UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

ESTUDIO DE ALGUNOS PARAMETROS DE CALIDAD DE HARINAS DE PESCADO UTILIZADAS EN LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO

Penaeus vannamei.

TESIS

QUE PRESENTA:

Biól. María Isabel Abdó De la Parra

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLOGICAS

CON ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA

ACUATICA Y PESCA.

MARZO DE 1994.

TM
Z5320
FCB
1994
A2

1020091366

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

ESTUDIO DE ALGUNOS PARAMETROS DE CALIDAD DE HARINAS DE PESCADO UTILIZADAS EN LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO

Penaeus vannamei.

TESIS

QUE PRESENTA:

Biól. María Isabel Abdó De la Parra

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLOGICAS CON ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA.

MARZO DE 1994.

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

ESTUDIO DE ALGUNOS PARAMETROS DE CALIDAD DE HARINAS DE PESCADO UTILIZADAS EN LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO *Penaeus vannamei*.

TESIS

QUE PRESENTA

BIOL. MARIA ISABEL ABDO DE LA PARRA.

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS BIOLOGICAS CON ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA.

COMISION DE TESIS

PRESIDENTE: DRA. L. ELIZABETH CRUZ SUAREZ.

SECRETARIO: DR. DENIS RICQUE MARIE.

VOCAL: DRA. GUADALUPE ALANIS GUZMAN.

MONTERREY, N.L. MARZO DE 1994.

TM
Z5320
FCB
1994
A2

FONDO TESIS

33076

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

ESTUDIO DE ALGUNOS PARAMETROS DE CALIDAD DE HARINAS DE PESCADO UTILIZADAS EN LA NUTRICION DEL CAMARON BLANCO *Penaeus vannamei*.

TESIS

QUE PRESENTA

BIOL. MARIA ISABEL ABDO DE LA PARRA.

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS BIOLOGICAS CON ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA.

DIRECTOR: _____
DRA. L. ELIZABETH CRUZ SUAREZ.

CO-DIRECTOR: _____
DR. DENIS RICQUE.

ASESOR EXTERNO: _____
DR. IAN H . PIKE.

ASESOR EXTERNO: _____
M. en C. EMILIO CASTRO CAMPOS.

ASESOR EXTERNO: _____
DRA. CRISTINA CHAVEZ SANCHEZ.

MONTERREY, N.L. MARZO DE 1994.

A DIOS: Por el don de la vida y por todas las Bendicones que he recibido durante toda mi vida.

A MIS PADRES: ANTONIO ABDO E ISABEL DE LA PARRA, por ser mi mejor ejemplo de superación. Por su amor, por impulsarme siempre hacia adelante, por la libertad que me dieron de elegir y recorrer mi propio camino. Por apoyarme siempre. Porque aunque físicamente lejos estamos, siempre los siento junto a mí. Son los mejores padres que un hijo puede desear.

A MIS HERMANOS: ANTONIO Y SELINA, porque además de ser mis queridos hermanos, son mis amigos. Gracias por todo el apoyo que me han brindado, por estar conmigo siempre, por los momentos que compartimos. Recuerden que siempre cuentan conmigo.

AGRADECIMIENTOS.

Son muchas las personas a las cuales tengo que agradecer, ya que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo, pero quiero agradecer de manera muy especial a la Dra. **ELIZABETH CRUZ SUAREZ** y al Dr. **DENIS RICQUE**, porque gracias a su ayuda y esfuerzo constante se logró la realización del presente trabajo. Les agradezco también, todo el tiempo que me dedicaron, su apoyo moral y económico, su interés, que no sólo fue en el aspecto profesional, sino también en el personal. Gracias por su confianza y su amistad. Sobre todo, gracias por ser una parte tan importante en mi formación profesional y por su ejemplo de lucha constante.

A la Dra. **GUADALUPE ALANIS GUZMAN**, muchas gracias por su apoyo y orientación durante la realización del presente trabajo.

Al Dr. **IAN H. PIKE** mi más profundo y sincero agradecimiento por haber aceptado colaborar con nosotros; por su confianza, por su invaluable ayuda, por su sencillez y por proporcionar las harinas utilizadas en el primer objetivo.

Al M. en C. **EMILIO CASTRO CAMPOS**, mi más sincero agradecimiento por todo su apoyo, interés y colaboración durante la realización de mi tesis. Muchas gracias por su ayuda para conseguir apoyo económico.

A la Dra. **CRISTINA CHAVEZ SANCHEZ**, gracias por su apoyo, por sus comentarios y orientación.

A la Ing. **CECILIA LARA**, le agradezco profundamente todos sus consejos, su confianza, su interés y la orientación que me proporcionó durante la elaboración de este trabajo. Gracias también por proporcionar las harinas de pescado de diferente score, y por su colaboración para conseguir apoyo económico.

A la Lic. **MONICA GALLEGUILLOS** por la clasificación de las harinas de pescado de diferente score y por su orientación.

Al Dr. **ROBERTO MENDOZA** muchas gracias por su ayuda y sus comentarios durante la realización de esta investigación.

Al Dr. **RAMON GUAJARDO**, gracias por su confianza y por intercesión en la obtención de la Beca Puente.

A la Dra. **JULIA VERDE S.** gracias por su apoyo para obtener mi beca de colegiatura.

A **FUNDACION CHILE** por toda su colaboración y apoyo.

A **PESQUERA IQUIQUE-GUANAYE** por su colaboración y apoyo económico.

A todos mis compañeros de laboratorio mi profundo agradecimiento, por toda su ayuda en la elaboración del gluten, en la realización del video, etc. Por todos los momentos que compartimos y sobre todo por su amistad.

A **Martha** muchas gracias por su disponibilidad y por ser la mejor colaboradora.

A **Jose Luís** muchas gracias por toda la ayuda que me diste en la realización de los bioensayos.

A **Laura, Oscar** y **Gerardo**, gracias por los camarones que me enviaron.

A **Paty, Rosy, Mario, Gabriel** y **Pablo**, gracias por toda su ayuda durante la realizacion de mi tesis.

A **Arturo** por su valiosa ayuda en la realización del video.

A **Adriana** mi profundo agradecimiento por todo su apoyo y ayuda.

A la Biól. **Silvia Casillas** y M. en C. **Ma. de la Luz Delgado** "mis hermanitas", por todos los momentos que compartimos, por esa época inolvidable en que vivimos juntas, muchísimas gracias. Porque, aunque cada quien siga su propio camino, siempre contaremos con cada una de nosotras.

Al **CONACYT.**, por su apoyo económico en la realización de este proyecto (proyecto clave 476100-5-1572-A9208).

DEDICATORIA.

A tí MANUEL.

Por tu amor y paciencia. Porque sé que fue muy difícil para tí no tener mucho tiempo sólo para nosotros, pero aún así, me apoyaste y me impulsaste a seguir adelante. Gracias por comprender que tan importante es para mí todo esto.

TE AMO.

RESUMEN

La harina de pescado es una de las fuentes nutricionales más importantes desde el punto de vista económico y biológico para especies de altos requerimientos nutricionales; sin embargo, la calidad de las harinas de pescado que se requiere para la nutrición del camarón y la sensibilidad del mismo a algunas sustancias que pueden ser formadas durante la elaboración de las harinas de pescado, como bases volátiles totales (TVN), aminas biogénicas, mollerosina, peróxidos, etc. no se conocen aún. En el presente proyecto se determinó el efecto del grado de frescura de la materia prima (evaluada por el contenido de bases volátiles totales o TVN), el score biotoxicológico (determinado en pollos) de diferentes harinas de pescado y de la DL-Mollerosina sintética a diferentes concentraciones en el alimento, sobre el camarón blanco **Penaeus vannamei**. Se prepararon 3 dietas con harinas de pescado de diferentes grados de frescura: harina de pescado elaborada con fresca (HPF), harina de pescado con materia prima moderadamente fresca (HPFM) y harina de pescado con materia prima descompuesta (HPD); posteriormente se elaboraron 4 dietas con harina de pescado de diferente score biotoxicológico (0.1, 0.1,1.1, y 1.4): harina de pescado normal$_a$ (HPN$_a$), harina de pescado normal$_b$ (HPN$_b$), harina de pescado de toxicidad media y alto contenido de histamina (HPM$_a$) y harina de pescado de toxicidad media y bajo contenido de histamina (HPM$_b$); además, con la HPN$_a$ se prepararon otras 4 dietas a las que se les agregaron diferentes concentraciones de mollerosina (1.0, 3.0, 6.0 y 9.0 mg/kg.). Las harinas de pescado se analizaron por varios métodos de evaluación química (TVN, análisis proximal, contenido de aminas biogénicas y digestibilidad). Las dietas experimentales de diferente frescura se evaluaron en 2 bioensayos, alimentando **ad libitum** a postlarvas de **P. vannamei** de 0.9g y 1.5, durante 14 y 28 días, respectivamente. Las dietas con harinas de diferente score biotoxicológico y DL-Mollerosina se evaluaron en 1 bioensayo con postlarvas de **P. vannamei** de 0.066g de peso promedio, durante 28 días. Al final de los bioensayos se determinó, la tasa de crecimiento, consumo de alimento, la tasa de conversión alimenticia y la sobrevivencia. Se demostró que el camarón es sensible a la calidad de las harinas de pescado. El grado de frescura de la materia prima con la que se elaboran las harinas de pescado disminuye significativamente el crecimiento (desde un 15 hasta un 25%) y el consumo de alimento en camarones menores de 1g. La frescura de la materia prima también puede afectar la estabilidad en el agua del alimento balanceado. Las harinas de pescado con score >1.0, y el tóxico DL-Mollerosina disminuyen (20%) significativamente la sobrevivencia de las postlarvas del camarón blanco. Se recomienda que el grado de frescura de la materia prima de las harinas de pescado se evalúe en camarones mayores a 1g, elaborando dietas con porcentajes menores de proteína y con un diseño experimental más sensible. También es recomendable realizar más estudios para determinar el modo de acción de la mollerosina en camarones. Los parámetros de calidad que se evaluaron en el presente trabajo., no se consideran en la Norma Oficial Mexicana para certificar harinas de pescado, por lo que se puede recomendar, en base a los resultados obtenidos, que estos parámetros sean tomados en cuenta para las harinas de pescado destinadas a la alimentación del camarón, considerando el impacto económico que éstos pueden tener en la producción del mismo.

ABSTRACT

Fish meal availability and quality are important limitants to get good quality aquatic feeds. However, the standards of fish meal quality required for shrimp nutrition are not known, since the sensibility of shrimps to some chemical substances than can be produced in the fish meal during its manufacture, such as TVN, biogenic amines, gizzerosine, peroxides, etc., remain unkown, but highly suspected. The present work was performed to determine the effect of freshness of raw material used to prepare fish meal, on its nutritional value for shrimp (**Penaeus vannamei**) and to determine the shrimp sensibility to fish meals of different biotoxicological score and to the toxic DL-Gizzerosine. To carry out this study, three experimental diets were formulated with fish meals elaborated from the same raw material graded freshness: fish meal from fresh raw material (FFM), fish meal from moderately fresh raw material (MFFM) and fish meal from stale material (SFM). Later, 8 experimental diets were formulated with chilean fish meals with different biotoxicological score (0.1, o.1, 1.1 and 1.4): normal toxicity fish meal (NFM_a), normal toxicity fish meal (NFM_b), medium toxicity fish meal and with high histamine level (MFM_a) and medium toxicity fish meal with low histamine level (MFM_b). The remaining 4 diets were elaborated with the normal fish meal (NFM_a) supplemented with different concentrations of synthetic DL-Gizzerosine (1.0, 3.0, 6.0 and 9.0 ppm). Fish meal quality was also evaluated by chemical analysis (TVN, proximal analysis, biogenic amines content and **in vitro** digestibility). The experimental diets with fish meals of different freshness were evaluated through 2 bioassays with **P. vannamei** (of 0.9 and 1.5g initial mean weigth), during 14 and 28 days, respectively. The experimental diets with fish meals of different biotoxicological score and DL-Gizzerosine were evaluated through 1 bioassay with **P. vannamei** (of 0.066g initial mean weight), during 28 days. At the end of the bioassays, growth rates, feed conversion rates and survival rates were determinated, ANOVA and Scheffe test were realized to determine significant differences between treatments. Results demostrate the shrimp sensibility to the freshness of the raw material: growth and feed consumption decreased significantly in the shrimps of 0.9g initial weigth fed with the moderately fresh and stale fish meals. The lack of freshness of raw material also affected the feed stability in the water. Fish meals biotoxicological score higher than 1.0 and the DL-Gizzerosine decreased significantly the shrimp survival. Its suggested to evaluate the effect of the raw material freshness on shrimps large than 1g with diets cointaining a lower protein level. It is also recommended to realize more studies for the determination of the path way of the Gizzerosine on shrimp. Quality parameters that were evaluated in the present study are not considered in the Mexican Official Regulation to certificate fish meal; from our results, it may be recommended that these parameters should be taken in account for fish meals to be used in shrimp nutrition, due to the economic impact they may have on shrimp production.

INDICE.

RESUMEN..... i
I.- INTRODUCCION..... 1
II.- ANTECEDENTES..... 4
1. Cultivo del Camarón..... 4
2. Harinas de Pescado..... 5
2.1. Historia..... 5
2.2. Producción Mundial..... 6
2.3. Productores..... 6
2.4. Proceso..... 7
2.4.1. Cocción..... 7
2.4.2. Prensado..... 7
2.4.3. Decantación..... 8
2.4.4. Centrifugación..... 8
2.4.5. Concentración..... 8
2.4.6. Secado..... 9
2.4.7. Molienda..... 9
2.4.8. Adición de antioxidante..... 9
2.5. Valor nutricional de la harina de pescado..... 12
2.6. Parámetros de calidad y especificaciones para ..... la alimentación salmónidos..... 12
2.6.1. Grado de frescura de la materia prima..... 12
2.6.2. Aminas biogénicas..... 14
2.6.3. Calidad biotoxicológica..... 16
2.6.3.1. Mollerosina..... 16
2.7. Norma Oficial Mexicana.....20
III.- OBJETIVOS..... 22
Objetivo General..... 22
Objetivos Particulares..... 22
IV.- HIPOTESIS..... 22
V.- MATERIAL Y METODOS..... 23
1. Efecto del grado de frescura..... 23
1.1. Harinas de pescado experimentales..... 23
1.2. Dietas experimentales..... 24
1.2.1. Formulación y composición de las dietas..... experimentales.....24
1.2.2. Preparación de las dietas experimentales..... 25
1.2.3. Análisis de las dietas experimentales..... 25
1.3. Bioensayos..... 26
1.3.1. Descripción de la sala de bioensayos..... 26
1.3.2. Características de los camarones..... 26
1.3.3. Diseño experimental..... 27
1.4. Evaluación biológica..... 27
1.5. Análisis estadístico..... 28
2. Efecto del score biotoxicológico y del tóxico ..... DL-Mollerosina.....29
2.1. Harinas de pescado experimentales..... 29
2.2. Origen del tóxico DL-Mollerosina..... 30
2.3. Dietas experimentales..... 31
2.3.1. Formulación y composición de las dietas..... experimentales.....31
2.3.2. Preparación de las dietas experimentales..... 32

2.3.3. Análisis de las dietas experimentales..... 32
2.4. Bioensayos..... 32
2.4.1. Características de los camarones..... 32
2.4.2. Diseño experimental..... 32
2.5. Evaluación biológica..... 33
2.6. Análisis estadístico..... 33
VI.- RESULTADOS..... 34
1. Efecto del grado de frescura..... 34
1.1. Harinas de pescado experimentales..... 34
1.2. Análisis proximal de las dietas experimentales..... 34
1.3. Evaluación biológica..... 35
1.4. Parámetros isico-químicos del agua..... 37
2. Efecto del score biotoxicológico y del tóxico .....
DL-Mollerosina.....40
2.1. Análisis proximal de las dietas experimentales..... 40
2.2. Evaluación biológica..... 40
2.3. Parámetros fisico-químicos del agua..... 42
VIII. DISCUSION..... 47
1. Efecto del grado de frescura..... 47
1.1. Harinas de pescado experimentales..... 47
1.2. Análisis proximal de las dietas..... 49
1.3. Estabilidad de las dietas experimentales..... 50
1.4. Evaluación biológica..... 46
2. Efecto del score biotoxicológico y del tóxico .....
DL-Mollerosina.....46
2.1. Harinas de pescado experimentales..... 46
2.2. Detas experimentales..... 48
2.2.1. Composición de las dietas experimentales..... 48
2.2.2. Análisis proximal de las dietas experimentales.....48
2.3. Evaluación biológica..... 48
3. Puntos críticos de control en el proceso..... 50
3.1. Frescura de la materia prima..... 50
3.2. Proceso de secado..... 51
3.3. Puntos de control de la generación de mollerosina.... 52
2.4. Almacenamiento..... 52
VII. CONCLUSIONES..... 53
XIX. LITERATURA CONSULTADA..... 54
ANEXO I..... 59
ANEXO II..... 64
Anexo III..... 77
Anexo IV..... 82
Anexo V..... 98
Anexo VI.....109
Anexo VII.....113

LISTA DE TABLAS.

No. TABLA.	DESCRIPCION.	
1	Tipos de Harinas de pescado producidas en..... países.....	7
2	Composición de las harinas de pescado de ..... diferente grado de frescura.....	23
3	Composición de las dietas experimentales del ... bioensayo de frescura.....	24
4	Composición de las harinas de pescado de ..... diferente score biotoxicológico.....	30
5	Composición de las dietas experimentales del ... bioensayo biotoxicológico.....	31
6	Análisis proximal de las dietas del bioensayo... de frescura.....	34
7	Resultados promedios de la evaluación biológica. del bioensayo I (frescura).....	35
8	Resultados promedios de la evaluación biológica. del bioensayo II 14 días (frescura).....	36
9	Resultados promedios de la evaluación biológica. del bioensayo II 28 días (frescura).....	37
10	Análisis proximal de las dietas del bioensayo... biotoxicológico.....	40
11	Resultados promedios de la evaluación biológica. del bioensayo II 14 días (biotoxicológico).....	41
12	Resultados promedios de la evaluación biológica. del bioensayo II 28 días (biotoxicológico).....	42

LISTA DE FIGURAS.

No. FIG.	DESCRIPCION	
1	Diagrama de flujo de la fabricacion de la..... harina de pescado.....	10
2	Representación grafica de un cocedor.....	11
3	Representación gráfica de un secador para..... elabora harina de pescado.....	11
4	Estructura de la mollerosina.....	17
5	Vista superior de la sala de bioensayos.....	75
6	Estructura de los acuarios.....	75
7	Sistema de recirculación del agua de la sala.... de bioensayos.....	76
8	Tasa de crecimiento de los bioensayos de ..... frescura.....	38
9	Consumo de alimento/camaron (frescura).....	38
10	Tasa de conversión alimenticia.....	39
11	Tasa de sobrevivencia (frescura).....	39
12	Tasa de crecimiento del bioensayo ..... biotoxicológico (14 días).....	43
13	Consumo de alimento/camaron (14 días).....	43
14	Tasa de conversión alimenticia (14 días).....	44
15	Tasa de mortalidad (14 diás).....	44
16	Tasa de crecimiento del bioensayo ..... biotoxicológico (28 días).....	45
17	Consumo de alimento/camaron (28 días).....	45
18	Tasa de conversión alimenticia (28 días).....	46
19	Tasa de mortalidad (28 diás).....	46

I.- INTRODUCCION

El cultivo de càmarón en México, es una actividad que está tomando un auge considerable, debido a la disponibilidad de áreas con óptimas características para el cultivo y al cambio reciente de la legislación de pesca, que ha permitido la inversión de la iniciativa privada en este rubro. Las estadísticas nacionales de producción de camarón por acuacultura indican un crecimiento gradual pero constante. En 1989 y 1993 4000 y 9000 toneladass de camarón cultivado, respectivamente (Rosenberry, 1989 y 1993).

La industria de alimentos balanceados para camarón es uno de los pilares fundamentales para el desarrollo de la acuacultura; debido a que el alimento representa del 50 al 60% del costo de producción, la detección y solución de los problemas que afectan esta industria, determinará en gran medida el grado de desarrollo de esta actividad acuícola en México.

La calidad de los ingredientes utilizados en la elaboración de alimentos balanceados es la principal limitante en la producción constante de alimentos eficientes (Akiyama et. al., 1990).

La harina de pescado es una fuente de proteína prácticamente indispensable en la formulación de alimentos balanceados para acuacultura por su valor nutricional; su disponibilidad y su calidad son factores importantes para la obtención de alimentos balanceados de buena calidad. En México, estos factores no son controlados, y la variabilidad en la calidad y disponibilidad de harinas de pescado se ha detectado como un problema grave en la industria de alimentos balanceados (Com. pers. Cruz-Suárez, 1993).

Esta limitante se ha tratado de reducir realizando investigaciones para evaluar los requerimientos de cada especie y tratando de encontrar substitutos proteicos más económicos. La pasta de soya es el substituto parcial con mayor éxito, ya que se usa como un insumo en proporciones iguales a la harina de

pescado (1 a 1) en muchas formulaciones comerciales, por su costo y su valor nutricional (Com. pers. Cruz-Suárez, 1993).. En fórmulas para aves, cerdos y rumiantes la soya ha logrado remplazar totalmente a la harina de pescado, disminuyendo en los últimos años el consumo en estos rubros (Chávez, 1991). Sin embargo ,la substitución de harina de pescado en alimentos acuícolas es parcial, y en cierta medida el porcentaje de inclusión de la soya o de otros substitutos va depender de la calidad de la harina de pescado remplazada o substituida y del nivel proteico del alimento formulado. Además, la inclusión de soya en altos niveles, modifica algunas características del alimento como su palatabilidad y su estabilidad en el agua.

La calidad de la harina de pescado puede variar ampliamente dependiendo de 5 factores (Pike y Hardy, 1992):

1.- Tipo de materia prima: especie, pescado entero o subproductos.
2.- Frescura de la materia prima.
3.- Temperatura de secado y tiempo de permanencia de la materia en el secador.
4.- Calidad de los lípidos.
5.- Calidad microbiológica.

Por lo tanto, es necesario realizar estudios que indiquen los problemas nutricionales y biotoxicológicos que podrían causar las harinas de pescado de diferente calidad en la producción animal en general , específicamente en la producción de camarón.

La calidad de harinas de pescado requeridas para otras especies, como aves, cerdos y salmónidos ya ha sido definida ; sin embargo, para camarón esta información aún no existe.

En el presente trabajo se pretende determinar la calidad de las harinas de pescado adecuada para la nutrición del camarón blanco en cultivo, estudiando el efecto de diferentes parámetros de la calidad nutricional y biotoxicológica de diferentes harinas de pescado como: el grado de frescura de la materia, el score

biotoxicológico de la harina y el contenido de mollerosina sintética.

Conociendo la sensibilidad del camarón a estos parámetros de calidad de las harinas de pescado, se podrá contribuir en el establecimiento de especificaciones que debe cumplir el producto para consumo de camarón y consecuentemente reducir los costos de producción y se podrá orientar a los productores de harinas para que mejoren sus procesos y establezcan un buen control de calidad del producto final, especialmente los dirigidos a la nutrición del camarón.

II.- ANTECEDENTES.

1. CULTIVO DEL CAMARON.

El cultivo moderno de camarón se originó en la década de los años 30's en Japón con **Penaeus japonicus** (Rosenberry, 1993). En nuestro país, la camaronicultura se inició en la Universidad de Sonora en 1970 con **Penaeus californiensis** y **P. stylirostris** (Orbe y Arias, 1987).

Actualmente alrededor de 50 países cultivan camarón. En 1993 se produjeron 609,000 tons.; el continente Americano produjo el 22% (132,000 tons) de la producción mundial, de las cuales, Ecuador produjo el 68% (90,000 tons, valuadas en 400 millones de dls.); Colombia, México y Honduras incrementaron su producción de 8000 a 9000 tons. La mayoría de las granjas en América son semiintensivas, y el 90% de la producción es de la especie **P. vannamei**. El 75% del camarón cultivado en América es vendido a Estados Unidos, aunque actualmente España y Francia ya representan un mercado importante (Rosenberry, 1993).

México cuenta con 140 granjas, de las cuales el 20% son de tipo extensivo, 75% semiintensivo y el 5% intensivas. El 80% de la producción es de la especie **P. vannamei**, el 15% de **P. stylirostris** y el resto de otras especies (Rosenberry, 1993).

El desarrollo de la acuicultura a nivel mundial tiende a realizarse a través de sistemas de explotación semiintesiva e intensiva, por lo cual se requiere del suministro de cantidades considerables de fertilizantes y alimentos. El área de la nutrición acuícola está comprometida con el suministro de nutrientes en dietas para peces o camarones, tanto de manera indirecta como directa (Tacon, 1989).

El alimento es uno de los principales insumos en la explotación de cualquier especie animal, ya que llega a representar del 50 al 60% del costo de producción (Almazán, 1991; Uriarte-Pérez, 1991). Como la proteína es uno de los nutrientes más costosos de cualquier alimento balanceado (Parsons, 1993), la productividad en la camaronicultura estará íntimamente ligada a la disponibilidad y al costo de la proteína (Cruz-Suárez, 1991). Esto se debe, principalmente, al hecho de que el camarón requiere alimentos con elevados contenidos de proteína, entre 30 y 60% (Tacon, 1989).

La harina de pescado se considera como la principal fuente de proteínas en alimentos balanceados para peces y crustáceos, ya que no se han encontrado otras fuentes de proteína que contengan las características nutricionales que puedan substituir totalmente a la harina de pescado (Chávez, 1991). El nivel de inclusión de harina de pescado en dietas comerciales para camarón es de 20 a 40% (Akiyama et. al., 1991); por lo tanto, la calidad y la disponibilidad de la harina de pescado son una limitante importante para obtener alimentos balanceados de buena calidad para este crustáceo.

2. HARINAS DE PESCADO.

2.1 HISTORIA.

La industria de harina y aceite de pescado empezó en el Norte de Europa a principios del siglo XIX, con procesamiento de Arenque. Se producía principalmente aceite para elaborar jabones, gliceroles y para el curtimiento de pieles; los residuos se usaban como fertilizantes. Posteriormente, se procesó para obtener harina de pescado para alimentación animal. En la década de los 30's la harina de pescado fue considerada como un importante ingrediente en alimento para pollos, fue reconocida como un suplemento de proteína animal y como una fuente de vitaminas, minerales y factores desconocidos de crecimiento. En la actualidad se sigue usando por las mismas razones y se conocen con más precisión sus componentes y su valor nutricional en la alimentación animal (Satnsby and Karrick, 1963; Martin and Flick, 1990).

