreada una vez más a las 16h00.

Por las ocasionales muertes que pudiesen presentarse se decidió reemplazar los camarones, dado el caso, con el fin de mantener constante la relación animales : tanque. A cada tanque le fue designada una dieta experimental con la que permaneció hasta el final del experimento.

## 5.2 ANALISIS DE PARAMETROS QUIMICOS.

Muestras de materias primas, dietas experimentales y réplicas de las heces colectadas fueron sometidas a determinaciones químicas de humedad, proteína cruda, lípidos totales, cenizas y fibra cruda. El óxido de cromo también fue determinado para las dietas y las muestras de heces. En el caso de las muestras fecales, antes de proceder con los análisis las réplicas fueron liofilizadas por 24 horas en un liofilizador marca Yamato, modelo Neocool, código 221420.

Para las determinaciones de humedad y cenizas fueron usadas las normas INEN 464 y 467 (1980). El nitrógeno fue determinado por el método Kjeldahl, modificado según Büchi (1991). La proteína se calculó luego según la fórmula:  $N \times 6.25$ . Los lípidos fueron determinados mediante el método de Folch modificado (Christie, 1989). La fibra cruda se determinó por el método de Weende (Pizarro *et al.*, 1988). En la determinación de óxido de cromo se utilizó el método descrito por Furukawa y Tsukahara (1966).

Todas las determinaciones son reportadas en base seca y se realizaron por triplicado, excepto en el caso de las heces fecales que fueron analizadas por duplicado.

### 5.3 TABULACION DE LOS RESULTADOS.

Respecto a la temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto, estos parámetros presentaron promedios de  $27.64 \pm 0.8$  °C ,  $34.9 \pm 0.24$  ppt,  $7.95 \pm 0.11$ ,  $6.63 \pm 0.28$  mg/lit , respectivamente.

La composición nutricional de las materias primas y las dietas obtenida por medio de los análisis químicos es presentada a continuación (Tablas III y IV).

**Tabla III. Análisis proximal de las materias primas -**

Parámetros químicos	Cáscara de arroz	Pasta de soya	Cabeza de camarón	Pescado	Calamar
Humedad	8.94	10.97	14.73	7.83	13.36
Proteína Cruda	4.07	49.09	50.52	74.32	81.86
Lípidos totales	1.88	3.37	9.48	9.89	10.11
Cenizas	20.44	7.55	23.23	15.64	6.98
Carbohidratos *	35.2	36.12	3.48	0.00	0.21
Fibra Cruda	38.41	3.87	13.29	0.59	0.84

\*Porcentajes en base seca.

\* Valores calculados por diferencia ( Carb.= 100 - Prot. - Líp.- Fib - Cen. )

De acuerdo a lo presentado en la tabla, el calamar se presenta como la mejor fuente de proteínas, seguido por el pescado y el camarón, mientras que las materias primas vegetales continúan luego, la pasta de soya primero y la cáscara de arroz al final, esta última con un valor muy bajo de proteínas. Es evidente la diferencia en el contenido de proteínas según sea la fuente vegetal o animal, en especial para las harinas de pescado y calamar. Estos datos confirman lo indicado por Kanazawa (1992), quien señala que la materia animal posee un alto contenido proteínico y por tanto es utilizada en forma abundante como fuente de proteína en los alimentos balanceados.

En lo que respecta a los lípidos, el calamar muestra el más alto nivel, y en orden decreciente lo siguen, muy de cerca, el

pescado y el camarón. Con un nivel mucho menor continúan la pasta de soya y la cáscara de arroz, al último. Mucho más notoria que en el caso de las proteínas, resulta la diferencia en el aporte de lípidos según sea el origen animal o vegetal. Parte constitutiva de los lípidos son los ácidos grasos, algunos de los cuales han probado ser esenciales para el camarón (New, 1976; Kanazawa, 1992), y de suma importancia su inclusión en la dieta. El valor nutricional de los lípidos para crustáceos es altamente influido por el contenido dietético de ácidos grasos esenciales, tales como: ácido linoleico (C18:2 $\Omega$ 3), linolénico (C18:3 $\Omega$ 3), eicosapentaenoico (C20:5 $\Omega$ 3) y ácido docosahexaenoico (22:6 $\Omega$ 3) ( Liao & Liu, 1989).

Para las cenizas en cambio, el camarón muestra el mayor nivel, seguido en descenso por la cáscara de arroz, el pescado, la pasta de soya y al final, el calamar. Este tipo de análisis indica el conjunto de los minerales de un alimento (Schmidt-Hebbel, 1981) y aunque estos normalmente son absorbidos desde el agua, su inclusión en las dietas ayudaría al proceso de muda en el camarón (Kanazawa, 1992).

Los carbohidratos por último, poseen su nivel más alto en la pasta de soya, y a continuación encontramos la cáscara de arroz, el camarón, el calamar y finalmente, el pescado. El principal papel de los carbohidratos en la nutrición animal es servir como fuentes de energía (Furuichi, 1988) y de ahí que su proporción en los balanceados evita un gasto excesivo en la adición de proteínas.

La fibra determinada se refiere a polisacáridos de difícil hidrólisis tales como celulosa, hemicelulosas, lignina, cutina y quitina (Schmidt-Hebbel, 1981). Por tanto, los niveles superiores en la cáscara de arroz y la harina de cabeza de camarón representan de manera principal a la celulosa y a la quitina, respectivamente.

Las harinas de soya, calamar, pescado y de camarón han demostrado ser valiosas fuentes de proteína para el camarón (New,

1976), lo cual concuerda en buena medida con los niveles de proteína encontrados para las materias primas utilizadas en este bioensayo.

**Tabla IV. Análisis proximal de las dietas \***

Parámetros químicos	DIETA 1 control	DIETA 2 cáscara de arroz	DIETA 3 soya	DIETA 4 cabeza de camarón	DIETA 5 pescado	DIETA 6 calamar
Humedad	6.14	7.11	6.86	7.53	7.83	9.89
Proteína Cruda	51.47	24.60	48.86	52.51	63.97	67.33
Lípidos	12.78	6.96	8.1	11.17	10.9	11.3
Cenizas	4.90	13.30	5.22	13.12	9.14	2.58
Carbohidratos *	30.85	55.14	37.82	23.20	15.99	18.79
Oxido de cromo	0.37	0.20	0.16	0.15	0.15	0.14

\*Porcentajes en base seca

(\*) Valores calculados por diferencia. ( Carb.= 100 - Prot. - Líp. - Cen )

Las dietas con las materias primas de prueba, como podemos apreciar por comparación, siguen un orden semejante al mostrado por las materias primas individualmente, con respecto a cada componente nutricional. La dieta control, para considerar su comparación con los otros valores de la tabla, debe recordarse que constituye el 50% de las otras dietas experimentales. Los ingredientes adicionales de las dietas en conjunto, incrementan los niveles de ciertos nutrientes, deficientes al considerar las materias primas de prueba individualmente, y disminuyen las diferencias entre los componentes nutricionales de las dietas.

**Tabla V. Composición de ácidos grasos esenciales de las dietas.-**

Dietas	18 : 2	18 : 3	20 : 5	22 : 6
	n-6	n-3	n-3	n-3
Control	15.40	3.04	7.02	6.43
Harina de cáscara de arroz	15.83	3.17	5.19	4.44
Pasta de soya	20.61	3.71	5.70	4.98
Harina de cabeza de camarón	12.76	1.64	5.06	4.25
Harina de pescado	10.53	1.66	7.22	9.11
Harina de calamar	11.60	1.53	8.05	11.26

\* Porcentajes en base seca

Como podemos apreciar de la tabla V, las dietas con harina de calamar y pescado presentaron una mejor proporción de los ácidos 20:5 n-3 y 22:6 n-3, que la dieta con harina de cabeza de camarón. La carencia de este tipo de ácidos grasos en los vegetales (Kanazawa, 1992), nos sugiere que su presencia detectada en las dietas con cáscara de arroz y pasta de soya se debe al uso del aceite de pescado, como sustancia atrayente. En cambio, para los ácidos linoleico (18:2 n-6) y linolénico (18:3 n-3), las dietas con materias primas vegetales, pasta de soya y cáscara de arroz, presentaron niveles mayores que las dietas hechas con harinas de cabeza de camarón, pescado y calamar, lo cual concuerda con los niveles de ácidos grasos encontrados en ingredientes de origen vegetal (Tacon, 1987).

Las dietas experimentales fueron también sometidas a una prueba de estabilidad en el agua. Así pues, podemos decir que la dieta control fue la más estable de todas (> 24 horas sin signos de disgregación), seguida en orden decreciente por las dietas de soya (> 24 horas con signos de disgregación), cáscara de arroz (disgregada a las 24 horas), calamar (a las 9 horas ya presentaba signos de disgregación), pescado (con signos de disgregación a las 7 horas) y camarón, la cual en cambio presentó una muy pobre estabilidad (disgregada en menos de 1.5 horas).

Durante el bioensayo, se observó que la ingestión de las dietas era muy baja, en unas más que en otras, y por tanto la cantidad de materia fecal obtenida fue menor a lo estimado mediante una prueba anterior de recolección de heces. Esto ocasionó que en ciertas réplicas fecales no pudiesen efectuarse todos los análisis correspondientes.

**Tabla VI. Número de camarones muertos por tanque o dieta.**

Tanques	Dietas	Total de muertos
1	Control	0
2	Harina de cáscara de arroz	2
3	Pasta de soya	1
4	Harina de cabeza de camarón	0
5	Harina de pescado	1
6	Harina de calamar	1

Por otra parte, el máximo número de muertes registrado por cualquier tratamiento aparece entre los camarones alimentados con la dieta a base de cáscara de arroz (2), seguido por los tratamientos con pasta de soya, harina de pescado y de calamar (1), mientras que ninguna muerte apareció con el uso de la dieta control y la de harina de cabeza de camarón.

#### 5.4 DIGESTIBILIDAD: CALCULOS.

Para el cálculo de la digestibilidad fueron utilizadas las fórmulas de la digestibilidad aparente. En el caso de la materia seca, su digestibilidad fue calculada así:

$$D = 100 \times \left( 1 - \frac{\% \text{ Oxido crómico en la dieta}}{\% \text{ Oxido crómico en las heces}} \right)$$

donde D = Porcentaje de digestibilidad aparente de la dieta.

En cambio para el caso de los nutrientes fue utilizada la siguiente ecuación:

$$D = 100 \times \left[ 1 - \left( \frac{\% \text{ Oxido crómico en la dieta}}{\% \text{ Oxido crómico en las heces}} \times \frac{\% \text{ nutriente en las heces}}{\% \text{ nutriente en la dieta}} \right) \right]$$

Estas determinaciones se denominan "aparentes" porque no se ha corregido la posible interferencia que involucra la excreción de



materia fecal de origen endógeno (descamación de las células digestivas, enzimas secretadas en el lumen, bacterias). La materia endógena tal como las secreciones del interior del tracto intestinal, células epiteliales desprendidas, y otro material de origen metabólico puede también aparecer en las heces (NRC, 1983). La mayoría de los estudios fracasan al considerar tales materiales endógenos, reflejando más bien una digestibilidad aparente y no la verdadera.

La digestibilidad aparente de la materia seca total o de un componente nutricional es la fracción de la cantidad ingerida que no se recupera en las heces, mientras que la digestibilidad real o verdadera es la proporción de nutriente o materia seca que se ha absorbido. Cuando esta fracción se expresa como un porcentaje de la cantidad ingerida, se lo conoce como coeficiente de digestibilidad (De Silva, 1989). Desde un punto de vista práctico, la determinación de pérdidas endógenas fecales no se la considera significativa, y por tanto no se esperan mayores diferencias entre digestibilidades aparente y verdadera (NRC, 1983).