En México, la producción de harina de pescado se inició en 1938, cuando se instaló en Pesquerías del Pacífico, S.A. la primera planta reductora de pescado, siendo la materia prima los desperdicios (vísceras y espinas) del proceso del enlatado del atún, sardina y macarela. Actualmente, se elabora principalmente de anchoveta entera y de desperdicios del enlatado de especies marinas. Las principales zonas productoras se encuentran en las costas de Baja California Sur y Norte y en el Edo. de Sonora. También se encuentran plantas reductoras en el Golfo de México, Costa sur del Pacífico y en el Golfo de California. Sin embargo, la producción nacional no ha sido suficiente para satisfacer la demanda y se ha tenido que importar del Perú, Chile, Ecuador y E.U. (Corrales, 1988).

La industria reductora a nivel mundial, ha crecido en forma importante en los últimos

años y este desarrollo se ve reflejado en la utilización de herramientas de la bioingeniería, ingeniería bioquímica, química y electrónica, como consecuencia de las exigencias del mercado y del mayor conocimiento de los parámetros de calidad necesarios para diversas aplicaciones y para el consumo de los productores (Cía. Pesquera San Pedro, 1991).

2.2 PRODUCCION MUNDIAL.

La pesca anual asciende alrededor de 90 millones de toneladas (Martin y Flick, 1990), de las cuales aproximadamente un tercio no es utilizado para consumo humano directo y puede considerarse como materia prima para subproductos de pesquería. Alrededor del 95% de estos subproductos es procesado a harina de pescado, debido a que es un concentrado estable, de alto contenido proteico, que puede ser transportado alrededor del mundo sin sufrir deterioro en circunstancias que el pescado mismo es altamente perecedero (Barlow y Windsor, 1984).

Casi cualquier pescado o marisco puede ser usado para elaborar harina de pescado. De la producción mundial de harina de pescado, el 90% es producida de especies de carne roja como anchoveta, capelina y sábalo, menos del 10% se produce a partir de pescado blanco como bacalao y merluza. El resto es producida a partir de ballenas y mariscos (Barlow y Windsor, 1984; Hardy y Masumoto, 1991).

2.3 PRODUCTORES.

Los principales productores de harina de pescado en el mundo son Perú, Chile, Noruega, Estados Unidos, Japón, Islandia, Dinamarca y Sudáfrica (Tabla No. 1). En algunos países la harina de pescado es elaborada a partir de pescado entero, mientras que en otros se elabora con los subproductos de pesquería. Los principales exportadores de harina de pescado en los últimos años han sido Chile, Perú y Estados Unidos. En aquellos países donde la acuacultura se ha desarrollado grandemente (como Noruega, Japón y Canadá), se necesita más harina de pescado de la que producen, por lo que tienen que importarla (Hardy and Masumoto, 1991).

La harina de pescado es clasificada en la mayoría de los países de acuerdo a su contenido de proteína, clasificándolas en seis categorías, cinco de las cuales son utilizadas para la alimentación animal terrestre y acuícola. Cuatro de ellas son consideradas harinas de

pescado de calidad especial. (Hardy y Masumoto, 1991).

Tabla No. 1.- Tipos de Harinas de Pescado Producidas en varios países.

PAIS	TIPO DE HARINA DE PESCADO
E.U.A.	Sábalo, la mayoría procesada con flama directa. En el sur se procesa con vapor/aire clasificada como premium.
Canadá.	Arenque, procesada con vapor/aire.
Perú.	Anchoveta. Llama directa y vapor/aire.
Sudáfrica.	Pilchard.
Noruega e Islandia.	Arenque y Capelina, procesada a bajas temperaturas (Norseamink y LT-94).
Chile.	Anchoveta y Macarela, llama directa y vapor aire.
Japón.	Sardina.

2.4. PROCESO. (Fig. 1)

La Harina de Pescado es producida por cocimiento, prensado, secado, y molienda del pescado en maquinarias destinadas para este propósito. Al procesar pescado blanco la etapa de prensado es omitida ya que no contiene aceite para extraer (Barlow y Windsor, 1984; Chávez, 1991).

2.4.1. COCCION. (Fig. 2).

El proceso de cocción se desarrolla en un cocedor, que consiste en un equipo cilíndrico, con un eje térmico y en forma de tornillo, que permite el avance de la carga; y una camisa térmica, que tiene, además de su función térmica, la de aislamiento. Los objetivos de la cocción son esterilizar, coagular la proteína y liberar los lípidos retenidos intra e intermuscularmente en la materia prima.

2.4.2. PRENSADO.

El objetivo de prensar es obtener una torta con una mínima cantidad de agua y lípidos, y un licor de prensa pobre en sólidos solubles e insolubles. Con una cocción óptima, la materia debe poder soportar la presión relativamente alta que requiere para

separar eficazmente el aceite.

El pescado cocido es transportado a través de un tubo perforado mientras es sometido a una presión creciente, mediante un eje cónico, dentro de un transportador de tornillo. Una mezcla de aceite y agua, y algunos sólidos, son exprimidos a través de las perforaciones y el sólido remanente, conocido como torta de prensa (press cake), sale del extremo de la prensa.

2.4.3. DECANTACION.

El licor de prensa (lípidos, agua y un mínimo de sólidos solubles e insolubles) se procesa en el decantador, que consta de centrífugas horizontales, para separar los sólidos insolubles. El objetivo final es lograr una torta rica en sólidos insolubles y un mínimo de agua, aceite y solubles. El licor obtenido deberá contener una mínima cantidad de insolubles.

2.4.4. CENTRIFUGACION.

El licor de decanter, rico en aceite, se procesa en centrífugas verticales, las cuales separan este producto del agua y de los sólidos insolubles. Así mismo, los sólidos insolubles arrastrados de los procesos anteriores, son eliminados en forma pulsante, mediante procesos programados de vaciado de acumulaciones en el interior de los equipos. De esta etapa se obtiene: aceite, agua de cola (compuesta por agua, sólidos solubles y un mínimo de aceite) y por otra parte, lodos de sólidos insolubles acompañados de agua, aceite y solubles. El aceite obtenido es purificado en centrífugas especiales y posteriormente deshidratado.

2.4.5. CONCENTRACION.

El agua de cola debe ser concentrada a fin de eliminar el agua que la acompaña y recuperar los sólidos, que corresponden casi en su totalidad a proteínas solubles.

La deshidratación del agua de cola se obtiene mediante la evaporación del agua por tratamientos térmicos, mediante un evaporador convencional o de película descendente. En el primero, el líquido se arrasta por los tubos y por ende es sometido a temperaturas más elevadas. En el segundo, el líquido se arrastra mediante una película perimetral en los tubos y se somete a menores temperaturas. El costo de operación de este evaporador es más conveniente que el tradicional.

2.4.6. SECADO. (Fig. 3).

Consiste en deshidratar las tortas de prensa, de decanter y los solubles concentrados, mezclados y homogenizados previamente. La principal razón de secar es reducir la humedad del material no acuoso, para evitar el crecimiento de microorganismos.

Existen dos tipos básicos de secadores: El directo y el indirecto.

- El secador directo consiste en tambores rotatorios con diversos sistemas de avance de carga. El calor es transferido por contacto directo entre la masa húmeda y aire caliente. El vapor líquido es transportado por el aire caliente, que puede alcanzar temperaturas hasta de 500°C. La harina no alcanza la temperatura del aire caliente debido a que, la rápida evaporación del agua de la superficie de cada partícula causa un enfriamiento, normalmente el producto mantiene una temperatura de 80 a 95°C.

- El secador indirecto consiste en un cilindro con chaqueta de vapor o en un cilindro que contiene discos térmicos con vapor, los cuales también mezclan la harina. En los secadores indirectos el calor es transferido a la masa húmeda a través de una pared de retención. El vapor líquido es removido independientemente del medio de calentamiento. La proporción del secado depende del contacto del material húmedo con la fuente caliente.

2.4.7. MOLIENDA.

El material procedente de los secadores posee un tamaño de partícula muy variado, afectando su composición. El objeto de la molienda consiste en producir un polvo homogéneo, exento de sustancias extrañas, con buen aspecto, que pueda pesarse, ensacarse y transportarse. El producto usualmente se muele en molinos de martillos. La molturación se produce por el choque violento de los martillos que ruedan junto con la harina, que una vez desmenuzada, sale del molino atravesando una placa perforada. El molino dispone de placas con perforaciones de varios tamaños, para producir el tamaño de partícula que se requiera.

Antes de la molienda, el producto se criba por vibración y se somete a un campo magnético para eliminar sustancias extrañas como maderas, clavos, anzuelos, etc.

2.4.8. ADICION DE ANTIOXIDANTE.

Las grasas de la harina de pescado se estabilizan mediante la adición de antioxidante, inmediatamente después de la fabricación. Los antioxidantes típicamente utilizados son BHT y Etoxiquina. La concentración del antioxidante decrece con el tiempo

de almacenamiento. Dicha disminución, es acelerada al principio y luego paulatina; su concentración disminuye casi a la mitad en las primeras 60 hrs.

La descripción del proceso fue tomada de Stansby y Karrick, 1963; Barlow y Windsor, 1984; Martin y Flick, 1990; Cía. Pesquera San Pedro, 1991.

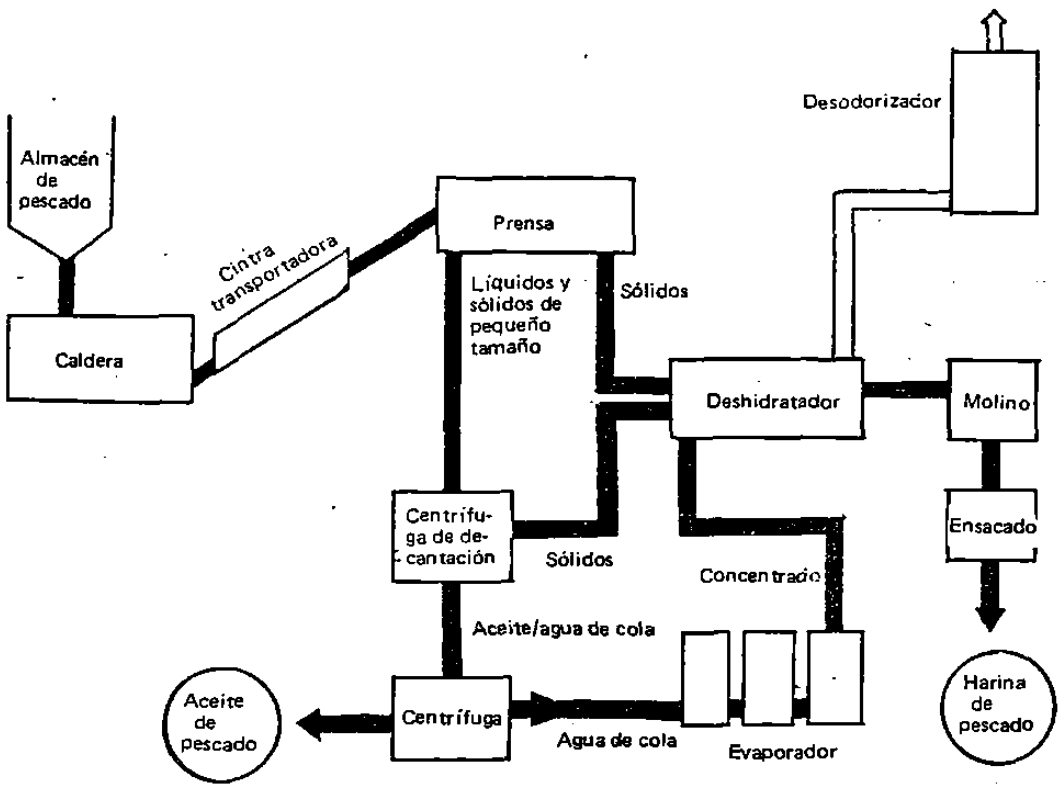


Figura No. 1. Diagrama de Flujo de la elaboración de la harina de pescado.

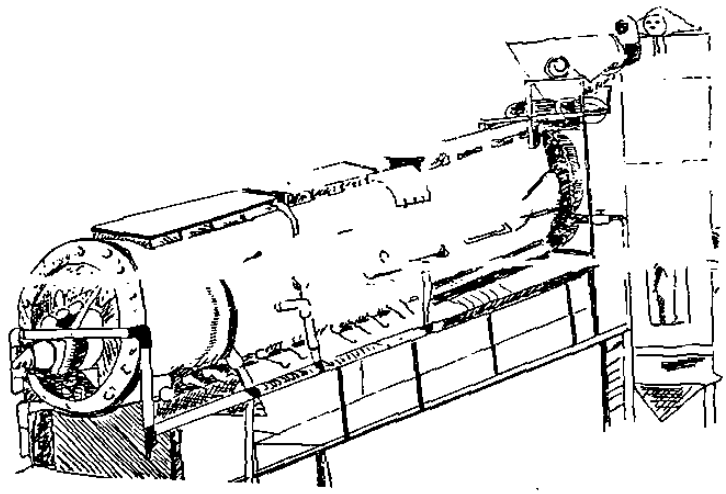


Figura No. 2. Esquema de un cocedor típico usado en la fabricación de harina de pescado.

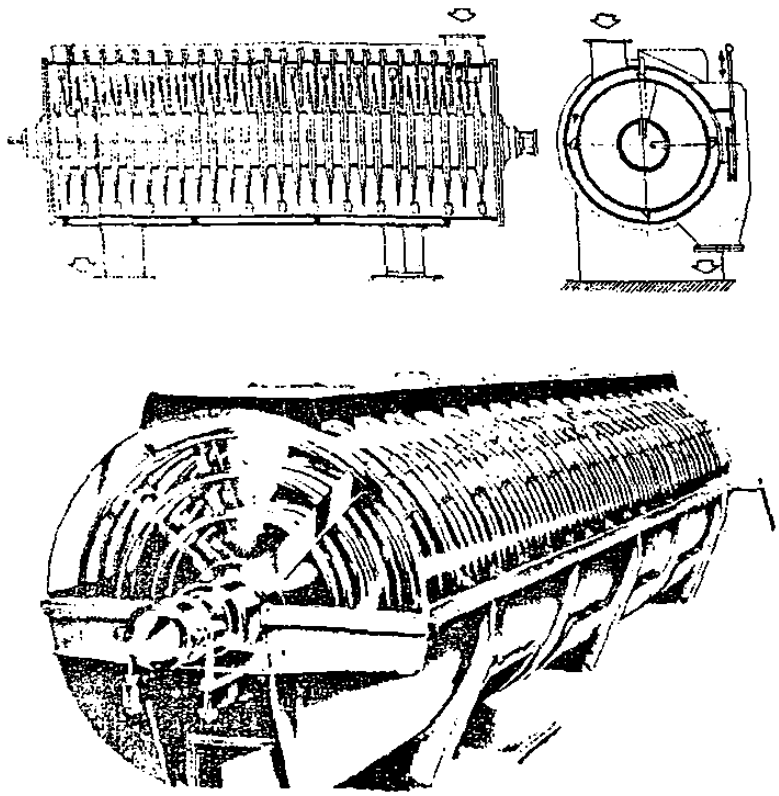


Figura 3. Esquema de secadores utilizados en la elaboración de harina de pescado.

2.5. VALOR NUTRICIONAL DE LA HARINA DE PESCADO.

La harina de pescado es una fuente de proteína, energía, ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas (Barlow y Windsor, 1984) y representa una de las fuentes nutritivas más importantes en la alimentación de aves, cerdos, peces y crustáceos (Castro, 1990).

La proteína en la harina de pescado tiene un alto valor biológico, ya que es rica en aminoácidos esenciales, particularmente lisina y aminoácidos sulfurados. La composición de la grasa en la harina de pescado difiere de la mayoría de los aceites vegetales por contener altos niveles de ácidos grasos de cadena larga (C20 y mayores) poliinsaturados que en su mayoría pertenecen a la familia de los ácidos linolénicos (W_3) (Castro, 1990; Pike et. al. 1990).

Aporta además, selenio, calcio y fósforo, este último se encuentra completamente disponible. Por otro lado, también es una buena fuente de colina. Además, varios autores reportan que contiene factores desconocidos de crecimiento (Barlow y Windsor, 1984; Castro, 1990; Akiyama et. al., 1991; Hardy and Masumoto, 1991).

En general, las harinas de pescado de buena calidad están libres de toxinas tales como ureasas, antitripsina, tioglucósidos, entre otras, que generalmente se presentan en fuentes proteicas de origen vegetal (Castro, 1990).

El valor nutricional de las harinas de pescado está determinado por cinco factores principales concernientes al tipo de materia prima utilizada y a parámetros de procesamiento (Pike y Hardy, 1992).

2.6. PARAMETROS DE CALIDAD Y ESPECIFICACIONES RECOMENDADAS PARA SALMONIDOS.

2.6.1. GRADO DE FRESCURA DE LA MATERIA PRIMA.

El grado de frescura de la materia prima, juega un papel muy importante en la calidad de la harina. Por esta razón, es importante tener presente el grado de deterioro que se produce en el pescado durante el período de almacenamiento previo a su procesamiento.

Este proceso de deterioro se verifica a través de 3 mecanismos:

- Acción bacteriana: En este caso el deterioro se produce como resultado de la actividad enzimática de las bacterias presentes y trae como consecuencia la formación de histamina, cadaverina, putresina, ac. orgánicos, etc.
- Autólisis: Se genera por la acción de las enzimas propias del tejido del pescado. Hidrolizan las proteínas de alto peso molecular proporcionando los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano.
- Oxidación: Se produce en la fracción grasa , generándose peróxidos, hidroperóxidos, aldehídos, cetonas, etc. (Castro, 1990; Pike, et. al, 1990; Zaldivar, 1992).

La velocidad a la cual el pescado se descompone depende de varios factores como la especie, el tiempo de almacenamiento y temperatura. El pescado se deteriora más rápidamente a altas temperaturas y cuando el intestino del pez se encuentra lleno al momento de su captura.

Para determinar el grado de frescura de la materia prima, se recomienda medir el contenido de nitrógeno volátil total (TVN). Esta prueba determina el contenido de amonio, mono y trimetil aminas principalmente y trazas de dimetilaminas. El principio de la determinación es por precipitación de proteína con ácido tricloro acético y determinación de nitrógeno amoniacal por el método Kjeldahl. Este indicador es usado por los principales países productores de harina de pescado como son Chile, Perú, Noruega, etc. (Castro, 1990; Pike y Hardy, 1992; Zaldivar, 1992).

En Noruega, es obligatorio medir el TVN de la materia prima en las harinas de pescado denominadas LT-94 y Norseamink, harinas especiales para la alimentación acuícola. Su TVN no debe superar valores de 50 y 90 mg N/100g de muestra, respectivamente (Castro, 1990; Pike, et. al. 1990).

Experimentos realizados por diversos investigadores han demostrado que la frescura de la materia prima de la harina de pescado puede afectar la ganacia diaria de peso, consumo de alimento y eficiencia alimenticia de los cerdos de iniciación y de engorda y salmónidos, cunado los valores de TVN son mayores a 50, 80 y 90 mg N/100g de muestra, respectivamente (Watanabe et. al., 1987; Castro, 1990; Pike, et. al, 1990; Hughes, 1991 visto en Pike y Hardy, 1992).

La pérdida de frescura de la materia prima, además de disminuir el valor nutricional del producto final, repercute sobre el proceso, tornándolo más difícil y menos eficiente:

Para diminuir la pérdida de frescura de la materia prima desde el momento de la captura hasta su proceso, se deben evitar los tiempos prolongados entre la pesca y la descarga en la planta. Es recomendable además, mantener el pescado en hielo durante este período y no mezclar productos frescos con añejos. Los pozos de recepción o de almacenamiento de la materia prima de las plantas reductoras, deben estar limpios, techados y se debe procurar no almacenar por períodos largos para evitar generar grandes cantidades de agua de sangre. En caso de que se forme es necesario separarla rápidamente de la materia prima, ya que puede ser un medio de cultivo para la formación de aminas biogénicas. (Zaldivar, 1992).

2.6.2.1. AMINAS BIOGENICAS.

Las aminas biogénicas son productos químicos orgánicos provenientes de la degradación enzimática, por la acción de la amino-descarboxilasa que cataliza la transformación de los aminoácios en aminas biogénicas. Cuando se encuentran en altas concentraciones pueden tener efectos tóxicos o antinutricionales. (Poole, 1993; Huisman, et.al., 1992). Las aminas biogénicas y sus aminoácidos precursores comúnmente encontradas en la harina de pescado son:

AMINOACIDO	AMINA
Arginina	Putresina y Agmatina.
Histidina	Histamina.
Lisina	Cadaverina.
Tirosina	Tiramina.

El contenido de aminas biogénicas también se incrementa cuando los solubles son incorporados a la harina al momento del procesamiento, al no efectuarse un estricto control de calidad (Veciana, 1990; Pike and Hardy, 1992; Zaldivar, 1992).

Las aminas biogénicas por ser termoestables, son útiles indicadores de la calidad de la materia prima y del producto terminado. El contenido de aminas biogénicas refleja el grado de frescura de la materia prima con la cual fue elaborada la harina y del estado de

frescura del concentrado que se incorporó durante el proceso (Galleguilos, 1993).

Actualmente la determinación de aminas biogénicas se efectúa mediante técnicas de cromatografía en columna líquida de alta presión (HPLC).

En los pollos, al consumir histamina en altas concentraciones se deprime el crecimiento y produce muertes ocasionales. El modo de acción es sobre las glándulas proventriculares causando un aumento en la secreción gástrica y en la acidez de estas secreciones. Lo cual, provoca erosión generalizada de la mucosa de la molleja (Harry et. al., 1975; Poole, 1993). El crecimiento de los salmónidos también es afectado por el consumo de altas concentraciones de histamina (Watanabe et. al., 1987). Se recomienda que las harinas de pescado utilizadas para la alimentación de salmónidos no contengan más de 500 ppm de histamina y no más de 1000 ppm para pollos (Castro, 1990; Pike et. al, 1990).

En cuanto a los efectos tóxicos de otras aminas biogénicas, se conoce muy poco. Se sabe que la putresina y la cadaverina potencializan el efecto de la histamina. La tiramina estimula la actividad cardíaca, y por lo tanto, aumenta la presión sanguínea, disminuye la circulación en el tracto intestinal y el consumo voluntario de alimento . Además de los efectos tóxicos que presentan las aminas, disminuyen por otro lado, el valor biológico de la proteína, en este caso en particular de la harina de pescado (Veciana, 1990; Galleguillos, 1993; Poole, 1993).

Para evitar la formación de altas concentraciones de aminas biogénicas se debe tener un control en las siguientes etapas:

- Durante el proceso de captura y entrega a plantas. Se deben evitar los tiempos prolongados entre la captura y la llegada a la planta, ya que el pescado inicia su proceso de descomposición al momento de su captura.
- Durante la etapa de almacenamiento de la materia prima en la planta.
- En la manipulación y utilización del agua de sangre, ya que ésta puede ser un importante caldo de cultivo en la formación de aminas biogénicas, dado su contenido de agua, sal, proteínas y grasas. La acción deteriorante del agua de sangre se evita con una adecuada manipulación del producto en las etapas de transporte y almacenamiento y disminuyendo la temperatura en ambas etapas.
- Durante la manipulación y procesamiento del concentrado de agua de cola. Este material

puede formar aminas biogénicas, por lo que se recomienda que los almacenamientos intermedios, entre la etapa de prensado y concentración, sean los más cortos posibles, dado que en estas operaciones se dan las condiciones ideales para la descomposición de las partes protéicas y lipídicas (Zaldivar, 1992; Galleguillos, 1993).

2.6.3. CALIDAD BIOTOXICOLOGICA.

La temperatura y el tiempo de residencia de la materia prima en el secador, pueden afectar la calidad nutricional y biotoxicológica de las harinas de pescado (Osuna, 1984). Este proceso debe ser cuidadosamente controlado en la planta con el fin de prevenir las graves consecuencias que causa el sobrecalentamiento, ya que incidirá en una digestión insuficiente, una menor asimilación de lisina, en la destrucción de aminoácidos, vitaminas y compuestos grasos sensibles al calor y puede ayudar a formar sustancias tóxicas como la mollerosina (Osuna, 1984; Castro, 1990, Rodríguez, 1990; Chávez, 1991).

2.6.3.1. MOLLEROSINA.

En el año de 1993, Okazaki y cols. identificaron la mollerosina como el tóxico presente en harinas de pescado sobrecalentadas, que causa el síndrome del vómito negro aviar o erosión de la molleja.

El término mollerosina se deriva de [2-amino-9-(4-imidazol)-7 ácido azanonanoico]; relaciona a la molleja (moll) con erosiones (eros) (Osuna, 1984). Se forma al reaccionar por sobrecalentamiento la L-histidina o la histamina con el radical épsilon amino de la lisina. La histidina forma parte de los aminoácidos solubles del pescado y se puede encontrar en el extracto acuoso (Osuna, 1989). Por lo tanto, la toxina se produce en harinas de pescado ricas en histidina libre y calentadas a temperaturas elevadas por varias horas (135°C x 3 horas ó 160°C x 1 hora). Todo parece indicar que la histidina es el precursor de la síntesis de la mollerosina al sobrecalentarse la harina de pescado (Okazaki et. al., 1983; Osuna, 1984; González, 1985). (Fig. 4).

No todos los peces contienen histidina en su componente de aminoácidos solubles, solo se encuentra en los pescados de carne roja, como anchoveta, macarela, jurel, sardina, etc. Si la harina de pescado es deficiente en histidina, el sobrecalentamiento no producirá efectos tóxicos. (Osuna, 1985; Masumara, et. al., 1985; Castro, 1987; Rodríguez, 1990;

Chávez, 1991).

Aún cuando el precursor de la mollerosina es soluble en agua, se ha demostrado que el material tóxico presente en la harina de pescado es insoluble en agua, una vez formado el compuesto. (Osuna, 1985).

Según Osuna (1984), existen 3 factores predominantes en la formación de la mollerosina durante el procesamiento de la harina de pescado. Estos son: temperatura de secado, tiempo de calentamiento y frescura de la materia prima.

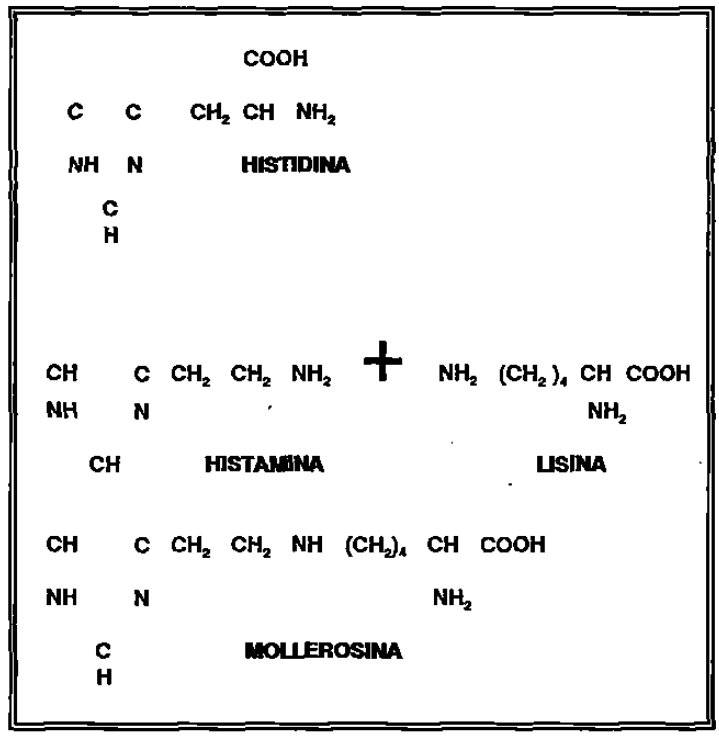


Figura 4. Posible reacción entre la histidina o la histamina con la lisina en la formación de mollerosina por calentamiento de la harina de pescado

El síndrome del vómito negro es un problema mundial que afecta a la industria avícola. Se han reportado casos de vómito negro en Alemania, Australia, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Estados Unidos, Japón, México, Perú, Venezuela, Yugoslavia y Reino Unido (Pokniak et. al, 1978 citado por Rodríguez, 1990). En México y Perú se conoce el problema desde 1968 (Morales et. al, 1991).

El vómito negro aviar se relaciona principalmente con la presencia de erosiones y ulceraciones severas del revestimiento de la molleja, también se presenta distención y acidez del proventrículo y del buche. Esto provoca una disminución en la tasa de crecimiento, en la eficiencia alimenticia y puede aumentar considerablemente la mortalidad de las aves (Osuna, 1984; Castro, 1987; Rodríguez, 1990: Morales et. al., 1991). La erosión de la molleja es el resultado del exceso de ácido en el proventrículo. La regurgitación de bilis desde el ducto biliar hacia la molleja tiende a neutralizar el ácido; por lo tanto, cualquier interferencia en la producción de bilis hacia el intestino puede producir erosión de la molleja. (Osuna, 1989; Rodríguez, 1990; Morales et. al., 1991).

La mollerosina se absorbe en el duodeno y transportada en el torrente circulatorio pudiendo detectarse en el plasma y actuando posteriormente en los receptores Histamínicos H_2 , principalmente del proventrículo causando así, un aumento de la secreción ácida (Ito et. al., 1988).

Masumara et. al. (1985) añadieron 6.25 mg de mollerosina sintética/kilo de dieta y con ellas alimentaron a pollos **ad libitum** durante 7 días, al final observaron severas erosiones en la molleja. También estudiaron el efecto de diferentes niveles de mollerosina e histamina sobre el contenido total de ácido gástrico en los pollos, observando que éste aumenta con la mollerosina e histamina. Sin embargo, observaron que la mollerosina es 10 veces más potente para inducir la secreción gástrica en los pollos que la histamina y 300 veces más potente para causar erosión en la molleja.

La toxicidad letal de la mollerosina por vía oral, provoca una mortalidad creciente del 20 al 50% cuando se dosifica directamente en el buche de pollos de engorda; por otro lado, los estudios de toxicidad letal realizados a través de concentraciones crecientes de mollerosina en la dieta (0.1 a 18ppm) indican que los pollos de engorda no mueren al consumir menos de 2ppm de mollerosina, aunque si se presentan lesiones en la molleja. Por lo cual, se insiste que la concentración máxima permisible de mollerosina en las dietas para pollos es de 0.3ppm para no afectar la productividad. (Masumara et. al., 1985; Osuna, 1989).

El efecto de la mollerosina se disminuye al inyectar intramuscularmente cimetidina, un antagonista de los receptores histamínicos H_2. La cimetidina también previene la erosión de la molleja, causada por la mollerosina (Masumara et. al., 1985; Ito et. al, 1988). El efecto de la mollerosina no se disminuye al inyectar pirilamina, un antagonista de los receptores

H_1, indicando que la mollerosina es un agonista muy fuerte de los receptores histamínicos H_2. Además, la mollerosina muestra más afinidad por la superficie de las células receptoras de la histamina, que la histamina misma, lo cual explica, en parte, la potente actividad de la mollerosina para inducir secreción gástrica y causar erosión en la molleja (Ito et. al, 1988).

La mollerosina se puede determinar por cromatografía líquida (HPLC): sin embargo es un prueba difícil y costosa. Por esta razón, Castro en 1987, desarrolló una prueba biotoxicológica que identifica verásmente las harinas causantes de vómito negro aviar. Esta prueba biotoxicológica consiste en bioensayos con pollitos de 1 día de edad que se alimentan por tres días con una dieta basal sin harina de pescado y posteriormente se alimentan durante una semana con dietas que incluyen niveles altos (40%) de la harina de pescado a evaluar. Terminado este período de alimentación, los pollos sobrevivientes se sacrifican y se evalúan las lesiones en la molleja. El grado de severidad de estas lesiones permite clasificar la calidad biotoxicológica de las harinas de pescado en 4 grados: normal, leve, mediana y grave y se les dá un valor o score biotoxicológico:

- Harinas de pescado de toxicidad normal o nula: Son aquéllas que no causan ningún daño o lesión en la molleja. Score 0 - 0.5.
- Harinas de pescado de toxicidad leve: Causan lesiones histopatológicas muy leves en la molleja, caracterizadas por pequeñas úlceras, hemorragias y necrosis o bien enrojecimiento de las corrugaciones. El mercado sudafricano considera este nivel de biotoxicidad como el límite máximo aceptable para las harinas que importa. Score >0.5 - 1.0.
- Harinas de pescado de toxicidad media: Causan evidentes signos de lesiones histopatológicas en extensas áreas de la molleja. Score >1.0 - 1.5.
- Harinas de pescado de toxicidad grave: Causan severas y mortales lesiones histopatológicas de la molleja. Pueden incluso perforar la molleja y causar los típicos casos de vómito negro aviar. Su uso no es recomendable en alimentación animal. Score > 1.5.

En salmónidos hay evidencias que la L-Mollerosina puede provocar alteraciones en la mucosa intestinal y atrofia de la capa muscular del estómago, reduciendo en consecuencia el crecimiento. Y se recomienda un score biotoxicológico <0.8. Se ignora su efecto en crustáceos. (Castro, 1987; Chávez, 1991).

Cabe señalar, que la mollerosina no es el único factor, aunque sí el más importante, para causar erosión en la molleja. La erosión de la molleja se ha relacionado con el

consumo de altos niveles de cobre en la dieta, ácidos grasos poliinsaturados, dietas deficientes en vitamina K y en metionina, (Galleguillos, 1993), altos contenidos de histamina (Harry et. al., 1975) y pérdida del grado de frescura de la materia prima (Osuna, 1984).

Para verificar si la harina de pescado fue sobrecalentada se recomienda determinar:

- Disponibilidad de lisina : Esta determinación mide el grado de deterioro térmico sufrido por las proteínas. La lisina tiene un grupo amino libre y reactivo que debe permanecer como tal, pues de lo contrario, aunque puede evaluarse químicamente, no estará biológicamente disponible. Durante el procesamiento de la harina de pescado, el grupo amino libre de la lisina puede reaccionar con moléculas no proteicas para formar compuestos, los cuales, pueden ser tóxicos y además, la lisina ya no estará disponible para el animal (Uriarte, 1991). La disponibilidad de la lisina se puede determinar mediante el método de Carpenter (Castro, 1990; Cía. Pesquera, San Pedro, 1991).

- Digestibilidad de la Proteína:

No basta que la proteína de la harina de pescado se encuentre en altos porcentajes, sino que debe ser digerible para que pueda ser aprovechada por el organismo que la consuma. (Cía. Pesquera San Pedro, 1991). El método de digestibilidad in vitro con pepsina es un buen indicador para evaluar el proceso de secado de la harina de pescado, y diferenciar entre una harina de mala calidad y una buena, pero no diferencia una buena de una excelente. Actualmente, se usa como indicador, la digestibilidad in vivo con mink y truchas y se están tratando de establecer nuevas determinaciones in vitro que sean más sensibles (Pike, 1988 visto en Castro, 1990; Pike and Hardy, 1992; Com. pers. Cruz-Suárez, 1993).

Una digestibilidad deficiente también ocasionará problemas importantes de contaminación al ser eliminados al medio ambiente excretas con alto contenido de nitrógeno y fósforo (Cía. Pesquera San Pedro, 1992).

2.7. NORMA OFICIAL MEXICANA.

La Norma Oficial Mexicana (SECOFI) NOM-Y-13-1990. Harina de pescado para consumo animal, clasifica las harinas en 4 calidades A, B, C y D principalmente en función de la proteína. Los únicos parámetros de calidad que considera son la composición

bromatológica, la digestibilidad *in vitro* con pepsina y la calidad microbiológica, No considera el contenido de bases volátiles totales (TVN) de la materia prima, contenido de histamina en la harina de pescado y el score biotoxicológico.

III.- OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Proponer estándares de calidad con respecto a la frescura de la materia prima, score biotoxicológico y contenido de mollerosina en harinas de pescado recomendadas para la nutrición del camarón blanco (**Penaeus vannamei**).

OBJETIVOS PARTICULARES.

1.- Determinar el efecto de la frescura de la materia prima sobre la calidad nutricional de las harinas de pescado utilizadas en alimentos balanceados para camarón.

2.- Evaluar los posibles efectos toxicológicos de harinas de pescado con diferente calidad biotoxicológica (determinada en pollos).

3.- Evaluar los posibles efectos toxicológicos del tóxico DL-Mollerosina en nutrición del camarón.

IV.- HIPOTESIS.

El crecimiento de los camarones cultivados depende, en gran medida, de la calidad de las harinas de pescado con las que son alimentados. La frescura de la materia prima de las harinas, el score biotoxicológico y la mollerosina pueden afectar el crecimiento, la tasa de conversión alimenticia y la sobrevivencia de dichos organismos.

V.- MATERIAL Y METODOS.

1.- EFECTO DEL GRADO DE FRESCURA.

1.1. HARINAS DE PESCADO EXPERIMENTALES.

Para determinar si la frescura de la materia prima afecta la calidad nutricional de las harinas de pescado, se evaluaron (en dos bioensayos) 3 harinas de pescado provenientes de Sudamérica, elaboradas a base de anchoveta y procesadas a baja temperatura, variando unicamente el grado de frescura de la materia prima en cada una de ellas; materia prima fresca (HPF) elaborada 12 horas después de la captura, frescura media (HPFM), elaborada después de las 25 horas de captura y descompuesta (HPD) procesada 36 horas después de la captura (Tabla No. 2). Las harinas fueron proporcionadas y analizadas por el Dr. Ian H. Pike, director de nutrición de la Asociación Internacional de Productores de Harina y Aceite de Pescado (IFOMA, por sus siglas en inglés), Londres, U.K.

Tabla No. 2.- COMPOSICION DE LAS HARINAS EXPERIMENTALES.

PARAMETRO Base húmeda	HPF	HPMF	HPD
Humedad (%)	7.8	9.3	9.7
Ceniza (%)	11.3	11.4	10.7
Grasa cruda (%)	8.3	7.8	9.8
Proteína cruda (%)	66.9	64.8	63.0
Histamina (ppm)	28.0	1850.0	4701.0
Cadaverina (ppm)	51.0	803.0	1599.0
Putresina (ppm)	35.0	446.0	916.0
Tiramina (ppm)	0.0	285.0	657.0
TVN de la MP (mg N/100g muestra)	14.0	30.0	50.0
Digestibilidad en Mink (%)	91.4	89.7	89.8

HPF: Harina de pescado fresca.
HPFM: Harina de pescado de frescura media.
HPP: Harina de pescado descompuesta.
TVN: Contenido de bases volátiles totales.
MP: Materia prima.

La composición bromatológica, el contenido de bases volátiles totales y aminas biogénicas y el porciento de digestibilidad en mink, fueron analizadas mediante los métodos propuestos por la IAFMM (1985 a y b) y la A. O. A. C. (1990).

1.2. DIETAS EXPERIMENTALES.

1.2.1. FORMULACION Y COMPOSICION DE LAS DIETAS.

Con estas harinas se formularon 3 dietas experimentales (Tabla No. 3). Las formulaciones se realizaron por medio de un programa computacional Mixit-2, en función de la composición bromatológica de las harinas de pescado experimentales y de los demás ingredientes, para obtener dietas isoenergéticas, cumpliendo con los requerimientos nutricionales para camarón publicados por Akiyam et. al. (1991).

Tabla No. 3.- COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

INGREDIENTE (%)	DF	DMF	DD
H.P. Fresca	30.0	-----	-----
H.P. moderadamente fresca	-----	30.0	-----
H.P. Descompuesta	-----	-----	30.0
H. de Camarón	6.0	6.0	6.0
Pasta de Soya	11.0	13.0	4.0
H. de Trigo	38.0	36.0	34.0
Gluten de Maiz	8.0	8.0	8.0
Lecitina de Soya	2.8	2.8	2.8
Aceite de Pescado	1.7	1.7	1.7
Mezcla vitamínica y mineral	1.0	1.0	1.0
Aglutinante	0.6	0.6	0.6

*DF: Dieta a base de H.P. fresca.
DFM: Dieta a base de H.P. frescura media.
DD: Dieta a base de H.P. descompuesta.
Mezcla vitamínica y mineral: Potasio 250mg; Vitamina C 200mg; Riboflaviba 100mg;Calcio 10mg;Vit.E 100mg; Vit. B_{12} 100mg; Zinc 100mg; Biotina 50mg; Manganeso 0.5mg; Cloro 50mg; Sodio25mg; Vit.A 25mg;Tiamina 100mg; Niacina 100mg; Vit. D 50mg; Vit. B_6 100mg; Magnesio 10mg; Cobre 25mg; Ac. pantoténico100mg y Selenio 50mg. excipiente c.b.p. 12g de carbohidratos.

Las harinas de pescado fueron incluídas a 30%. Se varió el nivel de inclusión de la pasta de soya y la harina de trigo para obtener dietas isoenergéticas. El nivel de inclusión del resto de los ingredientes se mantuvo constante en las 3 dietas

experimentales. El aporte de nutrientes de cada ingrediente se presentan en el anexo I.

1.2.2. PREPARACION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

Todos los ingredientes se molieron finamente utilizando un molino de café Moulinex. Se pesaron de acuerdo a la formulación y se mezclaron en una batidora Kitchen Aid de 5 litros. Primeramente se mezclaron la harinas de pescado, soya, trigo, camarón y gluten de maíz. Posteriormente se tomó una porción de esta mezcla para adicionar las vitaminas; el resto de la mezcla de harinas se fue añadiendo lentamente con el fín de homogenizar la mezcla global. El aceite de pescado y la lecitina de soya se agregaron después de mezclar las harinas. Finalmente, se añadieron 275 ml de agua. La mezcla de ingredientes se pasó por un molino de carne para obtener los pellets (1mm de diámetro), los cuales se secaron en una estufa eléctrica a 50° C durante 15 horas y se conservaron en refrigeración dentro de recipientes herméticos.

1.2.3. ANALISIS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

Cada una de las dietas fue analizada en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas mediante el método de análisis proximal descrito por la A.O.A.C. (1990), en el cual se determinan los siguientes parámetros: humedad, ceniza, extracto etéreo, fibra cruda, proteína cruda y extracto libre de nitrógeno.

Se realizaron pruebas de estabilidad del alimento en el agua o de lixiviación en cada una de las dietas mediante el método Aquacop (1978) para determinar la pérdida de materia seca en agua marina a 35‰ durante una hora.

1.3. BIOENSAYOS.

1.3.1. DESCRIPCION DE LA SALA DE BIOENSAYOS.

Los bioensayos se llevaron a cabo en la sala de bioensayos del programa maricultura de la Facultad de Ciencias Biológicas, la cual consta de 48 tanques de fibra de vidrio de 60 x 30 x 35 cm, con un volumen de 60 litros, cada acuario posee un doble fondo de 3 mm de diámetro cubierto con tela de gasa. Los tanques están equipados con un sistema de "airlift" para fomentar la circulación interna entre el doble fondo y el resto del acuario. El recambio de agua fue de 560 ml/min. en cada acuario.

La sala cuenta también con 3 tanques de 500 l de capacidad para preengorda y con 5 tanques de 1100 l, de los cuales, dos son reservorios que abastecen de agua a los acuarios por gravedad y el resto reciben el agua de recambio. Cada tanque reservorio cuenta con un contactor biológico rotatorio. Además, el sistema está equipado con 2 filtros de cartucho, 2 filtros de carbón activado y 2 espumadores. Para mantener la temperatura deseada se cuenta con un sistema cerrado de agua dulce e intercambiador de calor en los tanques reservorios. (Ver anexo II, figs. 5, 6 y 7).

Diariamente se registra la temperatura con un termómetro,la salinidad mediante un salinómetro y el pH con un pHmetro. Semanalmente se determina el contenido de amonio, nitratos y nitritos con estuche de diagnóstico rápido (Sea test). Quincenalmente se prepararan 500 l de agua marina sintética Fritz y se renueva el carbón activado.

1.3.2. CARACTERISTICAS DE LOS CAMARONES.

Para realizar los bioensayos se utilizaron postlarvas de **Penaeus vannamei** con un peso promedio de 900 mg y 1.5g que se obtuvieron del Laboratorio de

Producción de Postlarvas de la Universidad Autónoma de Tamaulipas, las cuales fueron transportadas a la sala de bioensayos de la Facultad de Ciencias Biológicas, en bolsas de plástico con agua del tanque de colecta y se colocaron en hieleras con un poco de hielo para bajar el metabolismo de los camarones. Se aclimataron en los tanques de preengorda de la sala de bioensayos.

1.3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se realizaron dos bioensayos. En el primero se colocaron 15 camarones por acuario con un peso promedio de 900 mg y se alimentaron **ad libitum** 2 veces al día (1/3 de la ración en la mañana y el resto por la tarde) con las 3 dietas experimentales durante 14 días.

En el segundo bioensayo se colocaron 8 camarones por acuario con un peso promedio de 1.5g y se alimentaron **ad libitum** con las dietas experimentales durante 28 días.

En ambos bioensayos cada tratamiento se corrió con 4 replicas.

Diariamente se registró la mortalidad y resto de alimento. Se sifoneó el fondo de los acuarios para eliminar heces y residuos de alimento.

1.4. EVALUACION BIOLOGICA.

Al final de ambos bioensayos se determinó la tasa de crecimiento (TC), consumo de alimento (CA), la tasa de conversión alimenticia (TCA) y sobrevivencia (S) de los ejemplares de cada tratamiento, mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Tasa de Crecimiento (TC)} = \frac{\text{peso final - peso inicial}}{\text{peso inicial (g)}} \times 100$$

$$\text{Tasa de Conversión Alimenticia} = \frac{\text{Alimento consumido}}{\text{Peso ganado}} \times 100$$

$$\text{Tasa de Sobrevivencia} = \frac{\text{No. final de animales}}{\text{No. inicial de animales}} \times 100$$

1.5. ANALISIS ESTADISTICO.

Para determinar si existieron diferencias significativas entre los tratamientos de los parámetros biológicos evaluados se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación de medias de Scheffe, por medio de computadora con el programa Statgraphics.

2.. EFECTO DEL SCORE BIOTOXICOLOGICO Y DEL TOXICO DL-MOLLEROSINA.

2.1. HARINAS DE PESCADO EXPERIMENTALES.

Para evaluar la calidad de las harinas de pescado de diferente score en la alimentación del camarón, se evaluaron 4 harinas de pescado de diferente score biotoxicológico (tabla No. 4). El score biotoxicológico de las harinas, fue evaluado por Emilio Castro de Fundación Chile en Santiago, Chile, mediante un bioensayo biotoxicológico en pollos (Castro, 1990).

Las Harinas fueron clasificadas de la siguiente manera:
Score 0.1: Normal o atóxica (HPN_a). Harina normal (a). Control.
Score 0.1: Normal o atóxica (HPN_b). Harina normal (b).
Score 1.1: Toxicidad media (HPM_a) y con alto contenido de histamina.
Score 1.4: Toxicidad media (HPM_b) y bajo contenido de histamina.

Estas harinas y el aceite de pescado fueron proporcionadas por Pesquera IQUIQUE-GUANAYE, de Santiago, Chile.

La calidad química de las harinas de pescado fue evaluada en Fundación Chile mediante, análisis bromatológicos (A.O.A.C. 1990), contenido de bases volátiles totales (TVN) en materia prima y producto final, contenido de aminas biogénicas, contenido de calcio, fósforo, sal, arena, ácidos grasos libres (IAFMM, 1985 a y b) y porciento de digestibilidad **in vitro** con pepsina (Torrey modificado). Se evaluó su calidad microbiológica determinando el contenido de Salmonella sp, hongos y levaduras (IAFMM, 1985 a y b).

TABLA No.4.- COMPOSICION DE LAS HARINAS DE PESCADO EXPERIMENTALES.

PARAMETRO	HPN(a)	HPN(b)	HPM(a)	HPM(b)
Score biotoxicológico	0.1	0.1	1.1	1.4
Mortalidad en pollos %	0.0	0.0	7.0	23.0
Materia prima	Jurel	Jurel	Anchoa	Jurel
Tipo de secado	vap/aire	vap/aire	llama	llama
Solubles [ ]	si	si	si	--
Agua sangre cocida	no	no	si	no
TVN. M.P.(mgN/100g)	19.2	14.2	50.0	--
TVN de H.P.(mgN/100g)	162.6	163.5	125.2	157.2
Histamina (ppm)	320.0	230.0	4840.0	120.0
Cadaverina (ppm)	720.0	850.0	4040.0	580.0
Putresina (ppm)	180.0	150.0	1760.0	160.0
Feniletilamina (ppm)	10.0	12.0	410.0	10.0
Tiramina (ppm)	n.d.	80.0	240.0	n.d
Humedad (%)	8.1	7.4	9.6	8.8
Ceniza (%)	14.6	17.3	17.3	14.8
Grasa (%)	7.2	7.5	7.1	6.6
Proteína (%)	68.7	67.1	64.0	67.8
Calcio (%)	3.7	4.5	3.7	3.2
Fósforo (%)	3.0	3.3	2.6	2.3
Sal (%)	1.7	2,2	3.8	2.6
Arena (%)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
Acidos grasos libres (%)	3.4	2.9	9.7	4.0
Digestibilidad (%) (Pepsina, Torrey Modificado)	97.1	97.7	96.3	96.2
Lisina disponible (%)	7.5	7.4	7.8	7.2
Salmonella en 25g	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Hongos y levaduras UFC/g	10.0	15.0	20.0	5.0

HPN(a) = Harina de Pescado Normal (a) CONTROL.
HPN(b) = Harina de Pescado Normal (b)
HPM(a) = Harina de Pescado de toxicidad media (a), alto contenido de histamina.
HPM(b) = Harina de Pescado de Toxicidad media (b), bajo contenido de histamina.
TVN = Basas volátiles totales.
M.P. = Materia prima.
H.P. = Harina de pescado.

2.2. ORIGEN DEL TOXICO DL-MOLLEROSINA.

La DL- mollerosina sintética fue comprada a el Dr. Lermonth del CISR (Division of Food Science and Technology. Food and Agricultural Chemicals Programme) en Sudáfrica. Fue enviada por correo en un vial de vidrio sellada al vacío. Se recibieron 25mg secados en rotovapor. Para disolverla se le añadió 1ml de agua (por indicación del proveedor) y la solución obtenida se aforó a 25 ml.

Posteriormente se tomaron 6 ml de la solución y se guardó en congelación. Los 19ml restantes se aforaron a 38ml y posteriormente se tomaron 2ml (para preparar la dieta con 1 mg de mollerosina); 6ml (3mg), 12ml (6mg) y 18ml (9mg)

2.3. DIETAS EXPERIMENTALES.

2.3.1. FORMULACION Y COMPOSICION DE LAS DIETAS.

Con las harinas de pescado experimentales se formularon 4 dietas. La dieta con HPN_a se usó como control; además con la HPN_a se prepararon otras 4 dietas a las cuales, se les añadieron diferentes concentraciones del tóxico DL-Mollerosina (1, 3, 6 y 9 mg/kg) (Tabla No. 5). Las formulaciones se realizaron por medio de un programa computacional Mixit-2+ en función de la composición bromatológica de las harinas de pescado experimentales para obtener dietas isoenergéticas.

TABLA No 5. COMPOSICION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

INGREDIENTE (%)	DNa	DNb	DMa	DMb	D1ppm	D3ppm	D6ppm	D9ppm
H. Pescado Normal (a)	30 .0	—	—	—	30.0	30.0	30.0	30.0
H. Pescado Normal (b)	—	30.0	—	—	—	—	—	—
H. Pescado Media (a)	—	—	30.0	—	—	—	—	—
H. Pescado Media (b)	—	—	—	30.0	—	—	—	—
Pasta de Soya 2	8.0	8.7	11.9	8.1	8.0	8.0	8.0	8.0
H. de Trigo 2	47.6	46.9	43.6	47.3	47.6	47.6	47.6	47.6
H. de Camarón 2	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Gluten de Trigo	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0
Lecitina de Soya 2	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
Aceite de Pescado 2	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Mezcla Vitamínica 2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mollerosina (mg)					1.0	3.0	6.0	9.0

DN: Dieta con harina de pescado de toxicidad normal[a]. Dieta control.
DL: Dieta con harina de pescado de toxicidad normal[b].
DM: Dieta con harina de pescado de toxicidad mediana[a].
DG: Dieta con harina de pescado de toxicidad mediana[b].
D1ppm, D3ppm, D6ppm y D9ppm. Dietas con harinas de pescado normal$_a$ y con diferentes concentraciones de mollerosina.
Mezcla vitamínica:Vit. A 6'800,00 UI; Vit. D3 3'320,00 UI; Vit. E 177,600 UI; Vit K 8.800g; Tiamina 66.400g; Riboflavina 44.400g; B_{12} 0.044g; Ac. Fólico 2.800g, Piridoxina 22.000g; Ac. Pantoténico 44.400g; Niacina 133.200g; Biotina 0.444g; Inositol 133.200g, antioxidante 2.672g , excipiente salvado de trigo c.b. p. 1 kilo.