Para obtener la digestibilidad real (DR), se debe alimentar en forma paralela otro grupo de animales con una dieta control libre del elemento que se quiere evaluar (Manríquez, 1993 b):

$$DR = 100 \times [ 1 - ( \{ \% \text{ Ox. crómico alimento} / \% \text{ Ox. crómico heces} \} \times \{ \% \text{ nutriente heces (alimento)} - \% \text{ nutriente heces ( control )} \} / \% \text{ nutriente en alimento} ) ]$$

Los cálculos así realizados en el presente bioensayo expresan la digestibilidad inherente a la dieta, esto es, la totalidad de los componentes de la misma. A fin de establecer la digestibilidad de la materia prima a probarse, se pensó utilizar la dieta control como factor de corrección para los resultados obtenidos con las otras dietas experimentales.

## CAPITULO VI

### ANALISIS DE RESULTADOS

Los cálculos preliminares de la digestibilidad fueron realizados mediante la hoja electrónica MICROSOFT EXCEL. Luego fue utilizado el programa SYSTAT para realizar el análisis estadístico correspondiente. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey HSD de comparaciones múltiples fueron utilizados para comparar las digestibilidades aparentes de materia seca, proteína, lípidos y ácidos grasos entre las dietas. La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para comparar las digestibilidades de los ácidos grasos saturados e insaturados y de las series de ácidos grasos n-3 y n-6, por no presentar normalidad en sus datos.

#### 6.1 NUTRIENTES PRINCIPALES.

Tabla VII. Digestibilidad aparente de la materia seca, lípidos y proteínas de las dietas experimentales en el *P. vannamei* \*

Materia prima principal en la dieta	Digestibilidad aparente de la materia seca	Digestibilidad aparente de lípidos	Digestibilidad aparente de proteínas
Dieta Control	-16.13	83.57	-113.83 +
Harina de cáscara de arroz	60.92±5.76 a	82.44±4.13 b	90.69±1.89 a
Pasta de soya	86.37±1.08 c	93.31±2.00 d	N.D.
Harina de cabeza de camarón	56.92±9.43 a	69.80±4.09 a	73.09±5.62 b
Harina de pescado	75.68±1.95 b	87.87±1.13 c	76.61±1.57 <sup>b+</sup>
Harina de calamar	95.19±0.23 c	92.33±0.37 <sup>cd+</sup>	N.D.

\* Datos promedios de tres réplicas (20 camarones) ± desviación estándar.

+ Promedio de dos réplicas. N.D.: No determinada.

a,b,c...Medias en la misma columna con diferentes letras varían ( P< 0.05 )

Valores negativos fueron obtenidos en el cálculo de la digestibilidad de materia seca y proteínas para la dieta control, por esta razón fue considerado inconveniente usar los datos sobre digestibilidad de esta dieta ni para el análisis estadístico, ni mucho menos como factor de corrección para calcular la digestibilidad exclusiva de los diversos componentes de las materias primas de prueba.

Ya que la prueba de Tukey HSD es un método más bien conservador (Steel y Torrie, 1980) , es decir , no es tan poderoso como otros métodos de análisis para detectar diferencias entre medias, fue esta la principal razón para no someter al análisis estadístico los valores de digestibilidad obtenidos con la dieta control.

Como podemos apreciar en la tabla, la dieta con harina de calamar es la que presenta la mejor digestibilidad aparente de su materia seca, seguida luego por las dietas con pasta de soya, con harina de pescado, con harina de cáscara de arroz, y al final, la dieta con harina de cabeza de camarón.

En cuanto a los lípidos, la dieta con pasta de soya presenta la más alta digestibilidad de estos, y a continuación le siguen en orden descendente, las dietas con harina de calamar, con harina de pescado, con harina de cáscara de arroz y, al último, la dieta con harina de cabeza de camarón.

Respecto a las proteínas, entre las tres dietas comparadas, la dieta con harina de cáscara de arroz presenta la mejor digestibilidad, significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a la de las dietas con harina de pescado y cabeza de camarón, esta última con la más baja digestibilidad.

## 6.2 ACIDOS GRASOS ESENCIALES.

**Tabla VIII. Digestibilidad aparente de los ácidos grasos esenciales de las dietas experimentales en el *P. VANNAMEI* \***

Materia prima principal en la dieta	Digestibilidad aparente del 18 : 2 n-6	Digestibilidad aparente del 18 : 3 n-3	Digestibilidad aparente del 20 : 5 n-3	Digestibilidad aparente del 22 : 6 n-3
Harina de cáscara de arroz	70.58± 4.56 <sup>a</sup>	78.03± 3.44 <sup>a</sup>	68.76± 5.27 <sup>a</sup>	62.57± 7.28 <sup>a</sup>
Pasta de soya	89.06± 1.45 <sup>b</sup>	89.91± 2.88 <sup>a</sup>	90.14± 1.03 <sup>c</sup>	89.61± 1.37 <sup>c</sup>
Harina de cabeza de camarón	65.36± 7.35 <sup>a</sup>	87.75±19.04 <sup>a</sup>	68.48± 7.04 <sup>a</sup>	65.81±11.68 <sup>a</sup>
Harina de pescado	82.61± 1.30 <sup>b</sup>	81.01± 1.60 <sup>a</sup>	80.35± 1.52 <sup>b</sup>	73.79± 2.20 <sup>a</sup>
Harina de calamar *	97.07± 0.02	100± 0.00	96.35± 0.03	95.65± 0.03

\* Datos promedios de tres réplicas (20 camarones) ± desviación estándar.

▪ Valor de una sola réplica. No interviene en el análisis estadístico.

a,b,c...Medias en la misma columna con diferentes letras varían (  $P < 0.05$  )

La digestibilidad de los ácidos grasos esenciales de las dietas experimentales también fue revisada en el presente estudio. El análisis estadístico se lo realizó para verificar las diferencias entre las dietas por cada ácido graso.

Para el caso del ácido linoleico (18:2n-6), las dietas con pasta de soya y harina de pescado presentaron las mejores digestibilidades, las cuales fueron significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ) a las presentadas por las dietas con cáscara de arroz y harina de camarón. La digestibilidad del ácido linolénico (18:3n-3) en cambio, no fue significativamente diferente entre las dietas ( $P > 0.05$ ), aunque los valores más altos los presentaron las dietas con pasta de soya y harina de camarón. El ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) presentó su más alta digestibilidad en la dieta con pasta de soya, significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) del resto, seguida por la dieta con harina de pescado, la cual presentó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para las dietas con harina de camarón y cáscara de arroz, las cuales no fueron significativamente diferentes entre sí ( $P > 0.05$ ).

Por último, la digestibilidad del ácido docosaheptaenoico (22:6n-3) fue significativamente más alta en la dieta con pasta de soya ( $P < 0.05$ ), luego se ubicaron las dietas con pescado y camarón, sin diferencia significativa ( $P > 0.05$ ) entre sí, y al final se ubicó la dieta con cáscara de arroz, significativamente diferente de la dieta con pescado ( $P < 0.05$ ), pero no así de la dieta con camarón ( $P > 0.05$ ).

### 6.3 SERIES LINOLEICA Y LINOLENICA DE ACIDOS GRASOS.

Tabla IX. Digestibilidad aparente de las series de ácidos grasos n-3 y n-6 de las dietas experimentales en el *P. vannamei* \*

Materia prima principal en la dieta	Digestibilidad aparente de la serie n-3	Digestibilidad aparente de la serie n-6
Harina de cáscara de arroz	67.31±6.03 <sup>a</sup>	66.17±6.07 <sup>a</sup>
Pasta de soya	89.39±1.38 <sup>b</sup>	87.95±1.15 <sup>b</sup>
Harina de cabeza de camarón	65.13±5.50 <sup>a</sup>	61.08±8.82 <sup>a</sup>
Harina de pescado	77.05±1.72 <sup>c</sup>	78.31±2.08 <sup>c</sup>
Harina de calamar *	96.37±0.03	96.40±0.03

\* Datos promedios de tres réplicas (20 camarones) ± desviación estándar.

• Valor de una sola réplica. No interviene en el análisis estadístico.

a,b,c...Medias en la misma columna con diferentes letras varían ( $P < 0.05$ ).

Al comparar las digestibilidades de las series linoléica (n-3) y linoleica (n-6) de ácidos grasos entre las dietas, observamos que los valores son similares para ambos casos. La dieta con harina de calamar posee la más alta digestibilidad de ambas series de ácidos grasos. A continuación se presenta la dieta con pasta de soya, con una digestibilidad de las series linoléica y linoleica significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a las de las restantes dietas. Luego se encuentra la dieta con harina de pescado, también con una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) a las digestibilidades de los grupos n-3 y n-6 de las dietas con harina de cabeza de camarón y harina de cáscara de arroz, estas últimas sin diferencias significativas entre sí ( $P > 0.05$ ).

## 6.4 ACIDOS GRASOS SATURADOS E INSATURADOS.

Tabla X. Digestibilidad aparente de los ácidos grasos saturados e insaturados de las dietas experimentales en el *P. vannamei* \*

Materia prima principal en la dieta	Digestibilidad aparente de A.G. saturados	Digestibilidad aparente de A.G. insaturados
Harina de cáscara de arroz	54.13±5.42 <sup>a</sup>	64.55±6.12 <sup>a</sup>
Pasta de soya	83.44±1.05 <sup>b</sup>	87.93±1.17 <sup>b</sup>
Harina de cabeza de camarón	53.34±9.96 <sup>a</sup>	59.05±9.26 <sup>a</sup>
Harina de pescado	72.22±2.22 <sup>c</sup>	77.66±1.80 <sup>c</sup>
Harina de calamar *	94.03±0.04	96.22±0.03

\* Datos promedios de tres réplicas (20 camarones) ± desviación estándar.

\* Valor de una sola réplica. No interviene en el análisis estadístico.

a,b,c...Medias en la misma columna con diferentes letras varían ( P< 0.05 )

Por último, fueron revisadas las digestibilidades de los ácidos grasos de las dietas, según fuesen saturados o insaturados. Una vez más, la dieta con harina de calamar posee la mayor digestibilidad para estos dos tipos de ácidos grasos. En seguida se presenta la dieta con pasta de soya, cuyas digestibilidades difieren significativamente (P<0.05) de las del resto. Luego se encuentra la dieta con harina de pescado, con digestibilidades que son significativamente diferentes (P<0.05) a aquellas de las dietas ubicadas al final, con harina de cabeza de camarón y harina de cáscara de arroz, las cuales no se diferencian de manera significativa entre sí (P>0.05).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Un par de pruebas preliminares se realizaron para establecer dos puntos principales: una densidad apropiada para tanques de 500 l., con camarones de un peso aproximado al utilizado en el presente bioensayo y la forma más eficiente para la recolección de heces, entre dos métodos: el uso de colector de heces o el uso de sifón y tamiz. En el primer caso, al realizarse un bioensayo con tres diferentes densidades (10, 20 y 30 camarones por tanque), se pudo observar que la densidad de 20 animales por tanque no afectó la supervivencia o crecimiento de los camarones y por tal razón se decidió utilizar esta misma cantidad en el presente bioensayo. Para la recolección de heces, fue seleccionado el método del sifón y tamiz por no presentar mayores inconvenientes en la adaptación al sistema a utilizarse, a diferencia de lo ocurrido con el uso del colector de fecas. Además, los camarones empezaban a defecar alrededor de una hora y media después de la ingestión del alimento y éste a su vez, presentaba cierta flotabilidad, no recomendable en balanceados para camarón. Por tales razones, fue escogido un tiempo de espera de tres horas para la recolección de las heces y alimentar en exceso.