Las Harinas de pescado se incluyeron al 30%. Se varió el nivel de inclusión de la pasta de soya y la harina de trigo para obtener dietas isoenergéticas. El nivel de inclusión del resto de los ingredientes que componen las dietas se mantuvo constante.

El aporte de nutrientes de cada ingrediente y de cada fórmula se presentan en el anexo III.

2.3.2. PREPARACION DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

Se siguió el mismo procedimiento descrito para el objetivo de frescura. La mollerosina se agregó disuelta en el agua.

2.3.3. ANALISIS DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

Cada una de las dietas fue analizada en el Laboratorio de Alimentos de la Facultad de Ciencias Biológicas, mediante el método de análisis proximal descrito por la A.O.A.C. (1990), determinando los parámetros descritos en el bioensayo de frescura.

2.4. BIOENSAYO.

El bioensayo se realizó en la sala de bioensayos descrita anteriormente.

2.4.1. CARACTERISTICAS DE LOS CAMARONES.

Para realizar el bioensayo se utilizaron postlarvas de **Penaeus vannamei** con un peso promedio de 0.066g procedentes de la granja "Las Lomitas" de Escuinapa, Sin. México. Las larvas fueron transportadas en bolsas de plástico conteniendo agua del estanque de colecta dentro de hieleras con un poco de hielo para bajar el metabolismo de los camarones. Fueron enviadas por avión. Posteriormente se trasladaron a la sala de bioensayos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la U.A.N.L. y se aclimataron en tanques de preengorda.

2.4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.

En cada acuario se colocaron 15 camarones de 0.055 a 0.080g y se alimentaron diariamente **ad libitum** durante 28 días con las 8 dietas experimentales. Cada tratamiento se corrió con 4 replicas, excepto los últimos 14 días, ya que un replicado se sacrificó para reemplazar los camarones muertos del mismo tratamiento y evitar así, tener una interferencia en los resultados de crecimiento por

un efecto de densidad. Diariamente se sifonearon todos los acuarios, se registró la mortalidad y porciento de restos de alimento y cada 15 días se pesaron los camarones.

2.5. EVALUACION BIOLOGICA.

Al final del bioensayo se determinó la tasa de crecimiento (TC), consumo de alimento (CA), la tasa de conversión alimenticia (TCA) y sobrevivencia (S) de cada replicado, mediante las fórmulas descritas anteriormente.

2.6. ANALISIS ESTADISTICO.

Para determinar si había diferencias significativas entre los tratamientos de los parámetros evaluados, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de comparación de medias de Scheffe, por medio de computadora con el programa Statgraphics.

VI.- RESULTADOS.

1. EFECTO DEL GRADO DE FRESCURA.

1.1. HARINAS DE PESCADO EXPERIMENTALES.

Como se observa en la tabla 2, el valor de bases volátiles totales (TVN) de la materia prima al tiempo de su procesamiento aumentó (de 14 a 50 mg N/100g de muestra) conforme disminuyó la frescura; también aumentó el contenido de aminas bigénicas, siendo la histamina la que más se incrementó de (28 a 4701 ppm); el nivel de proteína disminuyó ligeramente de (67 a 63%). La digestibilidad determinada en mink fue afectada ligeramente por el grado de frescura de la materia prima.

1.2. ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

El resultado del análisis proximal en base seca de las dietas experimentales fue similar en las tres dietas (tabla No. 6), presentando el mismo contenido energético. En cuanto a la estabilidad de las dietas en el agua, se observó que la DD presentó mayor pérdida de materia seca (26.1%) que las otras dos dietas, siendo la dieta preparada con material moderadamente fresco la que presentó mejor estabilidad en el agua (17.1% de pérdida de materia seca después de una hora de inmersión en agua marina a 35 g/l).

TABLA No. 6.- ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

PARAMETRO	*DF	DMF	DD
Proteína Cruda (%)	37.1	38.7	38.7
Grasa Cruda (%)	6.9	6.1	6.0
Ceniza (%)	8.0	8.2	8.3
Fibra (%)	2.4	2.4	2.4
E.L.N. (%)	45.9	44.8	44.8
Energía (Kcal/g)	4.6	4.6	4.6
Estabilidad			
%PMS (1 hora)	18.6	17.1	26.1

*DF: Dieta con material fresco.
DMF: Dieta con material moderadamente fresco.
DD: Dieta con material en descomposición.
PMS: Pérdida de materia seca.

1.3. EVALUACION BIOLOGICA (Bioensayo I y II).

Los resultados promedios de la evaluación biológica de cada bioensayo se resumen en las tablas 7, 8 y 9 respectivamente.

En el primer bioensayo (15 camarones/acuario) los camarones que se alimentaron con la DF presentaron mayor peso promedio final, incremento en peso, tasa de crecimiento (Fig. 8) y consumo de alimento (Fig. 9) que los camarones alimentados con las otras dos dietas. La diferencia de estos parámetros fue estadísticamente significativa ($P<0.05$). (Anexo IV). Sin embargo las tasas de conversión alimenticia (Fig. 10) y la sobrevivencia (Fig. 11) no fueron significativamente diferentes ($P>0.05$) y variaron de 2.99 a 3.56. y de 94 a 89% , respectivamente. (Tabla No. 7).

TABLA No.7.- RESULTADOS PROMEDIOS DE LA EVALUACION BIOLOGICA. BIOENSAYO I. (15 camarones/acuario)

PARAMETRO	*DF	DMF	DD
Replicados	4X15	4X15	4X15
Peso Inicial			
Promedio (g)	0.937	0.935	0.937
D.E.	0.003	0.005	0.005
Peso Final			
Promedio (g)	1.53^b	1.44^a	1.37^a
D.E.	0.069	0.082	0.049
Incremento (g)	0.59^b	0.50^a	0.44^a
D. E.	0.07	0.08	0.05
T. Crecimiento (%)	63.04^b	54.01^a	46.93^a
D.E.	7.7	8.8	5.3
Consumo (g)	1.75^b	1.50^a	1.55^a
D.E.	0.13	0.11	0.08
T.C.A.	2.99^a	3.02^a	3.56^a
D.E.	0.48	0.44	0.38
Sobrevivencia (%)	94.99^a	84.99^a	89.99^a
D.E.	3.33	17.56	3.85

D.E. Desviación estándar.
*Los valores con letras diferentes determinan las diferencias

significativas.

En el bioensayo II (8 camarones/tanque) a los 14 y 28 días (tabla 8 y 9, respectivamente), no se encontraron diferencias significativas (Anexo IV) entre los tratamientos en ninguno de los parámetros biológicos evaluados (Figs. 8, 9, 10 y 11). La tasa de sobrevivencia superior el 84% en todos los tartamientos. El reporte de este bioensayo se dividió en 2 partes para poderlo comparar con el primer bionsayo, el cual tuvo una duración de 14 días.

TABLA No 8. RESULTADOS PROMEDIOS DE LA EVALUACION BIOLOGICA. BIOENSAYO II. 14 días.

PARAMETRO	*DF	DMF	DD
Replicados	4X8	4X8	4X8
Peso Inicial			
Promedio (g)	1.52	1.56	1.52
D.E.	0.03	0.01	0.02
Peso Final			
Promedio (g)	2.34[a]	2.28[a]	2.35[a]
D.E.	0.016	0.050	0.068
Incremento (g)	0.817[a]	0.735[a]	0.827[a]
D. E.	0.017	0.051	0.073
T. Crecimiento (%)	53.64[a]	47.45[a]	54.24[a]
D.E.	1.59	3.43	5.14
Consumo (g)	2.65[a]	2.31[a]	2.54[a]
D.E.	0.11	0.08	0.17
T.C.A.	3.24[a]	3.16[a]	3.09[a]
D.E.	0.13	0.10	0.15
Sobrevivencia (%)	100.00[a]	90.62[a]	93.75[a]
D.E.	0.0	11.96	7.21

D.E. Desviación standar.

TABLA No 9. RESULTADOS PROMEDIOS DE LA EVALUACION BIOLOGICA. BIOENSAYO II. 28 DIAS.

PARAMETRO	*DF	DMF	DD
Replicados	4X8	4X8	4X8
Peso Inicial			
Promedio (g)	1.52	1.56	1.52
D.E.	0.03	0.01	0.02
Peso Final			
Promedio (g)	3.44[a]	3.28[a]	3.39[a]
D.E.	0.10	0.32	0.33
Incremento (g)	1.92[a]	1.73[a]	1.86[a]
D. E.	0.08	0.32	0.33
T. Crecimiento (%)	125.88[a]	112.15[a]	121.06[a]
D.E.	4.34	21.21	22.38
Consumo (g)	6.48[a]	5.41[a]	6.09[a]
D.E.	0.62	0.21	0.43
T.C.A.	3.22[a]	3.12[a]	3.23[a]
D.E.	0.48	0.44	0.38
Sobrevivencia (%)	100.00[a]	90.62[a]	93.75[a]
D.E.	0.0	11.96	7.21

D.E. = Desviación estándar.

1.4. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DEL AGUA.

Durante el transcurso de ambos bioensayos la temperatura se mantuvo entre 26 y 30°C; la salinidad varió entre 33 y 36%., el pH se mantuvo constante en 8.1 y la concentración de amonio, nitritos y nitratos fue de 0 - 0.1ppm, 0.2ppm y de 10 a 20ppm respectivamente.

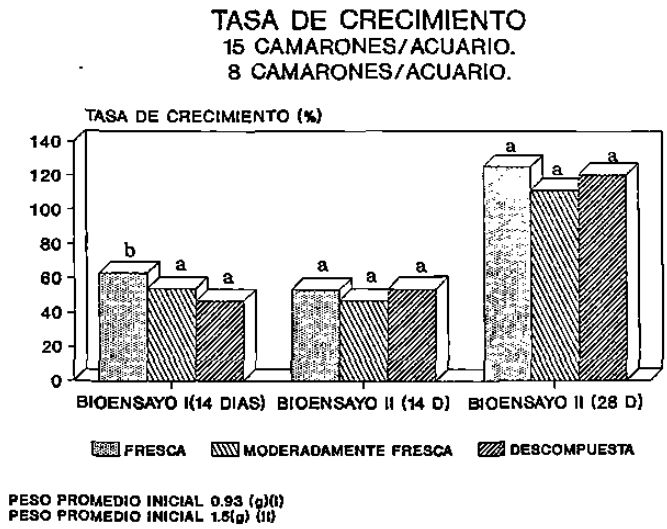


Figura No.8. Tasa de Crecimiento de ambos bioensayos.

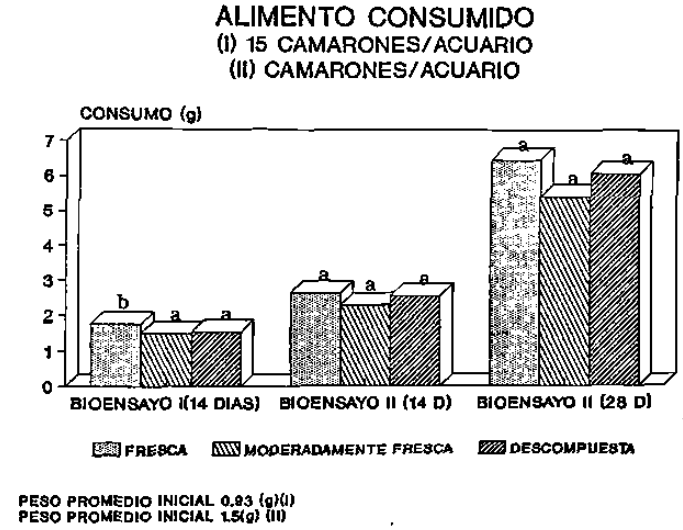


Figura No. 9. Consumo de alimento por camarón de ambos bioensayos.

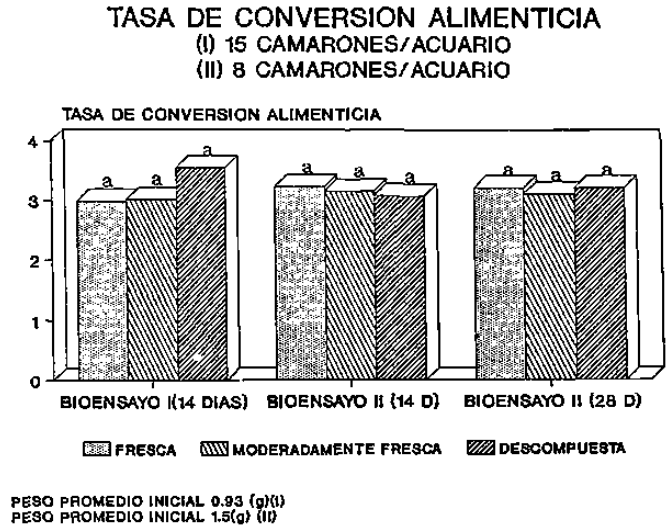


Figura No.10. Tasa de Conversión alimenticia de ambos bioensayos.

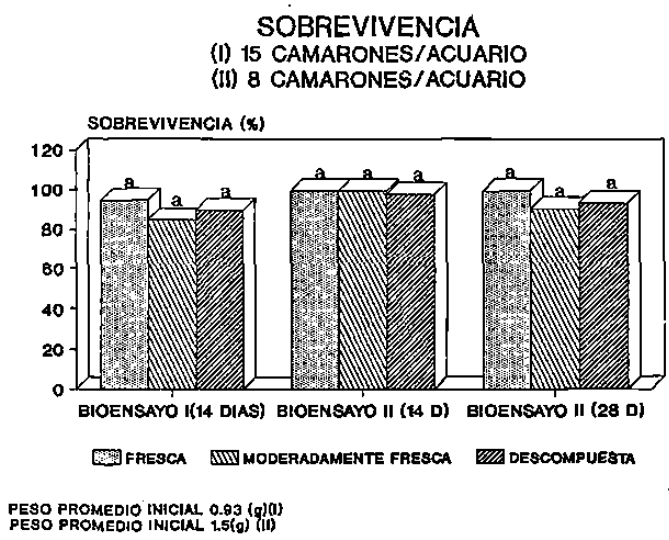


Figura No.11. Sobrevivencia obtenida en ambos bioensayos.

2. EFECTO DEL SCORE BIOTOXICOLOGICO Y DEL TOXICO MOLLEROSINA.

2.1. ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS.

De acuerdo al análisis proximal (tabla No. 10) se puede determinar que las 8 dietas experimentales son isoenergéticas. El contenido de proteína varío de 38 a 40%, el contenido de grasa, cenizas y fibra fue homogéneo en las 8 dietas. La DM_a presentó el mayor contenido de histamina (3710 ppm), en las demás dietas el contenido de histamina fue similar.

TABLA NO.10.- ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS.

PARAMETRO Base Húmeda	DNa	DNb	DMa	DMb	D1ppm	D3ppm	D6ppm	D9ppm
Humedad (%)	2.1	3.7	4.1	5.3	4.0	5.0	3.3	2.4
Proteína cruda (%)	40.4	39.0	39.4	37.7	38.8	39.0	39.0	40.9
Grasa cruda (%)	7.4	7.0	6.9	7.0	7.2	7.2	7.3	7.2
Ceniza (%)	6.3	7.3	6.9	5.8	6.3	6.1	6.4	6.2
Fibra (%)	1.6	1.5	2.4	2..1	2.7	2.2	2.5	2.6
E.L.N. (%)	42.2	41.5	40.3	42.0	40.9	40.6	41.6	40.7
Histamina ppm	260.0	310.0	3710.0	440.0	170.0	280.0	270.0	250.0
Energía (kcl/g)	4.69	4.95	4.51	4.49	4.53	4.53	4.53	4.64

2.2. EVALUACION BIOLOGICA.

Los resultados promedio de la evaluación biológica a los 14 y 28 días se muestran en las tablas No. 11 y 12 , respectivamente.

A los 14 días de bioensayo no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) (Anexo V) en ninguno de los parámetros biológicos evaluados (Tabla 11; Figs. No. 12, 13, 14 y 15).

TABLA NO.11.- RESULTADOS PROMEDIOS DE LA EVALUACION BIOLOGICA. 14 DIAS.

PARAMETRO	DN_a	DN_b	DM_a	DM_b	D1ppm	D3ppm	D6ppm	D9ppm
REPLICADOS	4X15	4X15	4X15	4X15	4X15	4X15	4X15	4X15
PESO MEDIO INICAL (g)	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066
D.E.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PESO MEDIO FINAL (g)	0.145	0.149	0.140	0.145	0.145	0.142	0.147	0.157
D.E	0.003	0.008	0.002	0.003	0.008	0.007	0.011	0.008
INCREMENTO (g)	0.079	0.084	0.074	0.079	0.079	0.076	0.081	0.091
D.E.	0.006	0.009	0.002	0.005	0.008	0.007	0.011	0.008
TASA DE CRECIMENTO (%)	120.07[a]	126.13[a]	113.25[a]	120.45[a]	119.69[a]	115.52[a]	122.72[a]	138.63[a]
D.E .	9.92	13.62	3.36	8.43	12.91	10.66	18.09	12.27
CONSUMO (g)	0.130[a]	0.135[a]	0.137[a]	0.140[a]	0.126[a]	0.136[a]	0.134[a]	0.134[a]
D.E.	0.003	0.001	0.003	0.001	0.003	0.001	0.001	0.009
T.C.A.	1.56[a]	1.65[a]	1.83[a]	1.76[a]	1.62[a]	1.84[a]	1.77[a]	1.48[a]
D.E.	0.07	0.24	0.07	0.13	0.27	0.21	0.19	0.11
SOBREVIVENCIA(%)	95.00	96.74	96.66	95.08	91.66	96.66	93.33	83.66
D.E.	6.38	3.75	3.85	3.28	6.38	3.85	5.44	5.44
MORTALIDAD (%)	5.00[a]	3.33[a]	3.33[a]	5.00[a]	8.33[a]	3.33[a]	6.67[a]	13.34[a]
D.E.	6.38	3.75	3.85	3.28	6.38	3.85	5.44	5.44

* D.E. Desviación estándar.

A los 28 días de experimentación (Tabla No. 12) tampoco se encontraron diferencias significativas (P>0.05) (Anexo V) en cuanto a peso promedio final, tasa de crecimiento (Fig, 16), consumo de alimento (Fig. 17) y tasa de conversión alimenticia (Fig, 18). Solo se encontraron diferencias significativas (P=0.02) (Anexo IV) en cuanto al porciento de sobrevivencia o mortalidad (Fig. 19).

TABLA NO.12.- RESULTADOS PROMEDIOS DE LA EVALUACION BIOLOGICA, A LOS 28 DIAS

PARAMETRO	DN_a	DN_b	DM_a	DM_b	D1ppm	D3ppm	D6ppm	D9ppm
REPLICADOS	3X15	3X15	3X15	3X15	3X15	3X15	3X15	3X15
PESO MEDIO INICAL (g)	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066	0.066
D.E.	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
PESO MEDIO FINAL (g)	0.316	0.300	0.303	0.320	0.326	0.296	0.300	0.326
D.E	0.032	0.055	0.032	0.036	0.023	0.023	0.030	0.032
INCREMENTO (g)	0.250	0.237	0.237	0.254	0.260	0.230	0.234	0.260
D.E.	0.032	0.055	0.032	0.036	0.023	0.023	0.030	0.032
CONSUMO (g)	0.373	0.377	0.392	0.394	0.381	0.388	0.378	0.381
D.E.	0.016	0.020	0.041	0.010	0.006	0.004	0.023	0.015
T.C.A	1.50	1.70	1.62	1.56	1.46	1.69	1.61	1.47
D.E	0.24	0.42	0.11	0.19	0.11	0.16	0.11	0.20
TASA DE CRECI MENTO (%)	379.79[a]	359.39[a]	359.59[a]	384.84[a]	394.94[a]	349.49[a]	354.54[a]	394.94[a]
D.E .	48.70	83.44	48.70	54.62	34.99	34.98	45.45	48.70
SOBREVIVENCIA(%)	97.77	91.10	84.44	80.00	80.80	93.33	88.88	86.66
D.E.	3.85	3.85	10.18	0.0	0.0	0.0	10.18	6.66
MORTALIDAD (%)	2.22a	8.89abc	15.56cd	20.00d	20.00d	6.67ab	10.17bc	13.33bcd
D.E.	3.85	3..85	10.18	0.0	0.0	0.0	10.18	6.66

2.3. PARAMETROS FISICO-QUIMICOS DEL AGUA.

Durante el transcurso del bioensayo la temperatura varió de 26 a 29°C. La salinidad varió de 35 a 37‰. El pH se mantuvo constante a 8.1. La concentración de amonio fue de 0 a 0.1ppm, la concentración de nitritos se mantuvo constante a 0.2ppm y la concentración de nitratos varió de 10 a 20ppm.

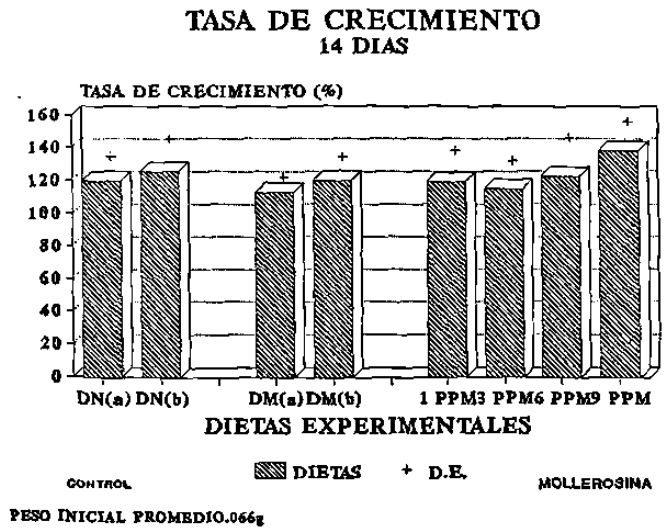


Fig. 12. Tasa de Crecimiento a los 14 días de Experimentación.

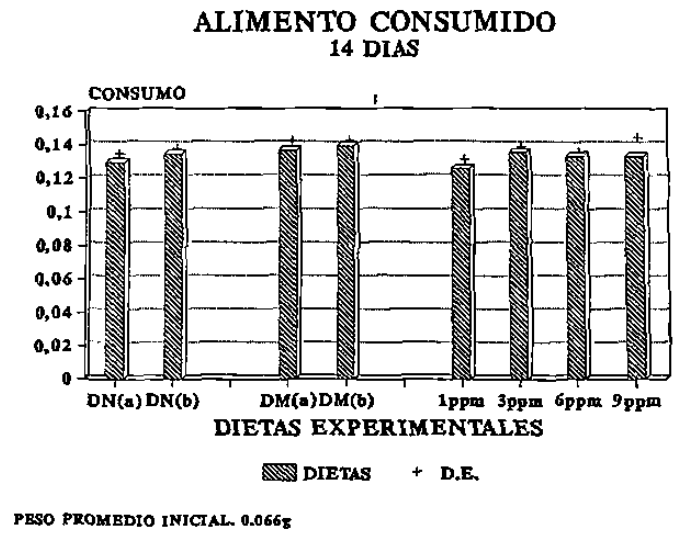


Fig. 13. Consumo de alimento/camarón a los 14 días de experimentación

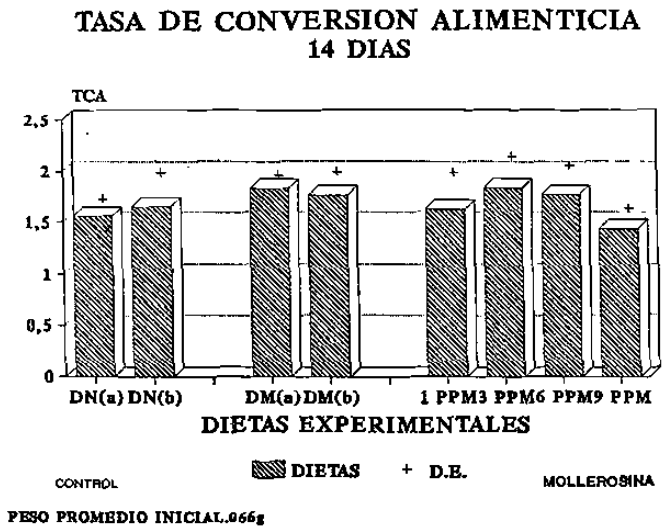


Fig. 14. Tasa de Conversión Alimenticia a los 14 Días.

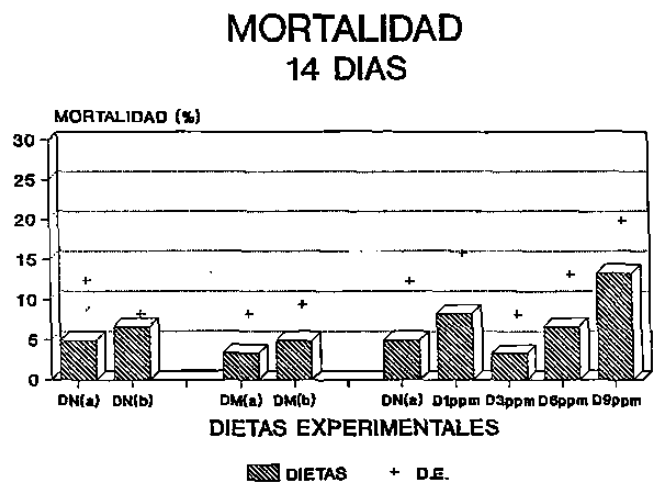


Fig. 15. Tasa de Mortalidad a los 14 días.