Inicialmente en este experimento fue considerado un mayor número de materias primas a probarse, especialmente de origen vegetal, entre ellas polvillo de arroz, trigo, maíz y avena. Sin embargo, la muy pobre ingestión y casi nula recolección de heces obtenidas para estos tratamientos fueron motivos para considerar su eliminación en pleno desarrollo del bioensayo. Una de las posibles causas de esta baja ingestión podría ser el hecho de que la sustancia utilizada como atrayente (aceite de pescado) no fue estímulo suficiente para el camarón, bajo las condiciones del bioensayo. Heinen (1980) establece como dudosa la creencia de que las proteínas y otras macromoléculas sean buenos atrayentes alimenticios, pero sugiere que podrían servir como una sustancia incitante.



Si bien es cierto que el efecto asociativo de los ingredientes de una dieta puede influir en la digestibilidad de cualesquiera de sus componentes (Akiyama *et al.*, 1989; Brown *et al.*, 1989), las dietas fueron formuladas de tal manera en el presente experimento, para evitar la posibilidad de un desbalance nutricional que interfiera con el desarrollo del bioensayo o en los resultados obtenidos.

Por sugerencia del Dr. Akio Kanazawa, durante el bioensayo los camarones muertos fueron reemplazados, a fin de mantener un número constante de animales sobre el cual medir la digestibilidad, disminuyendo así una posible fuente de error en el análisis de los datos, y se decidió mantener los tanques con el mismo tratamiento durante todo el bioensayo, y apreciar de alguna forma, el efecto de la adaptabilidad de los camarones a cada dieta.

Por otra parte, aunque diversas técnicas han sido desarrolladas para la recolección de las fecas en el caso de los peces, tales como uso de cámaras metabólicas, presión abdominal, succión anal, disección intestinal, decantación de heces, fijación de nitrógeno y filtración continua (Manríquez, 1993 b), de estas muy pocas son aplicables al camarón. Otros métodos de recolección de heces han sido probados de forma exclusiva para camarones (Seidman & Lawrence, 1985; Ellis *et al.*, 1987; Koshio *et al.*, 1993) pero las desventajas propias de la morfología del animal, sus hábitos alimenticios y el ambiente que los circunda principalmente, exigen una mayor laboriosidad y precisión en el método a emplearse. De acuerdo al diseño del sistema instalado, el uso de sifón y tamiz resultó ser el más adecuado.

En general puede apreciarse de los resultados obtenidos una baja desviación estándar de la digestibilidad para los diversos componentes, pero en cambio, para el caso de las dietas con harina de cabezas de camarón y harina de cáscara de arroz, la desviación estándar tiende a ser más alta que las del resto. Esto podría ser debido a dos cosas: Para el caso de la dieta con harina de cabezas de

camarón, su muy pobre estabilidad en el agua (< 1.5 horas) pudo haber contribuido a una lixiviación pronunciada y no uniforme, de la sustancia utilizada como indicador. Otra idea sugiere más bien que, debido a la comparación de réplicas cronológicamente consecutivas (cada siete días), cierto mecanismo fisiológico de adaptación a la dieta (Heinen, 1980; Fenucci *et al.*, 1982) puede de alguna manera haber mejorado la eficiencia en la digestión de ésta, lo cual pudiera ser el caso de la dieta con cáscara de arroz.

En todo caso, la inconveniencia de los métodos utilizados no es considerada, puesto que las dietas restantes presentan bajas desviaciones estándar si las comparamos con las ya mencionadas. Aunque es cierto que al ubicarse en un mismo medio el alimento y las heces pudiera haber una contaminación mutua, en especial de heces con alimento, lo que afectaría a los resultados de digestibilidad obtenidos, parece más bien que las restantes características propias de las dietas contribuyen a designar un método como inservible, antes que el procedimiento *per se*.

Por otro lado, aunque el propósito fundamental estaba centrado en la digestibilidad de los componentes nutricionales de la materia prima, por los resultados negativos obtenidos con la dieta control, sólo pudo calcularse la digestibilidad total de las dietas, es decir, se consideró también el aporte de los otros ingredientes en los valores obtenidos. Tales valores negativos fueron también obtenidos por Akiyama *et al.* (1989) para materia seca. El sugiere entonces que estos valores representan pérdidas endógenas del animal por procesos tales como secreción enzimática, desprendimiento de células epiteliales del intestino, formación de la membrana peritrófica quitinosa y de otras sustancias lubricantes.

Es una práctica generalizada el cálculo de la digestibilidad aparente, puesto que el establecimiento de una digestibilidad verdadera o real está sujeto a la determinación de la pérdida de

material endógeno en las heces del animal, la cual en los peces es atribuida a la ingestión del alimento (Lovell, 1989).

Las digestibilidades de las dietas experimentales, excepto la dieta control, variaron entre 56.92% y 95.19%, para la materia seca; de 69.80% a 93.31% para los lípidos; y entre 73.09% y 90.69% para la proteína, esta última comparada sólo entre las dietas con harina de pescado, harina de cabeza de camarón y harina de cáscara de arroz. El elevado valor negativo de la digestibilidad de la proteína (-113.83%) en la dieta control implica una abundante excreción de nitrógeno fecal, lo que confirma lo expuesto por Akiyama *et al.* (1989). Los resultados obtenidos indican que el origen de la materia prima, sea esta vegetal o animal, no influyó en la digestibilidad aparente de materia seca y lípidos de las dietas.

En cuanto a los ácidos grasos esenciales de las dietas, sus digestibilidades fluctuaron en rangos de 65.36 a 97.07%, 78.03 a 100%, 68.48 a 96.35% y 62.57 a 95.65% para el 18:2n-6, 18:3n-3, 20:5n-3 y 22:6n-3, respectivamente. Generalmente, la dieta con harina de calamar obtuvo los más altos niveles de digestibilidad, aunque no pudo ser comparada de manera estadística con las otras dietas por ser sólo el valor de una réplica fecal. Luego de ésta, continuó la dieta con pasta de soya y posteriormente, las dietas con harina de pescado y harina de camarón, mientras los más bajos niveles de digestibilidad fueron presentados por la dieta con cáscara de arroz. En general, los valores de digestibilidad del ácido linolénico (18:3n-3) fueron superiores a aquellos de los otros ácidos grasos.

Por otra parte, la digestibilidad de las series de ácidos grasos, linoleica (n-6) o linolénica (n-3), fluctuó entre las dietas en rangos de 61.08 a 96.40% y 65.13 a 96.37%, respectivamente. No se observó mayor diferencia entre ambas series de ácidos grasos. De acuerdo al tipo de ácidos grasos, la digestibilidad entre las dietas varió en rangos de 53.34% a 94.03% para los saturados y 59.05 a

96.22% en los insaturados. Aquí es posible observar una ligera superioridad en la digestibilidad de los ácidos grasos insaturados sobre los ácidos grasos saturados en todas las dietas, lo que resulta como compensación fisiológica por la incapacidad de sintetizar *de novo* aquellos ácidos grasos insaturados considerados como esenciales (Castell, 1981).

Puede establecerse entonces que de las dietas evaluadas resultaron más provechosas aquellas que contenían la harina de calamar, pasta de soya y harina de pescado, tanto por su contenido nutricional como por su digestibilidad. Cabe resaltar que el calamar fue obtenido en estado fresco y no tuvo mayor procesamiento que su liofilización (deshidratación a baja temperatura y al vacío) y pulverización hasta convertirlo en harina, mientras que la harina de pescado fue un producto elaborado de industria y la pasta de soya era un subproducto de la extracción de su aceite.

En cuanto a la harina de camarón utilizada, según los datos obtenidos sobre su composición nutricional, no se presentó tan buena como la harina de calamar o de pescado y esto se reflejó en la digestibilidad de la dieta de la cual formó parte. Colvin (1976) obtuvo un valor aproximado de 85% de asimilación aparente para la proteína de la harina de camarón, el cual es superior al 75% determinado en este experimento. Sin embargo, esta diferencia podría deberse a que la harina utilizada en este bioensayo consistía exclusivamente de cabezas de camarón.

Resulta destacable y hasta cierto punto confuso también, el caso de la digestibilidad de la proteína de la dieta con cáscara de arroz, la cual posee un valor muy elevado y significativamente diferente ( $P < 0.05$ ) a aquellas de las dietas con pescado y camarón. Esto podría deberse a la menor proporción de la proteína en esta dieta (tabla IV), conferida por los ingredientes adicionales de la dieta principalmente, lo cual mejoraría aparentemente la eficiencia de asimilación de este nutriente, ya que la caseína, uno de los

nutrientes adicionales de las dietas, ha mostrado una alta digestibilidad en el *P. vannamei* (Akiyama *et al.*, 1989; Catacután, 1991) y constituye un componente importante de las dietas experimentales (Tabla II).

Los datos aquí presentados contribuyen al entendimiento de la nutrición del *P. vannamei* y deberían ser suplidos con estudios sobre crecimiento obtenido con dietas elaboradas en base a las materias primas aquí probadas, para verificar su utilidad práctica.

Finalmente, es recomendable que estas mismas materias primas sean probadas para la alimentación de los estadios larvarios del camarón *P. vannamei*, en los cuales podrían también resultar de gran ayuda en vista de los resultados aquí obtenidos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Achupallas, J., 1993. Control de calidad. Artículo presentado en el I Curso Regional de Preparación de instructores en nutrición y alimentación de especies acuáticas. San Pedro de Manglaralto - Ecuador. CENAIM - ESPOL. FAO - AQUILA II.
2. Aiken, D., 1990. Shrimp farming in Ecuador. As you sow, so shall you reap...World Aquaculture Magazine, 21 (3): 48 - 55.
3. Akiyama, D.M., 1991. Soybean meal utilization by marine shrimp. In: Akiyama, D.M. & Tan, R.K.H. (editors) Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop, pp. 207 - 225. Thailand and Indonesia. American Soybean Association. Singapore.
4. Akiyama, D.M., Coelho, S.R., Lawrence, A.L. & Robinson, E.H., 1989. Apparent digestibility by the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. Nippon Suisan Gakkaishi 55 (1), 91 - 98.
5. Akiyama, D.M., Dominy, W.G. & Lawrence, A.L., 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry: revised. In: Akiyama, D.M. & Tan, R.K.H. (editors). Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop, pp. 80 - 98. Thailand and Indonesia. American Soybean Association. Singapore.
6. Ashmore, S.B., Stanley, R.W., Moore, L.B. & Malecha, S.R., 1985. Effect on growth and apparent digestibility of diets varying in grain source and protein level in *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of the World Mariculture Society 16: 205 - 216.
7. Austreng, E. 1978. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different

segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 13 : 265 - 272.

8. Bell, T.A. & Lightner, D.V., 1988. A handbook of normal penaeid shrimp histology. World Aquaculture Society. Baton Rouge, Louisiana, USA.

9. Boer, F. de & Bickel, H., 1988. Feedstuffs. In: Livestock feed resources and feed evaluation in Europe: Present situation and future prospects. Elsevier. The Netherlands, pp 11 - 12.