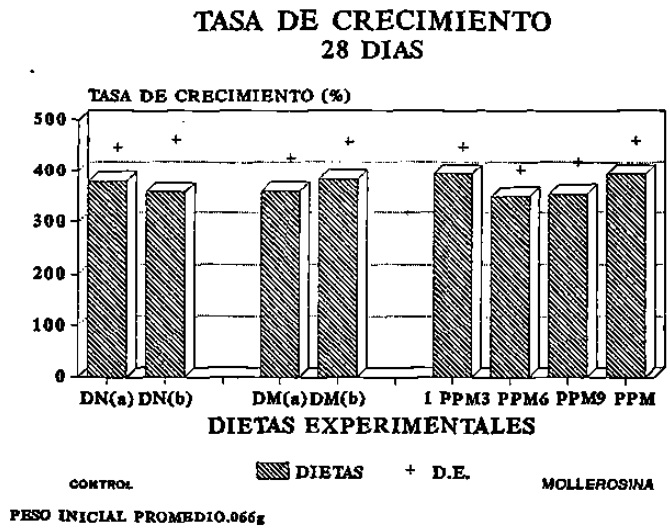


Fig. 16. Tasa de Crecimiento a los 28 días de Experimentación.

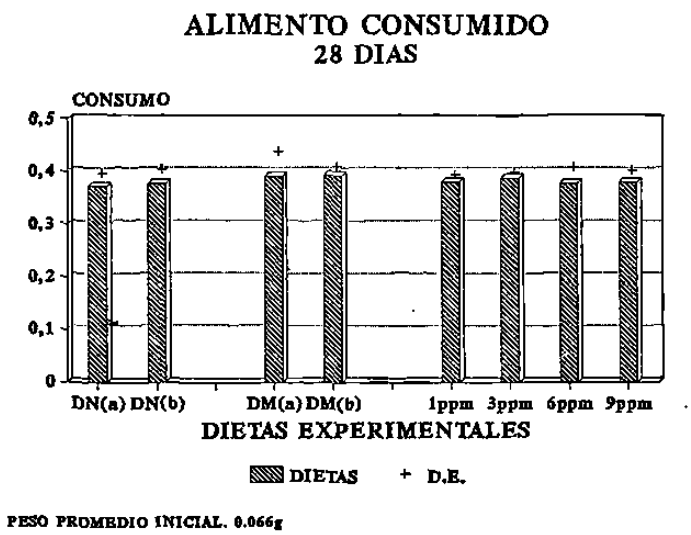


Fig. 17. Consumo de alimento/camarón a los 28 días de experimentación

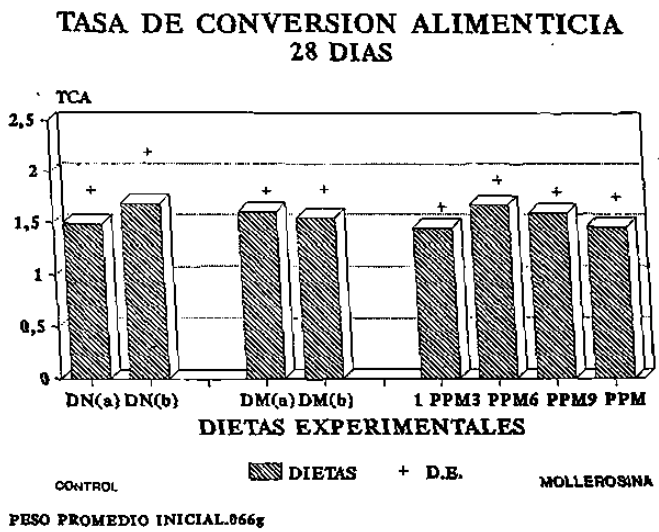


Fig. 18. Tasa de Conversión Alimenticia a los 28 Días.

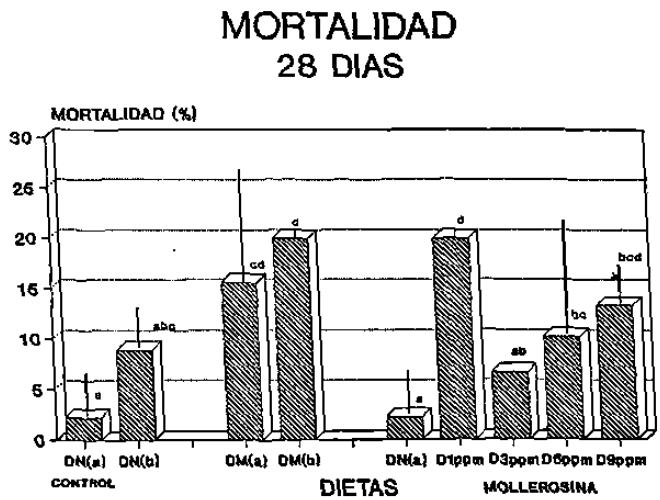


Fig. 19. Tasa de Mortalidad a los 28 días de experimentación.

VII.- DISCUSION

1. EFECTO DEL GRADO DE FRESCURA.

1.1. COMPOSICION DE LAS HARINAS DE PESCADO EXPERIMENTALES.

Las harinas de pescado experimentales presentaron las características adecuadas para evaluar únicamente la variable frescura de la materia prima. Como se esperaba, el contenido de bases volátiles totales (TVN) del pescado aumentó a medida que transcurrió el tiempo entre la captura de la materia prima y la elaboración de la harina de pescado; sin embargo, por los valores de TVN que presentaron estas harinas de pescado experimentales, serían consideradas, tanto en Chile (Castro, 1990), como en Noruega (Pike et. al., 1990), como harinas elaboradas con pescado fresco. Las harinas de pescado Norseamink y LT-94 (de calidad certificada) contienen un TVN <90 y <50 mg N/100g de muestra, respectivamente. Si comparamos los valores de TVN de las harinas de pescado experimentales de este trabajo, se aprecia que la HD tuvo un TVN de 50 mg N/100g de muestra, por lo tanto, las harinas de pescado que se evaluaron, aunque varían en cuanto a su contenido de bases volátiles totales, pueden considerarse que se elaboraron con materia prima relativamente fresca.

Las harinas de pescado utilizadas en la alimentación del cerdo deben contener un valor de TVN <80 mg N/100g de muestra (Castro, 1990) y para salmónidos se recomienda un valor menor a 50 mg N/100g de muestra ó <90 mg N/100g de muestra (Castro, 1990; Pike et. at., 1990), para que no haya detrimento en la producción.

Por otro lado, se observa que a medida que aumentó el grado de descomposición de la materia prima, aumentó el contenido de aminas biogénicas, ésto se debe a que a medida que el pescado se va descomponiendo, las proteínas se degradan rompiéndose en péptidos, aminoácidos libres y finalmente en aminas biogénicas. El contenido de bases volátiles totales (TVN) es un buen indicador del

grado de frescura de la materia prima; sin embargo, este parámetro no es apropiado para evaluar la frescura de productos estabilizados con calor como es el caso de la harina de pescado, por lo que el valor de TVN del producto final no indica el grado de frescura de la materia prima o de la fracción soluble del pescado. Las aminas biogénicas son térmicamente estables, pero como la mayoría de las aminas biogénicas se van con la fase líquida durante el procesamiento de la harina y el líquido es reincorporado antes de secarlo, las aminas biogénicas no necesariamente son del mismo lote de pescado y por lo tanto, no reflejan con exactitud el grado de frescura de la materia prima, pero pueden considerarse útiles indicadores de la descomposición de la fracción soluble de la harina de pescado. El contenido de aminas biogénicas debe considerarse como un parámetro de calidad necesario para certificar harinas de pescado, ya que en altas concentraciones, según Poole (1993), pueden ser tóxicas para los animales en cultivo.

De las cuatro aminas biogénicas analizadas en las harinas experimentales, la histamina tuvo el mayor incremento, pasando de 28 a 4701 ppm. La amina que más se ha estudiado es la histamina, ya que ha afectado grandemente a la industria avícola a nivel mundial (ver antecedentes). En cerdos y salmónidos se ha reportado que la histamina afecta la ganancia diaria de peso y la eficiencia alimenticia (Castro, 1990; Watanabe et. al., 1987). Para la nutrición de pollos y cerdos se recomienda un contenido de histamina en la harina de pescado menor a 1000 ppm y para salmónidos se recomienda <500 ppm.

Aunque no se han realizado muchos estudios para verificar el efecto tóxico de otras aminas biogénicas, se sabe que la cadaverina y la putresina potencializan el efecto tóxico de la histamina. Nosotros suponemos que el conjunto de altas concentraciones de las aminas biogénicas comúnmente encontradas en la harina de pescado pueden interactuar para afectar negativamente la producción de camarón, por lo que en este sentido, se realizarán estudios con diferentes aminas biogénicas a diferentes niveles para determinar su efecto sobre el comportamiento productivo del camarón.

En cuanto al análisis proximal de las harinas experimentales se observó, que el grado de frescura de la materia prima no afecta significativamente el contenido de proteína, grasa y ceniza, ya que las 3 harinas experimentales mostraron una composición proximal similar. Estos resultados coinciden con los reportados por Pike y Cols. (1990), quienes evaluaron en salmónidos harinas de pescado con un TVN de 30 y 140 mg N/100g de muestra y reportaron que ambas harinas presentaron análisis proximales similares.

Por otro lado, utilizar el valor de digestibilidad como parámetro de calidad en este caso en particular, no es recomendable o de utilidad, debido a que las proteínas de materia descompuesta, según se vió en antecedentes, se hidrolizan y debido a ésto se pueden obtener valores altos de digestibilidad, ya sea en mink o con los métodos usuales de digestibilidad **in vitro**, pero no reflejaría realmente la absorción. Sin embargo, los resultados de digestibilidad en mink que se obtuvieron en las harinas de pescado experimentales coinciden con los reportados por Pike et. al. (1990), quienes mencionaron que el grado de frescura de la materia prima tuvo un pequeño efecto sobre la digestibilidad verdadera en mink.

1.2. ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

El resultado del análisis proximal fue similar en las tres dietas experimentales. El contenido de proteína de la dieta con materia prima fresca (DF) (37.1%) es menor en 1.6% en comparación con las otras dos dietas, pero al mismo tiempo, el contenido de grasa de esta dieta fue 0.8% mayor, de tal manera que la energía bruta teórica de las dietas es igual en las 3, por lo que esta pequeña diferencia en el contenido de nutrientes no debe afectar los resultados; ésto aunado al coeficiente de variación de 10% encontrado en los resultados del análisis proximal.

Las dietas cumplieron con los requerimientos nutricionales reportados para camarón por Akiyama et. al. (1991), quienes recomiendan un contenido de proteína y grasa de 30% y 6 a 7%, respectivamente.

1.3. ESTABILIDAD DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES.

La estabilidad en el agua de los alimentos balanceados para camarón, es un parámetro de gran importancia debido a los hábitos alimenticios del camarón. La dieta preparada con harina de pescado de materia prima descompuesta (DD) presentó menor estabilidad en el agua en el transcurso de 1 hora, perdió más materia seca que la dieta fresca. Esto puede atribuirse a su alto contenido de aminas biogénicas y a otros compuestos nitrogenados (tabla No. 2), las cuales son moléculas muy solubles en agua, propiciando por lo tanto, que la dieta perdiera más materia seca en el agua.

1.4. EVALUACION BIOLOGICA.

En el bioensayo I (15 camarones/acuario), la sobrevivencia y la tasa de conversión alimenticia no fueron afectadas significativamente por el grado de frescura de la materia prima. Sin embargo, se afectó el consumo de alimento y el crecimiento, este último se reduce desde un 15% hasta un 25% (con valores de TVN de 30 y 50 mg N/100g), con respecto al control. Estos resultados son similares a los reportados para cerdos (Castro, 1990) y salmónidos (Watanabe et. al., 1987; Pike, et. al., 1990), en los cuales, un contenido mayor a 80 y 90 mg N/ 100g afecta el crecimiento y la eficiencia alimenticia en estas especies.

El efecto nutricional secundario del consumo reducido y de la menor estabilidad del alimento en el agua, podrían explicar la disminución del crecimiento.

En el bioensayo II (8 camarones/acuario) no se encontraron diferencias significativas en los parámetros biológicos evaluados.

Los resultados obtenidos en ambos bioensayos nos hacen suponer que los camarones menores de 1 g son más suceptibles al grado de frescura de la materia prima con la que se elaboran las harinas de pescado, que los camarones de mayor talla.

Esta diferencia en la sensibilidad al grado de frescura de la materia prima de camarones de diferente talla se podría explicar por sus diferentes requerimientos nutricionales (Tacon, 1989; Akiyama et. al., 1991). O porque los camarones en condiciones más limitantes, de mayor densidad, son más suceptibles a este factor.

Posiblemente, la DD cubrió los requerimientos en forma limitante permitiendo encontrar diferencias significativas entre los tratamientos; por otro lado, la misma dieta cubrió en exceso los requerimientos nutricionales de los camarones de 1.5g provocando un enmascaramiento del efecto de la calidad de la proteína. Por lo tanto, se recomienda que el efecto de la frescura sea estudiado más a fondo, elaborando dietas con porcentajes menores de proteína y con un diseño experimental más robusto.

Es interesante resaltar que en el bioensayo II, los replicados de los tratamientos de la DFM y DD no fueron homogéneos; en ambos casos, uno de los replicados dió mejores resultados haciendo que el promedio se mejorara, aumentando la desviación estándar, lo cual pudo provocar que las diferencias no fueran significativas. Como no se detectó ninguna variable externa causante del comportamiento de estos dos replicados problemareplicado problema, se tuvieron que considerar en el análisis de los resultados.

El consumo de alimento fue mayor en la DF en los 2 bioensayos, al contrario de lo que se hubiera esperado, ya que es conocido el efecto atractante de algunas moléculas solubles en agua como aminoácidos, trimetilamina y posiblemente aminas biogénicas (Cruz-Suárez, 1987).

Finalmente, la sobrevivencia que se presentó en ambos bioensayos fue muy buena, superior a 84%, por lo que se puede concluir que los niveles de TVN y bases biogénicas estudiados no presentan un efecto tóxico que afecte la sobrevivencia.

Los indicadores de frescura de la materia prima como el contenido de bases volátiles totales (TVN) y la concentración de aminas biogénicas no deben

1020091366

considerarse como los únicos criterios de calidad; deben tomarse en cuenta así mismo, el proceso (tipo de secado, temperatura y tiempo de secado), la especie y la presencia de los productos de oxidación.

2. EFECTO DEL SCORE BIOTOXICOLOGICO Y DEL TOXICO MOLLEROSINA.

2.1. COMPOSICION DE LAS HARINAS DE PESCADO EXPERIMENTALES. (Tabla No. 4)

Las harinas de pescado experimentales fueron clasificadas por el M. en C. Emilio Castro y Mónica Galleguillos de Fundación Chile de acuerdo al score biotoxicológico determinado en pollos. Las HPN_a y HPN_b presentaron un valor biotoxicológico de 0.1 por lo que de acuerdo a la clasificación propuesta por Castro en 1990 se consideran normales o atóxicas. Las HPM_a y HPM_b tuvieron un valor biotoxicológico de 1.1 y 1.4 respectivamente clasificándose como harinas de toxicidad media (ver descripción de la prueba biotoxicológica en antecedentes).

El TVN de la materia prima de las harinas normales demuestra que el pescado era muy fresco al tiempo de su procesamiento. Por el contrario, el contenido de TVN de la HM_a (50 mg N/100g de muestra), indica que la materia prima se encontraba en un estado inicial de descomposición al tiempo de su procesamiento. Esta pérdida de frescura se refleja también en el alto contenido de aminas biogénicas en la harina. El contenido de histamina se encuentra por encima de los valores recomendados para pollos, cerdos y salmónidos. Desafortunadamente no se contó con el valor de TVN de la HM_b, pero el contenido de aminas biogénicas es bajo, por lo que se puede inferir que fue elaborada con materia prima y fracción soluble frescas.

El valor de TVN del producto final, como ya se discutió en el bioensayo de frescura, no representa el grado de frescura de la materia prima con la que fue elaborada la harina, ni la frescura del producto final. En la tabla No. 4 se puede apreciar perfectamente como no existe una correlación positiva entre el TVN de la

materia prima y el TVN de la harinas de pescado, o entre el nivel de aminas biogénicas.

Las harinas de pescado contienen niveles de proteína similares (alrededor de 67.5%) excepto la HPM_a debido probablemente a que fue elaborada a partir de Anchoveta y las otras 3 fueron elaboradas con Jurel. La composición de las harinas de pescado puede variar dependiendo de las especies a partir de las cuales fueron elaboradas (Stansby y Karrick, 1963; Uriarte-Pérez, 1991; Pike et. al., 1992). En cuanto al contenido de extracto etéreo las 4 harinas contienen niveles similares ya que tanto el jurel como la anchoveta son especies de carne roja con alto contenido de aceite (ver antecedentes). El contenido de ceniza es mayor en la HPN_b y HPM_a, probablemente fueron elababoradas con algo de subproductos, ya que según Hardy and Masumoto (1991) cuando la harina de pescado es elaborada con subproductos aumenta el contenido de ceniza. Por la misma razón podría explicarse el alto contenido de Calcio en la HPN_b. El alto contenido de sal en la HPM_a se explica porque a esta se le añadió el agua de sangre durante su procesamiento.

La digestibilidad determinada mediante el método de Torrey modificado es similar en las 4 harinas experimentales, aunque se podría esperar que las HPM_a y HPM_b tuvieran menor digestibilidad, ya que fueron secadas con llama directa y la calidad de la proteína puede dañarse con mayor facilidad al secarse en deshidratadores directos (ver descripción y problemas en antecedentes) dependiendo de la temperatura y el tiempo de permanencia en el secador (Windsor y Barlow, 1984; Corrales, 1988; Osuna, 1987; Castro, 1990). Esto demuestra que el método de digestibilidad **in vitro** con pepsina no es muy sensible, aún reduciendo la concentración de la enzima, cuando se usa para determinar la calidad de harinas que no presentan diferencias muy marcadas.

Se ha demostrado que no existe una buena correlación entre la digestibilidad **in vitro** con pepsina con la digestibilidad **in vivo** en salmónidos. En el caso de crustáceos existe el problema adicional de que éstos no tienen una digestión ácida con pepsina y la principal enzima es la tripsina. En este sentido, actualmente en la

Facultad de Ciencias Biológicas, se están desarrollando pruebas de digestibilidad **in vivo** en camarones e **in vitro** con tripsina.

Por otro lado, también era de esperarse que el valor de lisina disponible fuera menor en las harinas de toxicidad media, ya que el sobrecalentamiento reduce la biodisponibilidad aminoácidica. La lisina puede reaccionar con otros compuestos para formar la mollerosina y por lo tanto no esta disponible por encontrarse unida a otras sustancias. Sin embargo, las 4 harinas presentaron valores similares, lo que indica que este parámetro no refleja la calidad de la proteína.

La HPM_a contiene un alto nivel de ácidos grasos libres. El contenido de ácidos grasos libres en una harina de pescado es un indicador de oxidación en el producto. Hardy y Masumoto (1991), mencionaron que las harinas de pescado no deben contener más de 4.5% de ácidos grasos libres. En base a este parámetro, la calidad del aceite residual de esta harina sería reportado de mala calidad (Cruz-Suárez et. al., 1992).

Las 4 harinas estuvieron libres de **Salmonella**. Para certificar una harina de pescado se requiere que esté libre de **Salmonella** (Windsor y Barlow, 1984; Corrales, 1988; Castro, 1990).

2.2. DIETAS EXPERIMENTALES.

2.2.1. ANALISIS PROXIMAL DE LAS DIETAS.

En base a los resultados obtenidos en el análisis proximal de las 8 dietas se considera que todas las dietas son isoproteicas e isolipídicas, ya que el contenido de proteína varió aproximadamente en 1% y el contenido de grasa varió solo en 0.5%.

Las dietas cumplieron con los requerimientos nutricionales propuestos por Akiyama et. al. (1991) para camarón **P. vannamei**.

La DM_a presentó el valor más alto de histamina (3710), tal y como se esperaba, ya que estuvo compuesta de la harina de pescado con el más alto contenido de histamina.

2.3. EVALUACION BIOLOGICA.

A los 14 días de experimentación no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos, en ninguno de los parámetros biológicos evaluados.

A los 28 días, tampoco se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos en cuanto a crecimiento, consumo de alimento y tasa de conversión alimenticia; sin embargo, se encontraron diferencias significativas ($P=0.02$) en mortalidad.

Tal y como se esperaba con respecto al score biotoxicológico, la mayor mortalidad se encontró con la DM_b, que contenía la harina con el score más elevado y la mayor mortalidad en pollos, aún cuando la HPM_a presentó un valor más alto de histamina y un porcentaje más elevado de ácidos grasos libres, lo cual hace suponer que el efecto del score biotoxicológico es dominante sobre el efecto de la frescura de la materia prima (TVN e histamina) y de la calidad de los lípidos (ácidos grasos libres), por lo menos a este tiempo de experimentación.

Como se aprecia en las figuras 8 y 12, la mortalidad en los camarones alimentados con la D9ppm fue mayor en los primeros 14 días de experimentación y disminuyó o fue nula con el transcurso del tiempo. Esta respuesta concuerda con lo observado en pollos (Com. pers. Galleguillos, 1993). Estudios realizados han demostrado que pollos alimentados con harinas de pescado conteniendo mollerosina mueren en gran porcentanje los primeros 7 ó 10 días de experimentación; después de los 10 días disminuye significativamente la mortalidad y los pollos que sobreviven pueden incluso regenerar las lesiones que causó la mollerosina en sus mollejas.

Por otro lado, los resultados de mortalidad (20%) que se obtuvieron con la D1ppm, equivalentes a los de la harina con el score más alto, son difíciles de explicar; una hipótesis podría ser que la concentración fue tan baja que probablemente no se pudieron alcanzar niveles suficientes para estimular algún mecanismo de detoxificación.

Analizando los resultados obtenidos con las harinas de pescado de diferente score, se observó mayor mortalidad en las dietas M_a y M_b que con las dietas con las dietas D6ppm y D9ppm. Por un lado, hay que resaltar que la DL-Mollerosina es 50% menos activa que la L-Mollerosina presente en las harinas de pescado y por el otro lado, no se cuantificó la concentración de mollerosina en las harinas de pescado y probablemente tenían concentraciones iguales o aún mayores a las que se añadieron en su forma sintética a las dietas; además, con las harinas de diferente score se está evaluando el efecto de la suma de diferentes factores que no se consideraron detalladamente.

En investigaciones realizadas por diversos autores se ha demostrado que aún cuando el precursor de la mollerosina es soluble en agua, una vez formado el compuesto en la harina de pescado, éste es insoluble. En base a este antecedente, se preguntó al proveedor de la DL-Mollerosina si se han realizado pruebas de estabilidad en su producto y su respuesta fue negativa. Por lo que se hace necesario realizar pruebas de estabilidad en la mollerosina sintética, para así poder obtener conclusiones más contundentes sobre los resultados que se obtuvieron en el presente trabajo.

Sin embargo, en base a los resultados obtenidos, se puede inferir que la calidad biotoxicológica de las harinas de pescado y el tóxico DL-Mollerosina, no afectan el valor nutricional de las harinas de pescado para el camarón, pero si tienen un efecto tóxico, aumentándo la mortalidad en un 20% de éste crustáceo; repercutiendo por lo tanto, en la producción.

En los pollos la mollerosina actúa sobre los receptores histamínicos H_2

aumentando la secreción gástrica (Masumara et. al, 1985; Ito, et. al, 1987) reduciendo en consecuencia el crecimiento, erosionando la molleja y aumentando la mortalidad; en salmónidos causa atrofia de la capa muscular del estómago y necrosis (Chávez, 1991); sin embargo, los camarones al contrario de los pollos y salmónidos no tienen un estómago verdadero y no cuentan con células secretoras de ácido, por lo que carecen de digestión ácida y posiblemente el modo de acción de la mollerosina sea diferente en éstos crustáceos, de tal manera, que no afecta el crecimiento y la eficiencia alimenticia como en los pollos y solo afecta la sobrevivencia. Por lo que se necesitan realizar investigaciones para determinar el modo de acción de la mollerosina en los camarones.

Para salmónidos se recomienda que las harinas de pescado tengan un score biotoxicológico menor a 0.8 (Castro, 1990) y se recomienda que las dietas para pollos no contengan más de 0.3ppm de mollerosina (Osuna, 1989). En base al presente trabajo, también se podría recomendar que las harinas de pescado utilizadas en la alimentación del camarón tengan un score biotoxicológico <1.1 pero, sería prematuro concluir sobre el nivel mínimo de toxicidad de la mollerosina, aunque se ha demostrado su toxicidad.

Evaluando en conjunto los resultados obtenidos sobre el efecto del grado de frescura de la materia prima, la calidad biotoxicológica de las harinas de pescado y la concentración de DL-Mollerosina, se puede deducir que se obtendrán mejores rendimientos en el cultivo de camaron cuando, la harina de pescado utilizada en la elaboración de alimentos balanceados para este organismo, haya sido elaborada con materia prima fresca, es decir , con un TVN menor a 30 mg N/100g de muestra y un contenido de histamina menor a 1850 ppm , y procesada a bajas temperaturas, con un score biotoxicológico menor a 1.0 al incluirse a un nivel de 30% en el alimento. Sin dejar de considerar la posibilidad de que los otros ingredientes de la formulación también hayan aportado bases volátiles, aminas biogénicas y mollerosina (no cuantificados), dependiendo del proceso de fabricación y la calidad de los mismos.

No se pudo demostrar el efecto acumulativo de la frescura y del score

biotoxicológico, porque de haber sido así, la DMa sería la que hubiera causado un menor crecimiento, aunado a alta mortalidad.

VIII.- CONCLUSIONES.

La frescura de la materia prima determinada por TVN del pescado o por el contenido de histamina en la harina es un parámetro que debe considerarse en las harinas de pescado utilizadas en la nutrición del camarón.

Harinas de pescado con valores superiores a 30 mg N/100g de muestra en la materia prima y valores de histamina superiores a 1850 ppm en la harina de pescado, producen disminución en el crecimiento, desde un 15 hasta un 20% y disminuyen el consumo de alimento en camarones menores a 1 g., en condiciones de cultivo intensivo. Este efecto debe confirmarse en camarones de mayor talla y en condiciones de cultivo semi-intensivo.

La descomposición de la materia prima de las harinas de pescado, puede afectar las propiedades físicas del alimento balanceado; ya que genera compuestos muy solubles que reducen la estabilidad del alimento. (Cuando la harina de pescado se incluye a un 30%).

Se comprobó que las toxinas producidas en las harinas de pescado que causan erosión de mollejas en pollos, afectan la sobrevivencia de los camarones, produciendo martalidades hasta de un 20%. Bajo las condiciones del presente trabajo, las harinas de pescado utilizadas para la nutrición del camarón, incluídas a 30% en el alimento, deben tener un score biotoxicológico menor a 1.1.