10. Brown, P.B., Robinson, E.H., Clark, A.E. & Lawrence, A.L., 1989. Apparent digestible energy coefficients and associative effects in practical diets for red swamp crayfish. *Journal of the World Aquaculture Society*. Vol 20 No. 3.

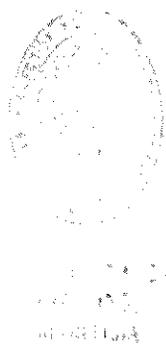
11. Brunson, M.W. & Taylor, R.W., 1987. Evaluation of three sorghums as potential alternative forages for crawfish culture. *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 18, No.4: 247 - 252.

12. BÜCHI LABORATORIUMS-TECHNIK AG, 1991. Information Azote No. 1. Determinación de Proteínas.

13. Caceci, T., Neck, K. F., Lewis, D. H. & Sis, R.F., 1988. Ultrastructure of the hepatopancreas of the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Journal of the Mariculture Biologists Association U.K.* 68: 323-337.

14. Castell, J.D., 1981. Fatty acid metabolism in crustaceans. In: Pruder, Langdon and Conklin (Eds). *Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition*. Rehoboth Beach, Delaware, USA. Louisiana State University, Special Publication No. 2, pp: 124- 145.

15. Cho, C.Y. & Slinger, S.J., 1979. Apparent digestibility measurements in feedstuffs for rainbow trout, pp 239 - 247 in J.E. Halver and K. Tiews, editors. Finfish nutrition and fishfeed technology, vol. 2. Heenemann Verlagsgesellschaft, Berlin.
16. Christie, W. , 1989. Gas chromatographic analysis of fatty acid derivatives. In: Gas Chromatography and Lipids. A practical guide. First edition. The oily press Ltd., Scotland, Great Britain, pp: 85- 128.
17. Chuang, J.L., 1990. Nutrient requirements, feeding and culturing practices of *Penaeus Monodon*: A review. In: The Nutrition of Prawns. La Roche Corp.
18. Coll Morales, J. 1983. Materias primas. En: Acuicultura marina animal. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, pp. 372.
19. CPC, 1993. El libro blanco del camarón. Publicación de la Cámara de Productores de Camarón. II Edición. Ecuador.
20. Cruz-Ricque, E., Guillaume, J., Cuzon, G. & AQUACOP, 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. Journal of the World Aquaculture Society. Vol 18, No. 4: 209 - 217.
21. Dabrowski, K. , Poczyczynski, P., Köck, G. & Berger, B. 1989. Effect of partially or totally replacing fish meal protein by soybean meal protein on growth, food utilization and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New in vivo test for exocrine pancreatic secretion. Aquaculture 77: 29 - 49.
22. Dall, W. and Moriarty, D.J.W., 1983. "Functional aspects of nutrition and digestion". In: Linda H. Mantel (Editor). Biology of Crustacea, Vol 5, Internal Anatomy and Physiological Regulation. Academic Press, New York, N.Y., pp. 215 - 261.



23. Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C. and Staples, D.J., 1990. "The Biology of the Penaeidae". In: Blaxter, J.H.S & Southward, A.J. (Editors). *Advances in Marine Biology*, Vol 27. Academic Press, San Diego, C.A.

24. De Silva, S.S. 1989. Digestibility evaluations of natural and artificial diets. In: S.S De Silva (ed) *Fish Nutrition Research in Asia*. Proc. of 3rd. Asian Fish Nutrition Network Meeting. Asian Fish. Soc. Spec. Publ. 4, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp 36 - 45.

25. Ellis, R.W., Long, J., Leitner, L y Parsons, J., 1987. Estimation of crude protein, energy and amino acid digestibilities in freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) and crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) with a fecal collection system. *The Progressive Fish-Culturist* 49: 303 - 305.

26. Fenucci, J.L., de Fenucci, A.C., Lawrence, A.L. & Zein-Eldin, Z.P., 1982. The assimilation of protein and carbohydrate from prepared diets by the shrimp, *Penaeus stylirostris* *Journal of the World Mariculture Society* 13: 134 - 145.

27. Fenucci, J.L., Zein-Eldin, Z.P. & Lawrence, A.L., 1980. The nutritional response of two penaeid species to various levels of squid meal in a prepared feed. *Proceedings of the World Mariculture Society* 11: 403 - 409.

28. Furukawa, A. & Tsukahara, H., 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 32: 502-506.

29. Gibson, R., 1981. Feeding and digestion in decapod crustaceans. *Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and physiological approaches to*



shellfish nutrition. Rehoboth Beach, Delaware, USA. Louisiana State University, Special Publication No. 2, pp: 59 - 70.

30. Hardy, R. W. & Masumoto, T., 1991. Specifications for marine by-products for aquaculture. In: Akiyama, D.M. & Tan, R.K.H. (editors) Proceedings of the aquaculture feed processing and nutrition workshop, pp. 99 - 108. Thailand and Indonesia. American Soybean Association. Singapore.

31. Heinen, J.M., 1980. Chemoreception in decapod crustacea and chemical feeding stimulants as potential feed additives. Proc. World Mariculture Soc. 11: 319 - 334 .

32. Hickman, C.P., 1973. Biology of the Invertebrates. 2nd. edition. De Pauw University, Greencastle, Indiana, USA.

33. Hood, M.A. & Meyers, S.P., 1974. Microbial aspects of penaeid shrimp digestion. Proceedings, Gulf and Caribbean Fisheries Institute. 66: 81 - 91.