La DL - Mollerosina disminuye la sobrevivencia de los camarones, sin afectar el crecimiento y la eficiencia alimenticia.

Se necesitan más estudios para comprender el modo de acción de la mollerosina en camarones, así como, la posible formación de mollerosina durante el procesamiento de otras fuentes de proteína que sigan un proceso de calentamiento semejante al de la harina de pescado.

Se confirma que el control de calidad de harinas de pescado, específicamente en los parámetros evaluados, es necesario para obtener un constante y mejor rendimiento de producción de camarón.

XIX.- RECOMENDACIONES.

Se recomienda a los productores de harina de pescado que midan el contenido de bases volátiles totales de la materia prima y que establezcan un buen control de calidad; sobre todo, en los puntos críticos que se mencionan el el anexo VI.

A los usuarios se les recomienda que traten de conocer el proceso de la harina de pescado que compran, ya sea de producción nacional o importada, que soliciten además el valor de TVN de la materia prima y el score biotoxicológico determinado en pollos.

X.- LITERATURA CONSULTADA.

Akiyama D; W. Dominy and A. Lawrence. 1991. Penaeid Shrimp Nutrition for the Commercial Feed Industry. Revised. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. Edited by Akiyama and R. Tan.Thailand and Indonesia. pp: 80 - 97.

Almazán de la Rosa J. 1991. Aspectos sobre la Alimentación en Granjas Acuícolas de Peces y Crustáceos. Memorias del Curso-Taller. Tópicos sobre Nutrición y Alimentación Animal. Centro de Investigaciones Biológicas, UAEM. Editado por AMENA. pp: 97 - 108.

A.O.A.C. 1990. Official Methods Analysis. 12th. Ed. Association of Official Analitical Chemist. Elliam Horritz Ed. Washington, D.C.

Aquacop, 1978. Study on Nutritional Requirements and Growth of **Penaues merguiensis** in Tanks by Means of Purified and Artificial Diets. Proceedings World Mariculture Society. 9: 225 - 234.

Barlow S. M. y M. L. Windsor. 1984. Sub-Productos de Pesquería. IAFMM. Boletín técnico No. 19. CSR. Handbook of Nutritional Supplements, V. II, pp: 253 - 272.

Barlow. S., G. Collier, J. Jurtiz, J. Burt, J. Opstvedt y E. Miller. Procedimientos Químicos y Biológicos para la Dterminación de Lisina en Harinas de Pescado. Journal of The Science of Food and Agriculture. Vol. 35. pp: 154 - 164.

Buenrostro J. 1990. Control de Calidad en alimentos extruídos con Soya. Memorias del Seminario de Extrusión en Alimentos Balanceados. 25 de Mayo. Guadalajara, Jal. pp: 136-139.

Castro-Campos E. 1987. Erosiones a la Molleja y Vómito Negro Aviar: Prevención a través del Control de Calidad a las Harinas de Pescado. Avicultura Profesional. Vol. 5 (2): 55 - 56.

Castro Campos E. 1990. Harinas de Pescado: Utilizacion y Principales Problemas Asociados a su Uso en Distintas Especies. Servicios Alimenticios Mejorados. Symposium: Metionina-Harina de Pescado. Ixtapa, Zihuatanejo. Méx. 43 p.

Castro-Campos E. 1991. Métodos de Control de Calidad Biotoxicológico en Harinas de Pescado. Fundación Chile. Santiago de Chile.

Castro Campos Emilio S. 1991. A research proposal for the evaluation of the possible toxicological effects in salmon feeding of the biogenic amine and gizzerosine content found in fishmeals causatives of Gizzard Erosion and Black Vomit in chicks. Fundación Chile. Santiago, Chile.

Cía. Pesquera San Pedro. 1991. Manual de Harinas de Pescado. Santiago de Chile. pp: 56

Corrales R. 1988. Elaboración de Harinas de Pescado. Memorias del Seminario Nacional de Nutrición y Alimentación Acuícola. F.C.B. de la U.A.N.L. Monterrey, N.L. Méx. pp: 112 - 132.

Cruz Suárez. L.E. 1988. Necesidades Nutricionales de Crustáceos. Proteínas y Aminoácidos. Memorias del Seminario Nacuional de Nutrición y Alimentación Acuícola. F.C.B. de la U.A.N.L. Monterrey, N.L. Méx. pp: 15 - 37.

Cruz Suárez. L. E. 1991(a). Fisiología de la Digestión de Crustáceos y su relación con la Composición de los Insumos que Deben Usarse en la Formulación de Alimentos Balanceados. Memorias del Curso-Taller. Tópicos sobre Nutrición y Alimentación Acuícola. Centro de Investigaciones biológicas, UAEM. Editado por AMENA.. pp: 33 - 41.

Cruz Suárez L. E. 1991(b). Nutrición y Alimentación del Camarón. Memorias del Curso-Taller. Tópicos sobre Nutrición y *Alimentación Animal*. Centro de Investigaciones Bioloógicas, UAEM. Editado por AMENA. pp: 84 - 96.

Chávez. M. C. 1991. El Vómito Negro un problema Factible en Acuacultura. Memorias del Curso-Taller. Tópicos sobre Nutrición y Alimentación Acuícola. Centro de Investigaciones Bioloógicas, UAEM. Editado por AMENA. pp: 78 - 83.

FAO. 1980. "Fish Feed Technology". Aquaculture Development and Coordination Programme. Washington, U.S.A. (varios autores).

Galleguillos A. M. 1993. Aminas Biogénicas. Nuevos Indicadores Químicos Utilizados como criterios de Calidad en Harinas de Pescado. FAO. I Curso Regional de Capacitación en Control de Calidad de Insumos y

Dietas Acuícolas para Latinoamérica. Septiembre. Fundación Chile. Santiago, de Chile.

González D. N. 1985. Vómito Negro: Efecto del Calor y Secado de la Harina de Pescado. Avicultura Profesional. Vol. 3 (1):

Hardy J. 1991. Mixit-2+. Least-Cost Ration Balancing. Agricultural Software Consultants Inc. Second Printing. Kinguille, Tx. U.S.A. 336p.

Hardy R.W. Feed Manufacturing and Use. Takeda Chemical Industries LTD. Food and Vitamin Division pp: 1 - 48.

Hardy R.W. and T. Masumoto. 1991. Specifications for Marine By-Products for Aquaculture. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop. Edited by D. Akiyama nad R. Tan. Thailand and Indonesia. Septiembre. pp: 99 -108.

Harry G., J. F. Tucker and A.P. Laursen-Jones, 1975. The Role of Histamine and Fishmeal in the Incidence of Gizzard Erosion and Proventricular Abnormalites. Br. Poultry Sci. 16: 69 - 78.

Huisman T., G. F. Kempen, K. D. Bost, A. M. Verstraten and J. M. Fentener van Vlissingen. 1992. Effect of Fish Meal Quality and Biogenic Amines on Performance of Piglets and Chickens. TNO. Nutrititon & Food Research, Anual Report, Nutrition Institution.: 12 - 13.

IAFMM. 1985 (a). Boletín Técnico. Método de Muestreo Recomendado para el Análisis de Harina de pescado. Hoval House, Mutton Lane, Potters Bar. Herts. EN6 3AK, U.K.

IAFMM. 1985 (b). Boletín Técnico. Análisis de Nutrientes de Harina de Pescado Chilena. Hoval House, Mutton Lane, Potters Bar. Herts. EN6 3AK, U.K.

IAFMM. Gizzard Erosion in Poultry in The UK. Hoval House, Mutton Lane, Potters Bar. Herts. EN6 3AK, U.K.

Ito Y., T. Noguchi and I. Naito. 1985. Fluorimetric Determination of Gizzerosine, a Histamine H_2-Receptor Agonist Discovered in Feedstuffs, Employing High-Performance Liquid Chromatography. Analytical Biochemistry 151: 28 - 31.

Ito Y., H. Terao, T. Noguchi and H. Natio. 1988. Gizzerosine Raises the Intracellular Cyclic Adenosine-3', 5'-Monophosphate Level in Isolated Chicken Proventriculus.Poultry Science 67: 1290- 1294.

Jansssen W. 1971. The Influence of Feeding on Gizzard Erosion in Broilers. Arduiv Fur Gaflugelkunde. 137 - 141.

Masumara T., M. Sugahara, T. Noguchi, K. Mori and H. Naito. 1985. The Effect of Gizzerosine, a Recently Discovered Compound in Overheated Fish Meal, *on* the Gastric Acid Secretion in Chiken. Poultry Science 64: 356 - 361.

Martin R. E. and G. J. Flick. 1990. The Seafood Industry. Van Nostrand Reinhold N.Y., U. S.A. 445 p.

Morales B. E., E. Avila y C. López. 1991. Evaluación del Contenido de Mollerosina en dos Harinas de Pescado Mexicanas y su Efecto en la Presentación de *Vómito* Negro en Pollos. Vet. Mex.; XXII (2): 151 - 158.

New Michael B. 1987. "Feed and Feeding of Fish and Shirmp". A manual on the preparation and presentation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture.FAO and UNEP.

NRC. 1983. Nutrient Requeriments of Warmwater Fishes and Shellfishes. National Academy Press. Washington, U.S.A.

Okazaki T., T. Noguchi, K. Igarashi, Y. Sakagami, H. Seto, K. Mori, Naito, T. Masumara and M. Sugahara. 1983. Gizzerosine, a New Toxic Substance in Fish Meal, Causes Severe Gizzard Erosion in Chicks. Agric. Biol. Chem. 47: 2949-2952

Opstvedt J. 1985. Lípidos de Pescado en Nutrición Animal. IAFMM. Boletín Técnico No. 22. Norwegian Herrong oil and meal Industry Research Institute. 5033 54 Llingsdaclen, Noruega. 14p.

Orbe M. A. y A. Arias. 1987. Métodos del Cultivo de Camarón en México. Secretaría de Pesca. 27p.

Osuna O. 1984. Toxicología Aviar: Vómito Negro - La Histidina y la Mollerosina en la Harina de Pescado. Avicultura Profesional. Vol. 2 (3): 111 - 115.

Osuna O. 1989. Toxicología Aviar, Concentraciones límite, Formación, absorción y Tratamientos de la Mollerosina en el Vómito Negro . Avic. Profesional 6: 149 - 151.

Pike I. H. 1990. The Role of Fish oil in Feeds for Farmed Fish. Estimated Current and Potential Use. IAFMM.

Pike I. H., G. Andorsdóttir and H. Mundheim. 1990. The Role of Fish Meal in Diets for Salmonids. I.A.F.M.M.

Pike I. H. and R. Hardy. 1992. Shrimp Feed Ingredient Quality Standards. I.A.F.M.M.

Poole D. R. 1993. Las Aminas Biogénicas pueden afectar el Desempeño de las Aves de Corral. Memorias del Seminario Técnico sobre Nutrición Avícola. Editado por Degussa , Mex. S.A. y ASA. 25 de marzo.Mty. N.L. pp: 33 40.

Rodríguez R. H. 1990. Efecto de Tratamientos Térmicos en Harinas de Pescado Chilenas y su Incidencia en el Vómito Negro en Pollos de Engorda en Períodos de 0 - 4 semanas. Tesis Inédita de Maestría en ProducciOn Animal. Fac. de Med. Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México, D.F. 68 p.

Rosenberry B. 1989. World Shrimp Farming. Published by Aquaculture Digest. San Diego, CA. U.S.A. 58 p.

Rosenberry B. 1993. World Shrimp Farming. Published by Aquaculture Digest. San Diego, CA. U.S.A. 52 p.

Stansby M.E. and N.L. Karrick. 1963. Fish Meal Quality. Industrial Fishery Technology. Robert E. Krieger Publishing Company. pp: 245 - 253.

Tacon Albert G. J. 1987. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp - A training Manual. I. The Essential Nutrients. FAO.

Tacon Albert G. J. 1989. Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados. Manual de Capacitación. Documento de Campo. Proyecto Aquila II. FAO. 572 p.

Veciana N. 1990. Histamine and Tyramine during Storage and Spoilage of Anchovie Engraulis encrasicholus : Relationship with other Fish Spoilage Indicators. J. of Food Sci. Vol 55 (4) : 32 - 40.

Uriarte Pérez L.A. 1991. Requerimientos Nutricionales en Acuacultura. Memorias del Curso-Taller. Tópicos sobre Nutirición y Alimentación Acuícola. Universidad Autónoma del Edo. de Morelos. pp: 1 -23.

Wagner N. 1993. La Influencia de la Variabilidad de las Materias Primas sobre la Calidad del Alimento Balanceado. Memorias del Seminario Técnico sobre Nutrición Avicola. Editado por Degussa, Mex. S.A. y por ASA. 25 de Marzo. Mty. N.L. pp: 1 - 12.

Watanabe T., T. takeuchi, S. Satoh, K. Toyana and M. Okusumi. 1987. "Effect of Dietary Histidine or Histamine on Growth and Development of Stomach Erosion in Rainbow Trout. Nipon Suisan Gakkaishi. 53 (7): 1207 - 1214.

Wesche Ebeling P. 1991. Control de Calidad del Alimento en Acuacultura. Memorias del Curso-Taller.Tópicos sobre Nutrición y Alimentación Acuícola. UAEM. pp: 108-144.

Windso r M. y S. Barlow. 1984. Introducción a los subproductos de Pesquería.1era. Edición. Ed. Acriba. España. 207 p.

Zaldivar J. 1992. Criterios de Calificación de Harinas de Pescado. CORPESCA. pp: 43 - 47

Osuna O. 1985. Toxicología Aviar: Vómito Negro - Modelos Experimentales y Concetraciones de Histidina en la Harina de Pescado. Avicultura Profesional. Vol. 2 (4): 143 - 146.

Osuna O. 1989. Toxicología Aviar, Concentraciones límite, Formación, absorción y Tratamientos de la Mollerosina en el Vómito Negro . Avic. Profesional 6: 149 - 151.

Pike I. H. 1990. The Role of Fish oil in Feeds for Farmed Fish. Estimated Current and Potential Use. IAFMM.

Pike I. H., G. Andorsdóttir and H. Mundheim. 1990. The Role of Fish Meal in Diets for Salmonids. I.A.F.M.M.

Pike I. H. and R. Hardy. 1992. Shrimp Feed Ingredient Quality Standards. I.A.F.M.M.

Poole D. R. 1993. Las Aminas Biogénicas pueden afectar el Desempeño de las Aves de Corral. Memorias del Seminario Técnico sobre Nutrición Avícola. Editado por Degussa , Mex. S.A. y ASA. 25 de marzo.Mty. N.L. pp: 33 40.

Rodríguez R. H. 1990. Efecto de Tratamientos Térmicos en Harinas de Pescado Chilenas y su Incidencia en el Vómito Negro en Pollos de Engorda en Períodos de 0 - 4 semanas. Tesis Inédita de Maestría en ProducciOn Animal. Fac. de Med. Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México, D.F. 68 p.

Rosenberry B. 1989. World Shrimp Farming. Published by Aquaculture Digest. San Diego, CA. U.S.A. 58 p.

Rosenberry B. 1993. World Shrimp Farming. Published by Aquaculture Digest. San Diego, CA. U.S.A. 52 p.

Stansby M.E. and N.L. Karrick. 1963. Fish Meal Quality. Industrial Fishery Technology. Robert E. Krieger Publishing Company. pp: 245 - 253.

Tacon Albert G. J. 1987. The Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp - A training Manual. I. The Essential Nutrients. FAO.

Tacon Albert G. J. 1989. Nutrición y Alimentación de Peces y Camarones Cultivados. Manual de Capacitación. Documento de Campo. Proyecto Aquila II. FAO. 572 p.

Veciana N. 1990. Histamine and Tyramine during Storage and Spoilage of Anchovie Engraulis encrasicholus : Relationship with other Fish Spoilage Indicators. J. of Food Sci. Vol 55 (4) : 32 - 40.

Uriarte Pérez L.A. 1991. Requerimientos Nutricionales en Acuacultura. Memorias del Curso-Taller. Tópicos sobre Nutirición y Alimentación Acuícola. Universidad Autónoma del Edo. de Morelos. pp: 1 -23.

Wagner N. 1993. La Influencia de la Variabilidad de las Materias Primas sobre la Calidad del Alimento Balanceado. Memorias del Seminario Técnico sobre Nutrición Avicola. Editado por Degussa, Mex. S.A. y por ASA. 25 de Marzo. Mty. N.L. pp: 1 - 12.

Watanabe T., T. takeuchi, S. Satoh, K. Toyana and M. Okusumi. 1987. "Effect of Dietary Histidine or Histamine on Growth and Development of Stomach Erosion in Rainbow Trout. Nipon Suisan Gakkaishi. 53 (7): 1207 - 1214.

Wesche Ebeling P. 1991. Control de Calidad del Alimento en Acuacultura. Memorias del Curso-Taller.Tópicos sobre Nutrición y Alimentación Acuícola. UAEM. pp: 108-144.

Windso r M. y S. Barlow. 1984. Introducción a los subproductos de Pesquería.1era. Edición. Ed. Acriba. España. 207 p.

Zaldivar J. 1992. Criterios de Calificación de Harinas de Pescado. CORPESCA. pp: 43 - 47

ANEXO I.

APORTE DE NUTRIENTES DEL BIOENSAYO FRESCURA.

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA FORMULA.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		*D.F.	D.M.F.	D.D
Proteina.	(%)	35.0	35.0	35.0
E. Etéreo.	(%)	7.0	7.0	7.0
Fibra.	(%)	1.9	1.9	1.9
Ceniza.	(%)	6.6	6.8	6.7
E.L.N.	(%)	41.8	41.1	41.1
Humedad.	(%)	4.3	4.9	5.1
Arginina.	(%)	1.8	1.9	1.9
Glicina.	(%)	1.6	1.6	1.6
Histidina.	(%)	1.6	1.6	1.6
Isoleucina	(%)	1.6	1.6	1.6
Leucina.	(%)	2.9	2.9	2.9
Lisina.	(%)	2.1	2.1	2.1
Metionina.	(%)	0.8	0.8	0.8
Cisteína.	(%)	1.2	1.3	1.4
Fenilala.	(%)	3.6	3.5	3.4
Tirosina.	(%)	1.1	1.1	1.1
Serina.	(%)	1.3	1.3	1.3
Treonina.	(%)	1.3	1.3	1.3
Triptofano	(%)	0.3	0.3	0.3
Valina.	(%)	3.4	3.3	3.2
Calcio.	(%)	1.7	1.7	1.7
Fósforo.	(%)	1.3	1.4	1.4
Potasio.	(%)	0.5	0.6	0.6
Cloro.	(%)	0.4	0.4	0.4
Magnesio.	(%)	0.1	0.1	0.1
Sodio.	(%)	0.3	0.3	0.3
Azufre.	(%)	0.3	0.3	0.3
Cobre.	(mg/Kg)	7.9	8.4	8.7
Hierro.	(mg/Kg)	118.1	120.3	122.2
Manganeso.	(mg/Kg)	10.1	10.6	11.1
Selenio.	(mg/Kg)	0.5	0.5	0.5
Zinc.	(mg/Kg)	54.2	55.0	55.6
Biotina.	(mg/Kg)	0.1	0.1	0.1
Colina.	(mg/Kg)	2058	2093	2123
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.4	0.4	0.4
Niacina.	(mg/Kg)	32.4	32.7	33.0
Ac. Pantoténico.		8.0	8.2	8.3
Vit. B6	(mg/Kg)	3.0	3.1	3.2
Riboflavina.	(mg/Kg)	3.1	3.1	3.2
Tiamina.	(mg/Kg)	1.4	1.5	1.6
Vit. B12	(mg/Kg)	64.2	64.2	64.2
Vit. E.	(mg/Kg)	5.4	5.4	5.4
Inositol.	(%)	0.06	0.06	0.06

*D.F.= Dieta con harina de pescado fresca.
D.M.F. = Dieta con harina de pescado Moderadamente fresca.
D.D. = Dieta con harina de pescado Descompuesta

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		*H. P. FRESCA	H. P. M.F.	H. P DESCOMPUESTA
Proteina.	(%)	66.9	64.8	63.0
E. Etéreo.	(%)	7.3	8.9	9.8
Fibra.	(%)	1.0	1.0	1.0
Ceniza.	(%)	11.3	11.4	10.7
E.L.N.	(%)	6.7	4.8	5.8
Humedad.	(%)	7.8	9.3	9.7
Arginina.	(%)	3.8	3.7	3.6
Glicina.	(%)	3.7	3.6	3.5
Histidina.	(%)	1.6	1.5	1.5
Isoleucina	(%)	3.1	3.0	2.9
Leucina.	(%)	5.0	4.9	4.8
Lisina.	(%)	5.1	4.9	4.8
Metionina.	(%)	2.0	1.9	1.9
Cisteína.	(%)	0.6	0.5	0.5
Fenilala.	(%)	2.8	2.7	2.6
Tirosina.	(%)	2.3	2.2	2.1
Serina.	(%)	2.4	2.3	2.3
Treonina.	(%)	2.8	2.7	2.6
Triptofano	(%)	0.7	0.7	0.7
Valina.	(%)	3.5	3.4	3.3
Calcio.	(%)	3.7	3.7	3.7
Fósforo.	(%)	2.4	2.4	2.4
Potasio.	(%)	0.7	0.7	0.7
Cloro.	(%)	1.0	1.0	1.0
Magnesio.	(%)	0.2	0.2	0.2
Sodio.	(%)	0.9	0.9	0.9
Azufre.	(%)	0.7	0.7	0.7
Cobre.	(mg/Kg)	9.0	9.0	9.0
Hierro.	(mg/Kg)	218	218	218
Manganeso.	(mg/Kg)	11.0	11.0	11.0
Selenio.	(mg/Kg)	1.3	1.3	1.3
Zinc.	(mg/Kg)	105	105	105
Biotina.	(mg/Kg)	0.2	0.2	0.2
Colina.	(mg/Kg)	3709	3709	3709
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.2	0.2	0.2
Niacina.	(mg/Kg)	82.0	82.0	82.0
Ac. Pantoténico.		10.0	10.0	10.0
Vit. B6	(mg/Kg)	4.6	4.6	4.6
Riboflavina.	(mg/Kg)	7.5	7.5	7.5
Tiamina.	(mg/Kg)	0.5	0.5	0.5
Vit. B12	(mg/Kg)	214	214	214
Vit. E.	(mg/Kg)	5.0	5.0	5.0
Inositol	(mg/Kg)	0.0	0.0	0.0

* H.P. = Harina de pescado.
** M.F. = Harina de pescado medianamente fresca.
Los datos se tomaron del NRC. 1983. National Academy Press. FAO and UNEP

Las harinas de pescado con diferente grado de frscura fueron proporcionadas por el Dr. Ian H. Pike Director de Nutrición de la Asociación Internacional de Productores de Harina y Aceite de Pescado (IFOMA) en U.K.
El resto de los ingredientes fue proporcionado por Nutrientes del Pacífico (NUTRIPAC), Culiacán, Sin.

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE.

NUTRIENTES		*H. SOYA	H. CAMARON.	GLUTEN MAIZ	H. TRIGO
BASE HUMEDA		1	1		1
Proteina.	(%)	43.7	32.7	44.7	11.4
E. Etéreo.	(%)	2.2	7.7	2.2	1.0
Fibra.	(%)	2.4	5.7	3.0	2.0
Ceniza.	(%)	7.2	27.2	27.2	0.5
E.L.N.	(%)	37.0	22.9	38.7	79.3
Humedad.	(%)	7.2	3.5	3.2	1.7
Arginina.	(%)	2.9	2.0	1.4	0.4
Glicina.	(%)	1.7	0.0	1.5	0.4
Histidina.	(%)	1.0	0.7	1.0	2.4
Isoleucina	(%)	1.9	1.3	2.3	0.4
Leucina.	(%)	3.1	2.0	7.5	0.8
Lisina.	(%)	2.6	1.7	0.8	0.2
Metionina.	(%)	0.5	0.6	1.0	0.1
Cisteína.	(%)	7.3	0.4	0.7	0.3
Fenilala.	(%)	2.0	1.3	2.9	5.8
Tirosina.	(%)	1.2	1.0	1.0	0.3
Serina.	(%)	2.0	0.0	1.8	0.5
Treonina.	(%)	1.6	1.1	1.4	0.3
Triptofano	(%)	0.6	0.2	0.2	0.1
Valina.	(%)	1.9	1.5	2.2	4.8
Calcio.	(%)	0.3	9.7	0.15	0.03
Fósforo.	(%)	3.0	1.8	0.4	0.2
Potasio.	(%)	1.9	0.8	0.03	0.1
Cloro.	(%)	0.04	1.0	0.6	0.1
Magnesio.	(%)	0.2	0.5	0.06	0.05
Sodio.	(%)	0.04	1.5	0.09	0.01
Azufre.	(%)	0.4	0.0	0.3	0.2
Cobre.	(mg/Kg)	23.0	0.0	28.0	1.0
Hierro.	(mg/Kg)	119.	105	386	5.0
Manganeso.	(mg/Kg)	29.0	30.0	8.0	3.0
Selenio.	(mg/Kg)	0.3	0.0	1.0	0.1
Zinc.	(mg/Kg)	43.0	28.0	174	6.0
Biotina.	(mg/Kg)	0.3	0.0	0.1	0.0
Colina.	(mg/Kg)	2614	5498	3.5	829
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.7	0.0	3.0	0.1
Niacina.	(mg/Kg)	28.0	0.0	0.51	12.0
Ac. Pantoténico.		16.3	0.0	10.2	6.1
Vit. B6	(mg/Kg)	6.0	0.0	8.0	0.9
Riboflavina.	(mg/Kg)	2.9	4.0	1.6	0.5
Tiamina.	(mg/Kg)	5.6	0.0	0.2	1.8
Vit. B12	(mg/Kg)	0.0	0.0	0.0	0.0
Vit. E.	(mg/Kg)	3.0	0.0	31.0	3.0

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		LECITINA. SOYA 1	ACEITE. PESCADO 1
Proteina.	(%)	0.0	0.0
E. Etéreo.	(%)	97.0	100
Fibra.	(%)	0.0	0.0
Ceniza.	(%)	0.0	0.0
E.L.N.	(%)	0.0	0.0
Humedad.	(%)	3.0	0.0
Arginina.	(%)	0.0	0.0
Glicina.	(%)	0.0	0.0
Histidina.	(%)	0.0	0.0
Isoleucina	(%)	0.0	0.0
Leucina.	(%)	0.0	0.0
Lisina.	(%)	0.0	0.0
Metionina.	(%)	0.0	0.0
Cisteína.	(%)	0.0	0.0
Fenilala.	(%)	0.0	0.0
Tirosina.	(%)	0.0	0.0
Serina.	(%)	0.0	0.0
Treonina.	(%)	0.0	0.0
Triptofano	(%)	0.0	0.0
Valina.	(%)	0.0	0.0
Calcio.	(%)	0.07	0.0
Fósforo.	(%)	3.0	0.1
Potasio.	(%)	1.2	0.0
Cloro.	(%)	0.0	0.0
Magnesio.	(%)	0.1	0.0
Sodio.	(%)	0.03	0.0
Azufre.	(%)	0.0	0.07
Cobre.	(mg/Kg)	0.0	3.0
Hierro.	(mg/Kg)	0.0	5.0
Manganeso.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Selenio.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Zinc.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Biotina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Colina.	(mg/Kg)	3.6	0.0
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Niacina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Ac. Pantoténico.		0.0	0.0
Vit. B6	(mg/Kg)	0.0	0.0
Riboflavina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Tiamina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Vit. B12	(mg/Kg)	0.0	0.0
Vit. E.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Inositol	(mg/Kg)	2.2	0.0

ANEXO II.

DESCRIPCION GRAFICA DE LA SALA DE BIOENSAYOS.

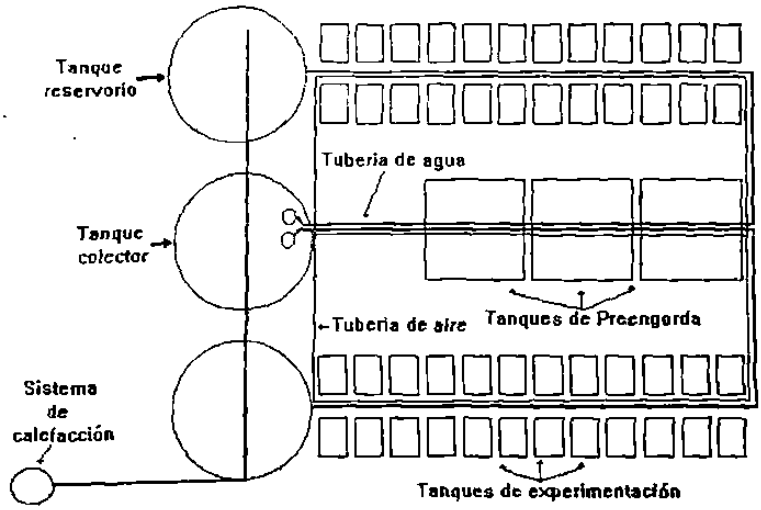


Figura No. 5. Vista superior de la sala de bioensayo.

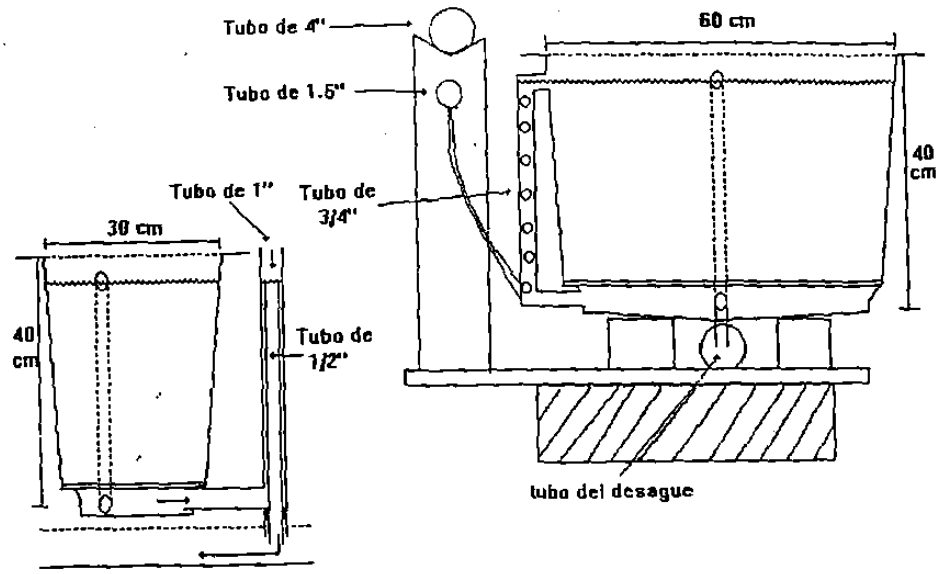


Figura No. 6. Estructura de los acuarios de experimentación de la sala de bioensayos.

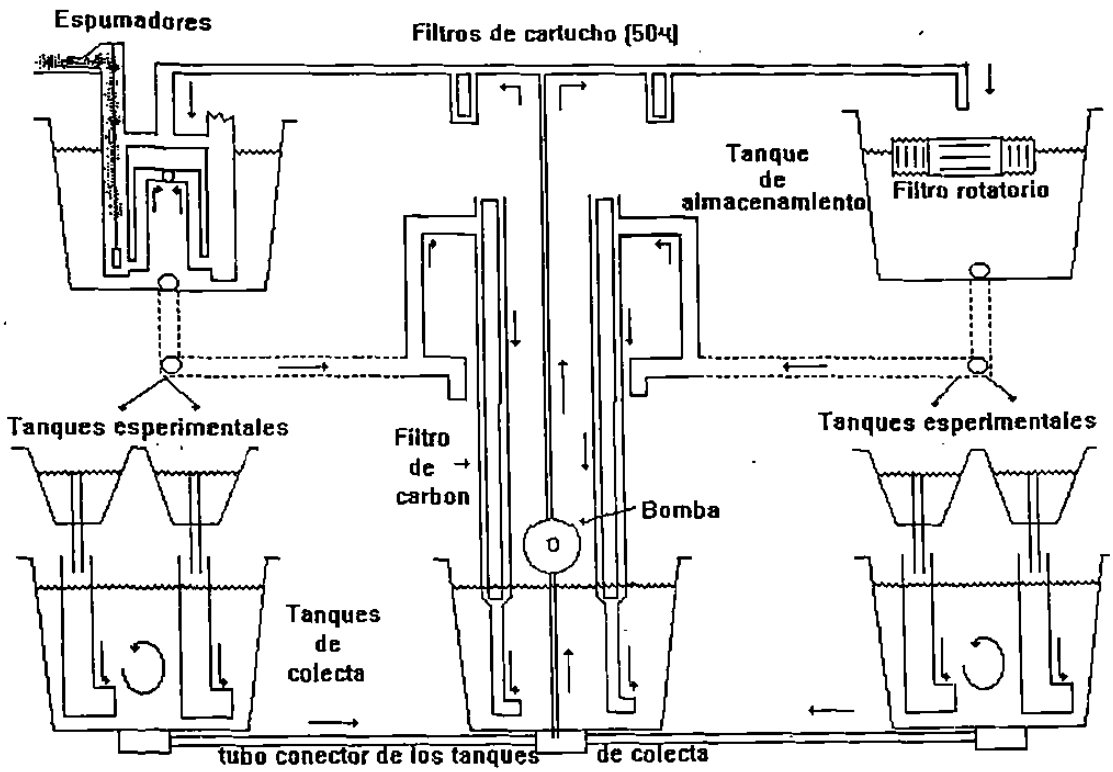


Figura No. 7. Sistema de la recirculación del agua de la sala de bioensayos.

ANEXO III.

APORTE DE NUTRIENTES DEL BIOENSAYO BIOTOXICOLOGICO.

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA FORMULA.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		*DN_a	DN_b.	DM_a	DM_b
Proteina.	(%)	35.0	35.0	35.0	35.0
E. Etéreo.	(%)	7.0	7.0	7.0	7.0
Fibra.	(%)	2.3	2.3	2.5	2.3
Ceniza.	(%)	6.0	6.9	7.1	6.1
E.L.N.	(%)	44.2	44.0	42.9	44.3
Humedad.	(%)	7.6	7.4	7.9	7.8
Arginina.	(%)	1.8	1.8	1.8	1.8
Glicina.	(%)	1.6	1.6	1.6	1.6
Histidina.	(%)	1.7	1.7	1.7	1.7
Isoleucina	(%)	1.5	1.5	1.5	1.5
Leucina.	(%)	2.6	2.6	2.6	2.6
Lisina.	(%)	2.0	2.0	2.0	2.0
Metionina.	(%)	0.8	0.8	0.8	0.8
Cisteína.	(%)	0.5	0.5	0.5	0.5
Fenilala.	(%)	3.9	3.8	3.7	3.9
Tirosina.	(%)	1.1	1.1	1.1	1.1
Serina.	(%)	1.4	1.4	1.4	1.4
Treonina.	(%)	1.3	1.3	1.2	1.3
Triptofano	(%)	0.3	0.3	0.3	0.3
Valina.	(%)	3.6	3.6	3.4	3.6
Calcio.	(%)	1.3	1.6	1.4	1.2
Fósforo.	(%)	1.4	1.5	1.4	1.2
Potasio.	(%)	0.6	0.6	0.7	0.6
Cloro.	(%)	0.3	0.3	0.3	0.3
Magnesio.	(%)	0.1	0.1	0.1	0.1
Sodio.	(%)	0.3	0.3	0.3	0.3
Azufre.	(%)	0.3	0.3	0.3	0.3
Cobre.	(mg/Kg)	6.1	6.2	6.9	6.1
Hierro.	(mg/Kg)	88.9	89.8	93.4	89.1
Manganeso.	(mg/Kg)	8.2	8.4	9.3	8.3
Selenio.	(mg/Kg)	0.5	0.5	0.5	0.5
Zinc.	(mg/Kg)	45.8	46.0	47.2	45.8
Biotina.	(mg/Kg)	0.09	0.09	0.1	0.09
Colina.	(mg/Kg)	1893	1907	1964	1894
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.1	0.1	0.2	0.1
Niacina.	(mg/Kg)	33.5	33.6	34.1	33.5
Ac. Pantoténico.		7.7	7.7	8.1	7.7
Vit. B6	(mg/Kg)	2.3	2.4	2.5	2.3
Riboflavina.	(mg/Kg)	2.8	2.8	2.9	2.8
Tiamina.	(mg/Kg)	1.6	1.6	1.7	1.6
Vit. B12	(mg/Kg)	64.2	64.2	64.2	64.2
Vit. E.	(mg/Kg)	3.4	3.4	3.4	3.4
Inositol.	(%)	0.05	0.05	0.05	0.05

* DN_a = Dieta con harina de pescado normal (a).
DN_b = Dieta con harina de pescado normal (b).
DM_a = Dieta con harina de pescado de toxicidad media (a).
DM_b = Dieta con harina de pescado de toxicidad media (b).

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		*H. P. NORMAL(a)	H. P. NORMAL(b)	H. P MEDIANA (a)	H.P. MEDIANA (b)
Proteina.	(%)	68.7	67.10	64.0	67.8
E. Etéreo.	(%)	7.2	7.5	7.1	6.6
Fibra.	(%)	1.0	1.0	1.0	1.0
Ceniza.	(%)	14.6	11.4	10.7	14.8
E.L.N.	(%)	0.0	0.30	1.0	1.0
Humedad.	(%)	8.1	7.4	9.6	8.8
Arginina.	(%)	3.9	3.8	3.6	3.8
Glicina.	(%)	3.8	3.7	3.5	3.8
Histidina.	(%)	1.6	1.6	1.5	1.6
Isoleucina	(%)	3.2	3.1	3.0	3.1
Leucina.	(%)	5.1	5.0	4.8	5.1
Lisina.	(%)	5.2	5.1	4.8	5.1
Metionina.	(%)	2.0	2.0	1.9	2.0
Cisteína.	(%)	0.6	0.6	0.5	0.6
Fenilala.	(%)	2.9	2.8	2.6	2.8
Tirosina.	(%)	2.3	2.2	2.1	2.3
Serina.	(%)	2.5	2.4	2.3	2.4
Treonina.	(%)	2.8	2.8	2.6	2.8
Triptofano	(%)	0.7	0.7	0.7	0.5
Valina.	(%)	3.6	3.5	3.3	3.6
Calcio.	(%)	3.7	4.5	3.7	3.2
Fósforo.	(%)	3.0	3.3	2.6	2.3
Potasio.	(%)	0.7	0.7	0.7	0.7
Cloro.	(%)	1.0	1.0	1.0	1.0
Magnesio.	(%)	0.2	0.2	0.2	0.2
Sodio.	(%)	0.9	0.9	0.9	0.9
Azufre.	(%)	0.7	0.7	0.7	0.7
Cobre. (mg/Kg)		9.0	9.0	9.0	9.0
Hierro. (mg/Kg)		218	218	218	218
Manganeso.(mg/Kg)		11.0	11.0	11.0	11.0
Selenio.(mg/Kg)		1.3	1.3	1.3	1.3
Zinc. (mg/Kg)		105	105	105	105
Biotina. (mg/Kg)		0.2	0.2	0.2	0.2
Colina. (mg/Kg)		3709	3709	3709	3709
Ac. Fólico .(mg/Kg)		0.2	0.2	0.2	0.2
Niacina. (mg/Kg)		82.0	82.0	82.0	82.0
Ac. Pantoténico.		10.0	10.0	10.0	10.0
Vit. B6 (mg/Kg)		4.6	4.6	4.6	4.6
Riboflavina. (mg/Kg)		7.5	7.5	7.5	7.5
Tiamina. (mg/Kg)		0.5	0.5	0.5	0.5
Vit. B12 (mg/Kg)		214	214	214	214
Vit. E. (mg/Kg)		5.0	5.0	5.0	5.0
Inositol (%)		0.0	0.0	0.0	0.0

* H.P. = Harina de pescado

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		*H. SOYA 2	H. CAMARON 2	H. TRIGO 2	GLUTEN TRIGO
Proteina.	(%)	39.9	43.4	10.6	68.5
E. Etéreo.	(%)	0.5	4.2	1.3	0.6
Fibra.	(%)	7.0	12.2	2.0	3.0
Ceniza.	(%)	7.5	27.3	0.9	0.9
E.L.N.	(%)	39.6	6.0	79.3	38.7
Humedad.	(%)	5.2	6.7	8.5	6.1
Arginina.	(%)	2.6	2.7	0.3	2.5
Glicina.	(%)	1.6	0.0	0.3	2.5
Histidina.	(%)	0.9	1.0	2.2	1.4
Isoleucina	(%)	1.8	1.8	0.4	2.7
Leucina.	(%)	2.9	2.9	0.7	5.1
Lisina.	(%)	2.3	2.3	0.2	1.4
Metionina.	(%)	0.4	0.9	0.1	1.0
Cisteína.	(%)	0.6	0.6	0.2	1.7
Fenilala.	(%)	1.8	1.7	5.4	3.5
Tirosina.	(%)	1.1	1.4	0.3	1.9
Serina.	(%)	1.8	0.0	0.5	3.4
Treonina.	(%)	1.4	1.5	0.3	1.9
Triptofano	(%)	0.5	0.3	0.1	0.7
Valina.	(%)	1.7	1.9	4.5	2.9
Calcio.	(%)	0.3	9.7	0.03	0.5
Fósforo.	(%)	3.0	1.8	0.2	1.5
Potasio.	(%)	1.9	0.8	0.1	1.9
Cloro.	(%)	0.04	1.0	0.1	0.02
Magnesio.	(%)	0.2	0.5	0.05	0.1
Sodio.	(%)	0.04	1.5	0.01	0.04
Azufre.	(%)	0.4	0.0	0.2	0.5
Cobre.	(mg/Kg)	23.0	0.0	1.0	13.0
Hierro.	(mg/Kg)	119	105	5.0	118
Manganeso.	(mg/Kg)	29.0	30.0	3.0	8.0
Selenio.	(mg/Kg)	0.3	0.0	0.1	1.0
Zinc.	(mg/Kg)	43.0	28.0	6.0	93.0
Biotina.	(mg/Kg)	0.3	0.0	0.0	0.0
Colina.	(mg/Kg)	2614	5498	829	829
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.7	0.0	0.1	0.1
Niacina.	(mg/Kg)	28.0	0.0	12.0	12.0
Ac. Pantoténico.		16.3	0.0	6.1	6.0
Vit. B6	(mg/Kg)	6.0	0.0	0.9	0.9
Riboflavina.	(mg/Kg)	2.9	4.0	0.5	0.5
Tiamina.	(mg/Kg)	5.6	0.0	1.8	1.8
Vit. B12	(mg/Kg)	0.0	0.0	0.0	0.0
Vit. E.	(mg/Kg)	3.0	0.0	3.0	3.0
Inositol (%)		0.0	0.0	0.0	0.0

APORTE TEORICO DE NUTRIENTES DE CADA INGREDIENTE.

NUTRIENTES BASE HUMEDA		LECITINA. SOYA 2	ACEITE. PESCADO 2
Proteina.	(%)	0.0	0.0
E. Etéreo.	(%)	97.0	100
Fibra.	(%)	0.0	5.7
Ceniza.	(%)	0.0	0.0
E.L.N.	(%)	0.0	0.0
Humedad.	(%)	3.0	0.0
Arginina.	(%)	0.0	0.0
Glicina.	(%)	0.0	0.0
Histidina.	(%)	0.0	0.0
Isoleucina	(%)	0.0	0.0
Leucina.	(%)	0.0	0.0
Lisina.	(%)	0.0	0.0
Metionina.	(%)	0.0	0.0
Cisteína.	(%)	0.0	0.0
Fenilala.	(%)	0.0	0.0
Tirosina.	(%)	0.0	0.0
Serina.	(%)	0.0	0.0
Treonina.	(%)	0.0	0.0
Triptofano	(%)	0.0	0.0
Valina.	(%)	0.0	0.0
Calcio.	(%)	0.07	0.0
Fósforo.	(%)	3.0	0.1
Potasio.	(%)	1.2	0.0
Cloro.	(%)	0.0	0.0
Magnesio.	(%)	0.1	0.0
Sodio.	(%)	0.03	0.0
Azufre.	(%)	0.0	0.07
Cobre.	(mg/Kg)	0.0	3.0
Hierro.	(mg/Kg)	0.0	5.0
Manganeso.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Selenio.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Zinc.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Biotina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Colina.	(mg/Kg)	3.6	0.0
Ac. Fólico.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Niacina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Ac. Pantoténico.		0.0	0.0
Vit. B6	(mg/Kg)	0.0	0.0
Riboflavina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Tiamina.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Vit. B12	(mg/Kg)	0.0	0.0
Vit. E.	(mg/Kg)	0.0	0.0
Inositol	(mg/Kg)	2.2	0.0

Las harinas de pescado de diferente score biotoxicológico y el aceite de pescado fueron proporcionados por Pesquera Guanaye, de Santiago de Chile.

El resto de los ingredientes fueron proporcionados por NUTRIPAC, Culiacán, Sin.

ANEXO IV.

ANALISIS ESTADISTICOS DEL BIOENSAYO FRESCURA.

ANALISIS DEL BIOENSAYO I.

15 CAMARONES/ACUARIO.

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA I. TASA CRECIMIENTO

Level codes: FRESCURA I. DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	517.80305	2	258.90153	4.349	.0477
Within groups	535.74858	9	59.52762		
Total (corrected)	1053.5516	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for EXPERIM1.TCRECIM by EXPERIM1.DIETA2.

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	63.527500	4.1602431	3.8577072	55.568543	71.486457
2	4	54.330000	4.3676176	3.8577072	46.371043	62.288957
3	4	47.495000	2.8743709	3.8577072	39.536043	55.453957
Total	12	55.117500	2.2272483	2.2272483	50.522394	59.712606

Multiple range analysis for EXPERIM1.TCRECIM by EXPERIM1.DIETA2

Method: 95 Percent Scheffe

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
3	4	47.495000	*
2	4	54.330000	*
1	4	63.527500	*

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA I. CONSUMO

Level codes: FRESCURA I. DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	*Sum of Squares*	*d.f.*	*Mean square*	*F-ratio*	*Sig. level*
Between groups	.1350500	2	.0675250	5.502	.0275
Within groups	.1104500	9	.0122722		
Total (corrected)	.2455000	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for EXPERIM1.CONSUMO by EXPERIM1.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	1.7525000	.0654949	.0553900	1.6382231	1.8667769
2	4	1.5075000	.0563286	.0553900	1.3932231	1.6217769
3	4	1.5550000	.0417333	.0553900	1.4407231	1.6692769
Total	12	1.6050000	.0319794	.0319794	1.5390222	1.6709778

Multiple range analysis for EXPERIM1.CONSUMO by EXPERIM1.DIETA2

Method: 95 Percent Scheffe

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
2	4	1.5075000	*
3	4	1.5550000	*
1	4	1.7525000	*

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA I. TCA

Level codes: FRESCURA I. DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.7054167	2	.3527083	1.750	.2280
Within groups	1.8138750	9	.2015417		
Total (corrected)	2.5192917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for EXPERIM1.TCA by EXPERIM1.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	2.9600000	.2398263	.2244670	2.4968951	3.4231049
2	4	3.0100000	.2214723	.2244670	2.5468951	3.4731049
3	4	3.4975000	.2111625	.2244670	3.0343951	3.9606049
Total	12	3.1558333	.1295961	.1295961	2.8884596	3.4232071

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA I. MORTALIDAD

Level codes: FRESCURA I. DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	200.0000	2	100.00001	.900	.4402
Within groups	1000.0001	9	111.11112		
Total (corrected)	1200.0001	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for EXPERIM1.MORTALIDAD by EXPERIM1.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	5.002500	1.6675000	5.2704629	-5.8711582	15.876158
2	4	15.002500	8.7661493	5.2704629	4.1288418	25.876158
3	4	10.005000	1.9254631	5.2704629	-.8686582	20.878658
Total	12	10.003333	3.0429032	3.0429032	3.7254239	16.281243

ANALISIS DEL BIOENSAYO II.

8 CAMARONES/ACUARIO.

14 DIAS.

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II (14 DIAS). T. CRECIMIENTO

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	113.11487	2	56.557433	1.039	.3926
Within groups	489.77750	9	54.419722		
Total (corrected)	602.89237	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for FRESC215.TASACRE by FRESC215.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	53.645000	1.5920453	3.6884862	46.035168	61.254832
2	4	47.450000	3.4351152	3.6884862	39.840168	55.059832
3	4	54.240000	5.1458883	3.6884862	46.630168	61.849832
Total	12	51.778333	2.1295485	2.1295485	47.384795	56.171872

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II (14 DIAS). T. CRECIMIENTO

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.2362500	2	.1181250	1.754	.2273
Within groups	.6059750	9	.0673306		
Total (corrected)	.8422250	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for FRESC215.CONSUMO by FRESC215.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	2.6525000	.1105573	.1297407	2.3848280	2.9201720
2	4	2.3150000	.0883648	.1297407	2.0473280	2.5826720
3	4	2.5400000	.1745470	.1297407	2.2723280	2.8076720
Total	12	2.5025000	.0749058	.0749058	2.3479595	2.6570405

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II (14 DIAS) TCA

Level codes: DIETA.

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0450167	2	.0225083	.310	.7408
Within groups	.6530750	9	.0725639		
Total (corrected)	.6980917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for FRESC215.TCA by FRESC215.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	3.2400000	.1351542	.1346884	2.9621201	3.5178799
2	4	3.1675000	.1062525	.1346884	2.8896201	3.4453799
3	4	3.0900000	.1576917	.1346884	2.8121201	3.3678799
Total	12	3.1658333	.0777624	.0777624	3.0053993	3.3262674

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA 2 (14 DIAS) MORTALIDAD

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	182.29167	2	91.145833	1.400	.2955
Within groups	585.93750	9	65.104167		
Total (corrected)	768.22917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for INCREMEN.MORTALIDAD by INCREMEN.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	.0000000	.0000000	4.0343577	-8.3234105	8.323410
2	4	9.3750000	5.9839194	4.0343577	1.0515895	17.698410
3	4	6.2500000	3.6084392	4.0343577	-2.0734105	14.573410
Total	12	5.2083333	2.3292375	2.3292375	.4028101	10.013857

ANALISIS DEL BIOENSAYO II.

8 CAMARONES/ACUARIO.

28 DIAS.

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II (28 DIAS) T. CRECIMIENTO

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	389.3543	2	194.67716	.640	.5495
Within groups	2735.6112	9	303.95680		
Total (corrected)	3124.9655	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for INCREMEN.TASACREC by INCREMEN.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	125.62000	2.063795	8.7171784	107.63531	143.60469
2	4	112.15250	10.606451	8.7171784	94.16781	130.13719
3	4	122.04500	10.545688	8.7171784	104.06031	140.02969
Total	12	119.93917	5.032865	5.0328653	109.55570	130.32263

ANALISIS DEL BIOENSAYO II.

8 CAMARONES/ACUARIO.

28 DIAS.

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II (28 DIAS) CONSUMO

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	2.3110167	2	1.1555083	1.383	.2993
Within groups	7.5168750	9	.8352083		
Total (corrected)	9.8278917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for INCREMEN.CONSUMO by INCREMEN.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	6.4800000	.3140329	.4569487	5.5372548	7.4227452
2	4	5.4175000	.1066439	.4569487	4.4747548	6.3602452
3	4	6.0900000	.7186214	.4569487	5.1472548	7.0327452
Total	12	5.9958333	.2638194	.2638194	5.4515391	6.5401275

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II (28DIAS) TCA.

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0288167	2	.0144083	.098	.9074
Within groups	1.3198750	9	.1466528		
Total (corrected)	1.3486917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for INCREMEN.TCA by INCREMEN.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	3.2250000	.1483521	.1914764	2.8299591	3.6200409
2	4	3.1250000	.2135611	.1914764	2.7299591	3.5200409
3	4	3.2325000	.2058468	.1914764	2.8374591	3.6275409
Total	12	3.1941667	.1105489	.1105489	2.9660897	3.4222436

One-Way Analysis of Variance

Data: FRESCURA II. (28 DIAS)MORTALIDAD

Level codes: DIETA

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	182.29167	2	91.145833	1.400	.2955
Within groups	585.93750	9	65.104167		
Total (corrected)	768.22917	11			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for INCREMEN.MORTALIDAD by INCREMEN.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	.0000000	.0000000	4.0343577	-8.3234105	8.323410
2	4	9.3750000	5.9839194	4.0343577	1.0515895	17.698410
3	4	6.2500000	3.6084392	4.0343577	-2.0734105	14.573410
Total	12	5.2083333	2.3292375	2.3292375	.4028101	10.013857

ANEXO V.