34. INEN, 1980. Determinación de la pérdida por calentamiento. Norma 464. Al 06.01-302. Ecuador.

35. INEN, 1980. Determinación de las cenizas. Norma 467. Al 06.01 - 305. Ecuador.

36. Kamarudin, M.S., Kaliapan, K.M. & Siraj, S.S., 1989. The digestibility of several feedstuffs in red tilapia. In: S.S. De Silva (ed.) Fish Nutrition Research in Asia. Proceedings of the Third Asian Fish Nutrition Network Meeting. Asian Fish. Soc. Spec. Pub., 4, pp. 118 - 122. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

37. Kanazawa, A., 1992. Formulated feeds for grow-out shrimp. In : The Nutrition and Feed of Prawns and Shrimp. Takeda Chemical Industries Ltd. , Japan., pp. 14.

38. Koshio, S., Teshima, S., Kanazawa, A. & Watase, T., 1993. The effects of dietary protein content on growth, digestion efficiency and nitrogen excretion of juvenile kuruma prawns, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 113: 101 - 114.
39. Lee, P.G., Smith, L.L., and Lawrence, A.L., 1984. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet. *Aquaculture*, 42: 225 - 239.
40. Liao, I.C. & Liu, F.G., 1989. A brief review of nutritional studies for *P. monodon*. In: *Advances in Tropical Aquaculture*. Tahiti. AQUACOP, IFREMER. Actes de Colloque, 9, pp. 355 - 380.
41. Lovell, T., 1989. Digestion and metabolism. In: *Nutrition and feeding of fish*. Published by Van Nostrand Reinhold, New York, USA, pp:80.
42. Manríquez, J.A., 1993, a. Alimentos no contaminantes para salmones: evaluación de su digestibilidad como criterio de calidad. Tesis para optar al grado de Licenciado en Biología Marina. Instituto de Oceanología, Universidad de Valparaíso, Chile. Fundación Chile.
43. Manríquez, J.A., 1993, b. La digestibilidad como criterio de evaluación de alimentos: su aplicación en peces y en la conservación del medio ambiente. Primer curso regional de capacitación en control de calidad de insumos y dietas acuícolas para latinoamérica Santiago de Chile. Fundación Chile - FAO.
44. New, M.B., 1976. A review of dietary studies with shrimp and prawns. *Aquaculture* 9: 101 - 144.
45. New, M.B., 1987. Ingredient types. In: *Feed and feeding of fish and shrimp. A manual on the preparation and presentation of*

compound feeds for shrimp and fish in aquaculture. Aquaculture Development and Coordination Programme. UNDP of FAO. Rome.

46. Ng, W.K. & Wee, K.L. 1989. The nutritive value of cassava leaf meal in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture*, 83: 45 - 58.

47. NOAA, 1992. World Shrimp Culture. Vol II, Part 3, South America. National Marine Fisheries Service, USA, pp: 901.

48. Notie, J. de la & Choubert, G., 1986. Digestibility in rainbow trout: Comparison of the direct and indirect methods of measurement. *The Progressive Fish-Culturist* 48: 190 - 195.

49. NRC, 1983. Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes. Revised edition. National Research Council, Washington, D.C., USA, p. 39.

50. Pizarro, G, Yaguachi, M. & Monteros, M., 1988. Determinación de fibra cruda por el método de Weende. En: Manual de Análisis agroquímico. Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador. 1ra. Edición, pp. 61-65.

51. Santamaría, E.L. & de Santamaría, D., 1992. Evaluación de dietas experimentales a base de harina de soya y su efecto en el crecimiento de *Penaeus vannamei*. En: Engorde y maduración de camarones peneidos. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Subprograma II Acuicultura. Vol II: 101 - 104.

52. Satoh, S., Cho, C.Y. & Watanabe, T. 1992. Effect of fecal retrieval timing on digestibility of nutrients in rainbow trout diet with Guelph and TUF feces collection systems. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58 (6), 1123 - 1127.



53. Schmidt-Hebbel, H. 1981. Los minerales y elementos trazas en los alimentos. En: Avances en ciencia y tecnología de los alimentos. Editado por Merck Química chilena, Santiago, pp: 58.
54. Seidman, E.R. & Lawrence, A.L., 1985. Growth, feed digestibility and proximate body composition of juvenile *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* grown at different dissolved oxygen levels. Journal of the World Maric. Soc. 16: 333 - 346.
55. Shiau, S.Y., Pan, B.S., Chen, S., Yu, H.L. & Lin, S.L. 1988. Successful use of soybean meal with a methionine supplement to replace fish meal in diets fed to milkfish *Chanos chanos* Forskal. J. of the World Aquaculture Society. Vol 19, No. 1: 14 - 19.
56. Smith, LL, Lee, P.G., Lawrence, A.L. & Strawn, K., 1985. Growth and digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: effects of dietary protein level and protein source. Aquaculture, 46: 85 - 96.
57. Spyridakis, P., Métailler, R., Gabaudan, J. & Riaz, A., 1989. Studies on nutrient digestibility on nutrient digestibility in European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) 1.- Methodological aspects concerning faeces collection. Aquaculture 77 : 61 -70.
58. Steel, R.G.D. & Torrie, J.H., 1980. Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. Second edition. McGraw-Hill, USA.
59. Tacon, A.G.J. , 1987. The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. A training manual, 1. The essential nutrients. Food and Agriculture Organization of the United Nations, field document 2, GCP/RLA/075/ITA.
60. Tacon, A.G.J. 1989. Recursos de nutrientes. Composición de materiales alimenticios y fertilizantes. En: Nutrición y alimentación

de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Documento de Campo No. 4 . GCP/RLA/102/ITA. FAO - AQUILA II.

61. Takeuchi, T., Ackman, R.G. & Lall, S.P., 1991. Differences in fatty acid composition of fish faeces as determined by two extraction methods. *Journal Sci. Food Agric.* 56: 259 - 264.

62. Watanabe, T. 1988. *Fish Nutrition and Mariculture* . Japan International Cooperation Agency (JICA) textbook.

63. Wee, K.L. & Shu, S-W, 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. *Aquaculture* 81: 303 - 314.

64. 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:, pp 51 - 55.