ANALISIS ESTADISTICOS DEL BIOENSAYO BIOTOXICOLOGICO.

ANALISIS ESTADISTICOS A LOS 14 DIAS DE EXPERIMENTACION.

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO (14DIAS) T. CRECIMIENTO

Level codes: DIETA.

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	1696.1363	7	242.30518	1.722	.1512
Within groups	3376.2913	24	140.67880		
Total (corrected)	5072.4276	31			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLER01.TASACREC by MOLLER01.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	120.07000	4.9625397	5.9304048	102.80121	137.33879
2	4	126.13250	6.8136449	5.9304048	108.86371	143.40129
3	4	113.25500	1.6803050	5.9304048	95.98621	130.52379
4	4	120.45000	4.2168333	5.9304048	103.18121	137.71879
5	4	119.69250	6.4576807	5.9304048	102.42371	136.96129
6	4	115.52750	5.3336438	5.9304048	98.25871	132.79629
7	4	122.72500	9.0478188	5.9304048	105.45621	139.99379
8	4	138.63250	6.1390164	5.9304048	121.36371	155.90129
Total	32	122.06063	2.0967147	2.0967147	115.95519	128.16606

One-Way Analysis of Variance

Data: MOLLER01.SOBREVIV

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO, 14 DIAS, CONSUMO

Level codes: DIETAS

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	8.46667E-005	7	1.20952E-005	.964	.4882
Within groups	2.00667E-004	16	1.25417E-005		
Total (corrected)	2.85333E-004	23			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLER01.CONSUMO by MOLLER01.DIETAS

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	3	.1320000	.0011547	.0020446	.1257646	.1382354
2	3	.1350000	.0005774	.0020446	.1287646	.1412354
3	3	.1356667	.0006667	.0020446	.1294313	.1419021
4	3	.1380000	.0010000	.0020446	.1317646	.1442354
5	3	.1323333	.0023333	.0020446	.1260979	.1385687
6	3	.1363333	.0008819	.0020446	.1300979	.1425687
7	3	.1340000	.0000000	.0020446	.1277646	.1402354
8	3	.1353333	.0049103	.0020446	.1290979	.1415687
Total	24	.1348333	.0007229	.0007229	.1326288	.1370379

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO. 14 DIAS. TCA

Level codes: DIETAS

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.3671625	7	.0524518	1.586	.2100
Within groups	.5291333	16	.0330708		
Total (corrected)	.8962958	23			

0 missing value(s) have been excluded.

One-Way Analysis of Variance

Table of means for MOLLER01.TCA by MOLLER01.DIETAS

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	3	1.5566667	.0536449	.1049934	1.2364758	1.8768575
2	3	1.6566667	.1431006	.1049934	1.3364758	1.9768575
3	3	1.8300000	.0435890	.1049934	1.5098092	2.1501908
4	3	1.7600000	.0750555	.1049934	1.4398092	2.0801908
5	3	1.6233333	.1604508	.1049934	1.3031425	1.9435242
6	3	1.8433333	.1238727	.1049934	1.5231425	2.1635242
7	3	1.7733333	.1098989	.1049934	1.4531425	2.0935242
8	3	1.4800000	.0642910	.1049934	1.1598092	1.8001908
Total	24	1.6904167	.0371208	.0371208	1.5772121	1.8036212

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO (14 DIAS) SOBREVIVENCIA

Level codes: DIETAS

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	332.13059	7	47.447227	1.932	.1083
Within groups	589.34460	24	24.556025		
Total (corrected)	921.47519	31			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLER01.SOBREVIV by MOLLER01.DIETA2

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	4	94.997500	3.1930194	2.4777018	87.782662	102.21234
2	4	96.665000	1.9254631	2.4777018	89.450162	103.87984
3	4	96.665000	1.9254631	2.4777018	89.450162	103.87984
4	4	94.997500	1.6675000	2.4777018	87.782662	102.21234
5	4	91.662500	3.1930194	2.4777018	84.447662	98.87734
6	4	96.665000	1.9254631	2.4777018	89.450162	103.87984
7	4	93.330000	2.7230161	2.4777018	86.115162	100.54484
8	4	86.662500	2.7209752	2.4777018	79.447662	93.87734
Total	32	93.955625	.8759999	.8759999	91.404794	96.50646

ANALISIS ESTADISTICOS A LOS 28 DIAS DE EXPERIMETACION.

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO. 28 DIAS. TCRECIMIENTO

Level codes: DIETAS

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	9862.151	7	1408.8788	.486	.8310
Within groups	46373.444	16	2898.3402		
Total (corrected)	56235.595	23			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLER02.TCRECIMIE by MOLLER02.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffé intervals for mean	
1	3	379.79667	28.120503	31.082365	285.00700	474.58634
2	3	359.59000	48.179695	31.082365	264.80033	454.37967
3	3	359.59333	28.120503	31.082365	264.80366	454.38300
4	3	384.84667	31.540442	31.082365	290.05700	479.63634
5	3	410.09667	30.720965	31.082365	315.30700	504.88634
6	3	349.49000	20.200000	31.082365	254.70033	444.27967
7	3	354.54333	26.243457	31.082365	259.75366	449.33300
8	3	394.94667	28.120503	31.082365	300.15700	489.73634
Total	24	374.11292	10.989276	10.989276	340.59971	407.62613

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO 28 DIAS. CONSUMO

Level codes: DIETAS

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.0009460	7	1.35137E-004	.458	.8505
Within groups	.0047207	16	2.95042E-004		
Total (corrected)	.0056666	23			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLER02.CONSUMO by MOLLER02.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Scheffe intervals for mean	
1	3	.3733333	.0096839	.0099170	.3430901	.4035766
2	3	.3770000	.0115902	.0099170	.3467568	.4072432
3	3	.3833333	.0154308	.0099170	.3530901	.4135766
4	3	.3946667	.0063333	.0099170	.3644234	.4249099
5	3	.3816667	.0038442	.0099170	.3514234	.4119099
6	3	.3880000	.0023094	.0099170	.3577568	.4182432
7	3	.3780000	.0135769	.0099170	.3477568	.4082432
8	3	.3810000	.0087178	.0099170	.3507568	.4112432
Total	24	.3821250	.0035062	.0035062	.3714324	.3928176

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO. 28 DIAS. TCA

Level codes: DIETAS

Labels:

Range test: Scheffe Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	.2202667	7	.0314667	.630	.7247
Within groups	.7991333	16	.0499458		
Total (corrected)	1.0194000	23			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLER02.TCA by MOLLER02.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Confidence intervals for mean	
1	3	1.5066667	.1424001	.1290295	1.2330685	1.7802648
2	3	1.7066667	.2444268	.1290295	1.4330685	1.9802648
3	3	1.6200000	.0635085	.1290295	1.3464018	1.8935982
4	3	1.5666667	.1105039	.1290295	1.2930685	1.8402648
5	3	1.4200000	.1011599	.1290295	1.1464018	1.6935982
6	3	1.6900000	.0950438	.1290295	1.4164018	1.9635982
7	3	1.6166667	.0635959	.1290295	1.3430685	1.8902648
8	3	1.4733333	.1166667	.1290295	1.1997352	1.7469315
Total	24	1.5750000	.0456188	.0456188	1.4782684	1.6717316

One-Way Analysis of Variance

Data: BIOTOXICOLOGICO. 28 DIAS. MORTALIDAD

Level codes: DIETAS.

Labels:

Range test: Conf. Int. Confidence level: 95

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	829.45933	7	118.49419	3.368	.0210
Within groups	562.99267	16	35.18704		
Total (corrected)	1392.4520	23			

0 missing value(s) have been excluded.

Table of means for MOLLERO2.MORTALIDAD by MOLLERO2.DIETA

Level	Count	Average	Stnd. Error (internal)	Stnd. Error (pooled s)	95 Percent Confidence intervals for mean	
1	3	2.223333	2.2233333	3.4247648	-5.038645	9.485311
2	3	8.893333	2.2233333	3.4247648	1.631355	16.155311
3	3	15.560000	5.8792375	3.4247648	8.298022	22.821978
4	3	20.000000	.0000000	3.4247648	12.738022	27.261978
5	3	20.000000	.0000000	3.4247648	12.738022	27.261978
6	3	6.670000	.0000000	3.4247648	-.591978	13.931978
7	3	11.113333	5.8798677	3.4247648	3.851355	18.375311
8	3	13.336667	3.8480399	3.4247648	6.074689	20.598645
Total	24	12.224583	1.2108372	1.2108372	9.657086	14.792080

Multiple range analysis for MOLLERO2.MORTALIDAD by MOLLERO2.DIETA

Method: 95 Percent Confidence Intervals

Level	Count	Average	Homogeneous Groups
1	3	2.223333	*
6	3	6.670000	**
2	3	8.893333	***
7	3	11.113333	**
8	3	13.336667	***
3	3	15.560000	**
4	3	20.000000	*
5	3	20.000000	*

ANEXO VI.

PUNTOS CRITICOS DE CONTROL EN EL PROCESO.

PUNTOS CRITICOS DE CONTROL EN EL PROCESO.

FRESCURA DE LA MATERIA PRIMA.

El proceso de degradación del material orgánico contenido en el sistema digestivo, como del material orgánico del propio cuerpo del pescado, se inicia al momento de su captura. La descomposición genera cambios físicos y químicos. En el aspecto físico se producen rupturas, ablandamiento, pérdidas de líquido, cambios de coloración, etc. Desde el punto de vista químico, el deterioro de la fracción proteica se produce por la acción microbiana o enzimática hidrolizando a las proteínas, aumentando el contenido de bases volátiles y aminas biogénicas; la fracción grasa comienza a oxidarse produciendo peróxidos, hidroperóxidos, etc. (Cía. Pesquera San Pedro, 1991; Pike, et.. al, 1990).

Para evitar la pérdida de frescura de la materia prima desde el momento de la captura hasta su proceso, se deben evitar los tiempos prolongados entre la pesca y la descarga en la planta. Es recomendable además, mantener el pescado en hielo durante éste período y no mezclar productos frescos con añejos. Los pozos de recepción o de almacenamiento de la materia prima de las plantas reductoras, deben estar limpios, techados y procurar no almacenar por períodos largos para evitar generar grandes cantidades de agua de sangre. En caso de que se forme es necesario separarla rápidamente de la materia prima, ya que puede ser un medio de cultivo para la formación de aminas biogénicas. (Zaldivar, 1992).

La pérdida de frescura de la materia prima, además de disminuir el valor nutricional del producto final, repercute sobre el proceso, tornándolo más difícil y menos eficiente:

- Cocción: Como ya se mencionó, uno de los objetivos de cocer la materia prima, es coagular las proteínas, que depende principalmente del pH de la materia. Al aumentar o disminuir el pH, la coagulación se aleja de lo ideal, formando geles y consecuentemente se tendrán problemas en las etapas posteriores de la elaboración de la harina de pescado. El pH varía según la especie y la frescura.

- Prensado: En las proteínas del pescado descompuesto se rompen los enlaces peptídicos (Pike, et. al, 1990) y las cadenas proteicas resultantes son más cortas, tienen menos capacidad de entrelazarse y de formar una masa firme durante la coagulación (Cía.

Pesquera, San Pedro, 1991); así mismo, el debilitamiento o ruptura de los tejidos conjuntivos orgina un producto más blando y la operación de prensado es deficiente.

- Decantación: Depende de las etapas anteriores, ya que la eficiencia de la operación dependerá del tamaño de las partículas sólidas, lo que a su vez depende de la condición histológica de la materia prima.

- Concentración: La capacidad de concentración de los equipos, depende principalmente de la viscosidad del fluído, lo cual está relacionado con la especie y la frescura de la materia (Cía. Pesquera San Pedro, 1991). El agua de los solubles concentrados son altamente peligrosos en la formación de aminas biogénicas (Zaldivar, 1992; Galleguillos, 1993) y se recomienda que los almacenamientos intermedios entre la etapa de prensado y de concentración sean lo más cortos posibles, ya que en estas operaciones se pueden dar las condiciones ideales para la descomposición de las fraciones proteicas y grasas.

La degradación de la materia prima es exponencial, en el caso de los solubles concentrados la degradación es un proceso muy acelerado (Cía. Pesquera, San pEdro, 1991).

PROCESO DE SECADO.

La operación de secado es fundamental en la calidad de la harina de pescado. Como ya se mencionó, el objetivo de esta etapa es reducir la humedad a niveles que el agua remanente no permita el crecimiento microbiano (Barlow and Windsro, 1984). Este nivel debe también ser lo suficientemente bajo para detener las reacciones químicas que puedan tener lugar, degradando el producto (Martin, and Flick, 1990). Por otro lado, la deshidratación excesiva causa grandes consecuencias desde el punto de vista nutricional y biotoxicológico, ya que reduce la biodisponibilidad aminoacídica y la digestibilidad de la proteína, disminuye el valor nutricional de vitaminas y compuestos grasos sensibles al calor y puede formar mollerosina y otros compuestos tóxicos (Osuna, 1984; Castro, 1990).

Dado lo anterior, la temperatura y tiempo de secado son dos parámetros fundamentales de controlar.

PUNTOS DE CONTROL DE LA GENERACION DE MOLLEROSINA.

Para evitar que se forme la mollerosina, la harina de pescado se debe de elaborar con materia prima fresca, la temperatura del secado debe ser moderada y los tiempos de acciOn térmica cortos. Se deben utilizar equipos adecuados y finalmente tener un estricto control en todo el proceso.

ALMACENAMIENTO.

También debe existir un estricto control de calidad en el almacenamiento del producto final, ya que puede existir un aumento en la humedad por contacto con el aire con humedad realtiva elevada, lo cual reiniciaría la actividad microbiana y ayudaría a la formación de aminas biogénicas.

El producto también puede contaminarse con **Salmonella** sp. y hongos, por un mal manipuleo y almacenamiento.

VENTAJAS DE TENER UN CONTROL INTEGRAL DURANTE EL PROCESO.

Las ventajas de mantener un estricto control en el proceso de elaboración de la harina de pescado, son para obtener una mejor calidad microbiológica, menor contenido de bases volátiles totales, menor concentración de aminas biogénicas; aumentar el contenido de proteína, generando menor deterioro aminoacídico y por lo tanto mayor digestibilidad. También se obtiene una mayor homogeneidad del producto y mejor presentación. Todo lo anterior será con el objeto de obtener una calidad constante en la harina de pescadol, que como se discutió, es uno de los principales problemas a los que se enfrentan los productores de alimentos balanceados y consecuentemente los camaronicultores.

ANEXO VII.

RESUMENES PUBLICADOS EN CONGRESOS INTERNACIONALES.

Esta tesis fue presentada en partes en la Reunión Anual de World Aquaculture Society celebrado en Torremolinos, España, en Mayo de 1993. En New Orleans, Luoisiana, E.U.S. celebrado en Enero de 1994.

También fue presentada en la reunón anual de la Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal (AMENA), celebrado en Acapulco, Gro. en Octubre de1993.

A continuación se muestran los resumenes publicados en cada una de las reuniones.

FROM DISCOVERY TO COMMERCIALIZATION

Abstracts of contributions presented at the International Conference
WORLD AQUACULTURE '93
Torremolinos, Spain, May 26-28, 1993

Compiled by

M. Carrillo
L. Dahle
J. Morales
P. Sorgeloos
N. Svennevig
J. Wyban

Layout and processing:

L. Vandercoilden, L. Aspeslagh, and H. Jonckeere

EUROPEAN AQUACULTURE SOCIETY
SPECIAL PUBLICATION NO. 19
Oostende, Belgium
April 1993

EFFECT OF FRESHNESS OF RAW MATERIAL ON NUTRITIONAL VALUE OF DIFFERENT FISH MEAL USED IN SHRIMP NUTRITION.

I. Abdo (1), E. Cruz (1), D. Ricque (1), I. Pike (2), and G. Alanís (1).

(1) Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Ciudad Universitaria. Apartado Postal F-16. San Nicolás de los Garza Nuevo León.

(2) IAFMM. Hoval House, Muton Lane, Potters Bar, Herfordshire, EN6 3AR.

Fish meal quality required for shrimp nutrition is unknown up to now, such as well as the sensibility to some substances that are produced during fish meal manufacture as biogenic amines (histamine, putrescine, cadaverine, etc). The present experiment was perforned to determine the effect of freshness of raw material used to prepare fish meal, on its nutritional value for juvenile shrimp **Penaeus vannamei.**

Three south american fish meals produced from anchovy processed through a new low temperature facility were evaluated nutritionally. The same anchovy fish meal was produced from absolutely fresh material (FM) or after two periods of storage to give moderately fresh (MFM) and stale material (SM). Processing was identical, only the freshness of the raw material varied. Three experimental diets were formulated (each equated for protein and lipids) with this fish meals, keeping the other ingredients constants. Fish meal quality was evaluated by chemical (total volatil nitrogen, proximal, histamine content, peroxide value, etc) and biological assay.

Two shrimps bioassays were carried out at the UANL Mariculture Programme bioassay facility, that consist of 48 double bottom fiber glass tank (60x30x35cm, 60L capacity), supplied by synthetic sea water by a closed recirculating system. The first bioassay was conducted with 15 shrimps/tank during 15 days and the second one with 8 shrimps/tank during 28 days. Shrimps were fed twice a day **ad libitum** with the experimental diets. Both bioassays were run by cuatriplicate. Growth rate, feed conversion rate and survival rate were determinated at the end of the bioassays . An ANOVA was realized in order to determine significant differences between the treatments.

The shrimps fed with the FM diet showed higher weight in both bioassays ($P < 0.05$) (0.59 and 1.92g respectively) in comparison with the shrimps fed MFM diet and SM diet (0.50 and 1.73g, 0.44 and 1.86g respectively). Feed conversion rates were not clearly affected and ranged from 3.00 to 3.49. Survival rate was affected by the treatments only in the first trial (high density) obtaining the higher survival with the FM diet.

Elizabeth Cruz S

WORLD AQUACULTURE SOCIETY

BOOK OF ABSTRACTS

WORLD AQUACULTURE SOCIETY
1970-1994
25 YEARS OF SCIENCE AND SERVICE TO AQUACULTURE

WORLD AQUACULTURE ' 94

NEW ORLEANS MARRIOTT

NEW ORLEANS, LOUISIANA USA

JANUARY 14 - 18, 1994

EFFECT OF DIFFERENT BIOTOXICOLOGICAL SCORE FISH MEALS AND SYNTHETIC DL-GIZZEROSINE ADDED IN *Penaeus vannamei* FEEDS

L. E. Cruz-Suárez[1], I. Abdo de la Parra[1], D. Ricque[1], I. Pike[2], C. Lara[3] and E. Castro[4]

(1) Facultad de Ciancias Biólgicas
Universidad Autónoma de Nuevo León
Cd. Universitaria Apdo. Postal F-16
San Nicolás de los Gza. N.L
66450 MEXICO

(2) International Fishmeal and Oil Manufacturers Assocation
U.K. 2 College Yard
Lower Dagnall Street, St. Albans, Herfordshire AL 3 4 PE
UNITED KINGDOM

(3) Pesquera Iquique Guanaye, S.A.
Gerenda de Ingeniería y Desarrollo
Estado 537-Piso 30, Casilla 14480
Santiago, CHILE

(4) Fundación Chile
Ave. Parque Antonio Rabal Sur 6165
Casilla 773
Santiago, CHILE

Fish meal availability and quality are important limitants to get good quality aquatic feeds. However, the standards of fish meal quality required for shrimp nutrition are not known since the sensitivity of shrimps to some chemical substances that can be produced in the fish meal during its manufacture, such as histamines, gizzerosine, peroxides, etc., remains unknown but highly suspected. Gizzerosine is a toxic substance generated in fish meals containing high levels of free histidine e.g. from anchovy and sardine; if the fish raw material was spoiled, the amine histamine is produced from histidine and cross links with lysine groups in the protein to form gizzerosine during the drying process if the fish meal is subject to prolonged heating. This can occur if fines get trapped in the drier, for example. Gizzerosine can cause erosion of the gizzards in chickens. In some fishes, it can cause intestinal epithelium alterations and stomach atrophia, decreasing fish growth. The effect on crustaceans is virtually unknown up to now, although it is believed that it decreases the shrimp performances.

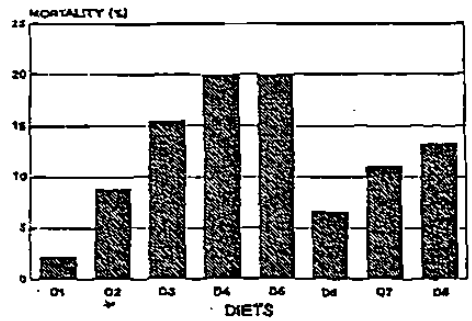
The objective of this work was to determine the shrimp sensitivity to fish meals of different biotoxicological quality (as determinated by gizzard erosion score in chickens) and to the toxic DL-gizzerosine.

A bioassay was carried out at the UANL, Mariculture Program bioassay facility. Eighth experimental diets were formulated with the same ingredients, except fish meal (which was included at 30% level in the diets), each equated for protein (35%) and lipid (7%). Four diets were manufactured with four Chilean fish meals with graded biotoxicological score: Score 0.1 or Normal toxicity (D1 control A); Score 0.1 or normal toxicity (D2 control B); Score 1.1 or medium toxicity and high content of histamine (D3) and Score 1.4 or medium toxicity and low content of histamine (D4). The fish meals quality was evaluated by chemical analysis (Proximal, TVN, histamine content, pepsin digestibility, Ca, P, salt and sand content) at Fundación Chile. The remaining four diets were elaborated with the normal fish meal A, adding increasing DL-Gizzerosine concentrations: 1 (D5), 3 (D6), 6 (DT), and 9 mg/kg (D8), respectively.

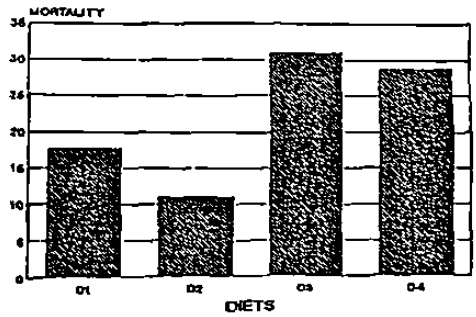
The bioassay was conducted in double bottom fiberglass tanks (60 x 30 x 35 cm, 60-l capacity) supplied with seawater by a dosed recirculating system, with 15 shrimp (initial weigth 0.66 g) by tank and 4 replicates per treatment. Shrimps were fed the experimental diets once a day *ad libitum* during six weeks for fish meal trial and four weeks for the gizzerosine trial. At the end of the bioassay, growth rate, feed conversion rates and survival rates were determined. ANOVA and Scheffee test were realized to determinate significant differences between treatments.

No significant difference (P = 0.05) were found between diets with respect to growth, food consumption and feed conversion rates. However, the survival rates were significantly affected by the different diets. The mortality was correlated with the fish meal score and potencialized by the histamine content (See Fig. 1 and 2). The synthetic gizzerosine also affected the shrimp survival, (higher the concentration higher the mortality, except with DS). Therefore, the fish meal used for shrimp nutrition (at 30 % inclusion level) should have a biotoxicological score lower than 1.4, with low histamine content or lower than 1.1 with high histamine content (> 500 ppm). To get this quality standard fish meal must be manufactured from fresh raw material and at appropriate temperature conditions.

MORTALITY 28 DAYS



MORTALITY 42 DAYS



AMENA

Sexto congreso nacional de la asociación mexicana de especialistas en nutrición animal, a.c.

ACAPULCO, Gro.
28-30 Octubre 1993

EFECTO DE LA FRESCURA DE LA MATERIA PRIMA SOBRE EL VALOR NUTRICIONAL DE DIFERENTES HARINAS DE PESCADO UTILIZADAS EN DIETAS BALANCEADAS PARA CAMARON BLANCO (*Penaeus vannamei*).

I. Abdo de la P(1)., E. Cruz S.(1), D. Ricque(1) and I. Pile (2.
(1) Universidad Autónoma de Nuevo León, F.C.B. Cd. Universitaria. Ap. Postal F-16. San Nicolás de los Garza, N.L. México.
(2)IFOMA. 2 College Yard, Lower Dagnall St. St. Albans, Hertfordshire A13 4PE United Kingdom. UK.

La calidad de las harinas de pescado requeridas para la nutrición del camarón y la sensibilidad del camarón a algunas sustancias como a las aminas biogénicas (histamina, putraescina, cadaverina, etc) formadas por la descomposición del pez, no se conocen aún. En el presente trabajo se determinó el efecto del grado de frescura de la materia prima sobre el valor nutricional de diferentes harinas de pescado usadas en alimento balanceado para camarón blanco (Penaeus vannamei). Se prepararon 3 dietas isoproteicas e isolipídicas con harina de pescado elaborada con materia prima fresca (DF), frescura media (DFM) y putrefacta (DP), procesadas a baja temperatura. Se determinó la calidad de estas dietas por varios métodos de evaluación química y nutricional. Posteriormente, se corrieron 2 bioensayos con 2 diferentes densidades (15 y 8 camarones/acuario) en la sala de zootecnia de la Facultad de Ciencias Biológicas; cada tratamiento se corrió por cuadruplicado, alimentando a las postlarvas con dichas dietas ad libitum durante 15 y 28 días respectivamente. Al término de los mismos se pesó a los organismos y se determinó la tasa de crecimiento, la tasa de crecimiento relativa, la tasa de conversión alimenticia y la sobrevivencia. Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza y pruebas de 28 comparaciones múltiples de medias de Scheffe. En ambos bioensayos, los camarones que se alimentaron con la dieta DF mostraron mayor incremento en peso y mejores tasas de crecimiento en comparación con las otras dos dietas siendo la diferencia significativa a $P<0.05$. Las tasas de conversión alimenticia de cada tratamiento, no fueron significativamente diferentes en ambos bioensayos. La sobrevivencia en el primer bioensayo (15 org/acuario) si se vió afectada por los diferentes tratamientos, obteniéndose mayor sobrevivencia (96.57%) en los organismos alimentados con la dieta DF, en los otros 2 tratamientos se obtuvo una sobrevivencia de 84.82% (DFM) y 89.57% (DP). En el segundo bioensayo la sobrevivencia no fue afectada por el tratamiento, lo cual indica que hubo efecto de densidad aunado al efecto del tratamiento en el primer bioensayo.